

Avaliação microbiológica do gel de *Casearia sylvestris* sw (guaçatonga)

LILLIAN SAMIRA BERNARDINO
ANDRÉIA PERARO DO NASCIMENTO
IVANA APARECIDA DA SILVEIRA

Centro Universitário de Lavras – UNILAVRAS, 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil

Autor responsável: L.S. Bernardino.
E-mail: lillian_sb@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Ao contrário do que alguns imaginam, a utilização das plantas medicinais é muito antiga. Na época da Real Botica, quando os farmacêuticos eram chamados de boticários, grande parte dos remédios eram originária de plantas. Ainda, nesta mesma época, a Farmacopéia Brasileira, 1ª edição, era considerada como um dos mais adiantados e atualizados códigos farmacêuticos (Silva et al., 2001).

A *Casearia sylvestris* Swart pertence à família Flacourtiaceae (Corrêa, 1952). É conhecida comumente como guaçatonga, chá-de-bugre, cafeeiro-do-mato, erva-de-bugre, guassatonga e guassatunga, sendo encontrada, desde o México e Antilhas, até a América do Sul. No Brasil, sua ocorrência vai da Bahia ao Rio Grande do Sul. A Guaçatonga produz compostos químicos do grupo das casearinas, com atividade antitumoral. Suas folhas são amplamente utilizadas pela população contra febres perniciosas e inflamatórias, anti-diarréico, combate às moléstias herpéticas. Também, é usada como antídoto contra as picadas de cobra. É eficaz contra moléstias de pele de origem sifilítica, bem como para eczemas, sarnas e úlceras (Corrêa, 1952).

A proposta deste estudo surgiu, quando se observou a necessidade da padronização na realização do controle de qualidade dos géis produzidos na Farmácia-Escola do Centro Universitário de Lavras. Neste estudo, foi dado enfoque ao gel de Guaçatonga. O Brasil, apesar de possuir uma flora rica no que diz respeito a plantas com propriedades medicinais, não possui metodologias analíticas estabelecidas para padronização de fitoterápicos (Ferreira, 2003). O número de plantas medicinais conhecidas, no País, ao longo dos últimos anos, ainda é muito pequeno, diante de sua biodiversidade. Cerca de 99,6% delas possuem composição química desconhecida (Fruehauf, 2000).

O presente estudo tem por objetivo avaliar alguns parâmetros da qualidade físico-química e microbiológica do gel de Guaçatonga, produzido na Farmácia-Escola do Centro Universitário de Lavras, sendo que este possui finalidade cicatrizante, atuando ativamente no tratamento de herpes simples.

A importância deste estudo se deve à necessidade de que sejam elaborados procedimentos adequados para o controle da qualidade dos fitoterápicos comercializados, visto o descaso que ainda há por parte dos pesquisadores nesta linha de pesquisa. Uma vez que a utilização de produtos à base de plantas medicinais vem sendo bastante estimulada, no Brasil, devido ao elevado custo dos medicamentos industrializados (Brandão et al., 2001).

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Farmácia-Escola e laboratório de microbiologia do Centro Universitário de Lavras. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, contendo quatro tratamentos com quatro repetições e quatro placas por parcela. Os tratamentos foram os seguintes: (1) gel com tintura com conservante; (2) com tintura sem conservante; (3) sem tintura com conservante; (4) sem tintura sem conservante. A metodologia para estas análises seguiu os critérios da Farmacopéia Brasileira (1988).

Nas diluições para determinação de microorganismos foram pesados 1g das amostras, adicionadas a 9mL de água peptonada a 0,1%, seguido de homogeneização, obtendo-se a diluição inicial a 10^{-1} . Diluições decimais sucessivas foram preparadas em tubos contendo 9mL de água peptonada 0,1%, transferindo-se 1mL da amostra, conforme metodologia descrita por Silva, Junqueira e Silveira (1997). Para determinação da *Salmonella sp.*, reali-

Tabela 1. Valores médios obtidos na pesquisa de contagem total de bactérias durante os períodos de armazenamento do gel.

Período de armazenagem	Amostras (n=2)	Nº aproximado de bactérias (UFC/g)
zero	STCC	0
	CTCC	8×10^{-1}
	CTSC	0
	STSC	1×10^{-1}
28 dias	STCC	0
	CTCC	0
	CTSC	0
	STSC	0
6 meses	STCC	0
	CTCC	0
	CTSC	300×10^{-1}
	STSC	0

STCC: Sem Tintura Com Conservante CTCC: Com Tintura Com Conservante
CTSC: Com Tintura Sem Conservante STSC: Sem Tintura Sem Conservante

zou-se a etapa de pré-enriquecimento, sendo 1g de cada amostra adicionada a 9mL de água peptonada tamponada e incubadas a 37°C por 24 horas.

Todas as análises seguiram técnicas citadas por Silva et al. (1997). Para a contagem de microrganismos viáveis em produtos não-estéreis, foi utilizada técnica de plaqueamento em superfície, onde 0,1mL da diluição selecionada foi inoculada na superfície de ágar TSA contido em placa de Petri e espalhada com espátula de Drigalsky, utilizando-se de diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} .

Na identificação de patógenos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus sp.* e *Staphylococcus aureus*, que devem estar ausentes em produtos farmacêuticos não-estéreis; utilizou-se a técnica de plaqueamento em superfície, onde 0,1mL da diluição 10^{-1} foi inoculada na superfície de ágar seletivos contidos em placas de Petri e espalhadas com o auxílio de alça de platina. Na realização das análises foram utilizados ágar EMB, Chapman, Cetrimide e ágar-sangue. Na pesquisa de *Salmonella sp.* Após o pré-enriquecimento, transferiu-se 1mL da água peptonada tamponada para 9mL de caldo tetratoato e para 9mL de caldo Rappaport, os quais foram incubados a 37°C por 24 horas.

Em seguida procedeu-se o enriquecimento seletivo, transferindo-se amostras da etapa de pré-enriquecimento para os meios XLD, Rambach e SS. As avaliações do tempo zero, 28 dias e 6 meses posteriores à manipulação, foram realizados 24 horas após a inoculação. Realizou-se médias para as características avaliadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas revelam que as amostras analisadas apresentaram valores para contagem de microrganismos viáveis dentro dos limites estabelecidos ($\leq 10^3$ UFC/g para bactérias) pela Farmacopéia Brasileira, 4ª edição, uma vez que a contaminação microbiológica pode alterar as propriedades do produto, bem como constituir um risco para o usuário.

Detectou-se a presença de microrganismos nas amostras de CTCC e STSC do período de armazenagem zero, porém estas se apresentavam dentro dos padrões estabelecidos. Detectou-se, ainda, a ocorrência de microrganismos na amostra CTSC, porém o valor apresentou-se além do padrão estabelecido (TABELA 1). Provavelmente, tal fato ocorreu, devido à ausência de conservante, podendo o extrato ter contribuído para tal ocorrência.

Na pesquisa de patógenos como, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus sp.* *Staphylococcus aureus*, que devem estar ausentes em produtos farmacêuticos não-estéreis; obteve-se resultados satisfatórios (TABELA 2).

No período de armazenagem de seis meses, observou-se a ocorrência de *Bacillus sp.* na amostra CTCC e STCC; bem como de *Staphylococcus epidermidis* em STSC. Na amostra STCC do período de armazenagem de 28 dias foi identificada cepa de *Streptococcus sp.* por meio do cultivo em ágar-sangue. Essa contaminação provavelmente ocorreu no momento da manipulação ou sementeira da

Tabela 2. Valores médios obtidos na pesquisa de diferentes microrganismos durante os períodos de armazenagem do gel

Período de armazenagem	Amostras (n=2)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus sp.</i>
Zero	STCC	ausência	ausência	ausência	ausência
	CTCC	ausência	ausência	ausência	ausência
	CTSC	ausência	ausência	ausência	ausência
	STSC	ausência	ausência	ausência	ausência
28 dias	STCC	ausência	ausência	ausência	1,3x10 ⁻²
	CTCC	ausência	ausência	ausência	ausência
	CTSC	ausência	ausência	ausência	ausência
	STSC	ausência	ausência	ausência	ausência
6 meses	STCC	ausência	ausência	ausência	ausência
	CTCC	ausência	ausência	ausência	ausência
	CTSC	ausência	ausência	ausência	ausência
	STSC	ausência	ausência	ausência	ausência

amostra no meio de cultivo. A Contaminação das amostras por este organismo está relacionada à higiene pessoal dos operadores, podendo estar presente nas mãos e nas vias respiratórias. Os *Streptococcus* provocam infecção pulmonar, o que pode afetar o operador e conseqüentemente o produto.

Em análises realizadas por Bara et al. (2005), em produtos semi-acabados, ou seja, cremes, loções e géis, observou-se que apenas 2,83% das amostras analisadas estavam em desacordo com as especificações. As amostras reprovadas tratavam-se de géis, nestes foram encontrados bastonetes gram-positivos não fermentadores de lactose. Considerou-se que tal fato estava relacionado à contaminação proveniente do ambiente, materiais, água utilizada e/ou pessoal não paramentado.

Em estudo realizado por Medeiros (2006) em xarope de ácido fólico, identificou-se cepa de *Staphylococcus aureus* por meio do cultivo em ágar manitol salgado. Essa contaminação pode ser originária de portadores assintomáticos no momento da manipulação, o que justifica a necessidade das Boas Práticas de Manipulação. Tal microrganismo pode ser encontrado em diversas partes do corpo (Trabulsi, 1989) que, por sua vez, sofre perda de escamas, que, em atividade normal, é de uma ordem de 10⁴ minutos (Pinto et al., 2000). Os *Staphylococcus* podem ser encontrados, ainda, em roupas de cama, vestimentas e outros fômites de ambientes humanos, podendo

levar o paciente à pneumonia ou meningite (Kern; Bleivins, 1999).

Na pesquisa de *Salmonella sp.* não foi identificada a presença desta bactéria, obtendo-se um resultado bastante satisfatório. A contaminação por este microrganismo pode se originar a partir de procedimentos utilizados na manipulação do produto, das condições de estocagem das matérias-primas, da água a ser utilizada na manipulação, bem como das condições de higiene dos operadores, uma vez que a *Salmonella* pode sobreviver por um determinado período em águas (PINTO; KANEKO; OHARA, 2000).

No Brasil, a RDC nº 33, de 19 de abril de 2000, da Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), referente às Boas Práticas de Manipulação, é que regulamenta a manipulação de medicamentos alopáticos e produtos fitoterápicos. Porém grande parte das farmácias de manipulação ainda não implantou o controle da qualidade microbiológica dos produtos não-estéreis em seus estabelecimentos o que contribuiria na promoção da credibilidade dos produtos por elas manipulados.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, em especial a Andréia e Ivana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARA, M. T. F. et al. Análise microbiológica de matérias primas e formulações farmacêuticas magistrais. Revista Eletrônica de Farmácia Vol 2(2), 38-44, 2005. Disponível em: <http://www.farmacia.ufg.br/revista/_pdf/vol2_2/artigos/ref_v2_2-2005_p38-44.pdf>. Acesso em: 05 jul. 2006.
- BARATA, E. A. F. A. Cosmetologia – princípios básicos. São Paulo: Tecnopress, 2003. cap.19. p.157-158.
- BRANDÃO, M. das G. L. et al. Qualidade de amostras comerciais de plantas medicinais e produtos fitoterápicos: drogas inscritas na Farmacopéia Brasileira. Pharmacia Brasileira, Brasília, v.3, n.29, p. 60. nov./dez. 2001.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Farmacopéia Brasileira: parte I. 4.ed. Brasília: Ministério da saúde. 1988.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução 33 de 19 de abril de 2000. Regulamento técnico que institui as boas práticas de manipulação em farmácias. Brasília, 2000
- CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1952. v.3, 646p.
- FERREIRA, A. Controle de qualidade: da matéria-prima ao fitoterápico. Racine, São Paulo, v.13, n.72, jan/fev. 2003, p.68-78.
- FRUEHAUF, P. S. Plantas medicinais de mata atlântica: manejo sustentando e amostragem. São Paulo: Annablume, 2000. p.215.
- SILVA, G. S.; MELO, J. G. S.; JÚNIOR, A. M. A farmácia de manipulação e a volta do uso de plantas medicinais. Pharmacia Brasileira, Brasília, v.3, n.29, p.76, nov./dez. 2001.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, 1997. 265p.
- MEDEIROS, A. C. D. Análise de contaminantes microbiológicos em produtos comercializados em farmácia de manipulação. BIOFAR – Revista de biologia e farmácia. 2006. Disponível em: <http://www.uepb.edu.br/biofar/pdf/ANALISE_CONTAMINANTES_MICROBIOLÓGICOS_PRODUTOS_COMERCIALIZADOS_FARMACIA_MANIPULACAO.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2006
- TRABULSI, L. R. Microbiologia. 2 ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 1991.
- PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. Controle Biológico da Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. São Paulo: Atheneu, 2000, p. 53-95.
- KERN, M. E.; BLEVINS, K. S. Micologia Médica: texto e Atlas. 2 ed., São Paulo: Premier, 1999.