



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

AMANDA FURTADO DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E DE MICRO-
ORGANISMOS PATOGÊNICOS EM GARRAFADAS
E XAROPES APREENDIDOS EM OPERAÇÕES
POLICIAIS NO ESTADO DO AMAPÁ**

Macapá
2020

AMANDA FURTADO DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E DE MICRO-
ORGANISMOS PATOGÊNICOS EM GARRAFADAS
E XAROPES APREENDIDOS EM OPERAÇÕES
POLICIAIS NO ESTADO DO AMAPÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Madson Ralide F. Gomes

Macapá
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá
Elaborada por Cristina Fernandes – CRB-2/1569

Almeida, Amanda Furtado de.

Avaliação física, química e de microorganismos patogênicos em garrafadas e xaropes apreendidos em operações policiais no Estado do Amapá. / Amanda Furtado de Almeida; orientador, Madson Ralide F. Gomes. – Macapá, 2020.

69 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Amapá, Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Medicina popular. 2. Plantas medicinais. 3. Garrafadas. 4. Xaropes. I. Gomes, Madson Ralide F., orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

581.634 A447a

CDD. 22 ed.

AMANDA FURTADO DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E DE MICRO-
ORGANISMOS PATOGENICOS EM
GARRAFADAS E XAROPES APREENDIDOS EM
OPERAÇÕES POLICIAIS NO ESTADO DO
AMAPÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Data de Aprovação: 30/07/2020



Madson Ralide Fonseca Gomes



Carolina Miranda de Sousa Lima - UNIFAP



Rafael Lima Resque - UNIFAP

Dedico este trabalho a toda a minha família...

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Madson Ralide Fonseca Gomes, por ter aceitado me orientar no mestrado, pelo conhecimento repassado, paciência e atenção em me ensinar e, acima de tudo, por ter acreditado no meu potencial.

Ao prof. Msc. Aldo Aparecido Proietti Junior, que abriu novamente as portas do seu laboratório para que eu pudesse realizar os experimentos de microbiologia.

Ao Ryan da Silva Ramos, que contribuiu significativamente para a interpretação dos espectros da análise química.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Forense (INCT-FORENSE) pela bolsa de mestrado, a Universidade Federal do Amapá, ao Núcleo de Competências em Química do Petróleo da Universidade Federal do Espírito Santo, em especial o Laboratório de Petroleomica e a polícia Técnico-científica, por terem contribuído para a realização deste trabalho.

A minha família, em especial a minha mãe Nilcéa, pelo amor incondicional e que sempre se esforçou e me ajudou em todos os momentos da minha vida, me proporcionando as melhores coisas.

Ao meu marido Danniel Almeida, que me deu forças e compartilhou junto a mim todos os sentimentos durante e na reta final.

A minha irmã Gabryelle, que me orientou e compartilhou os mais variados sentimentos, principalmente com palavras de conforto nos momentos de angústia e tensão da minha vida.

A minha animal de estimação Nina, que sempre me deu amor, proporcionou alegria, olhar sincero e livre de julgamentos.

Aos meus amigos que entenderam a minha ausência e, mesmo assim, estiveram ao meu lado.

E por fim, especialmente a Ele, Deus, pela graça da minha vida e saúde, que na reta final do curso e em tempos de pandemia da COVID-19, onde o mundo se tornou tão frágil, Ele com sua infinita bondade nos permitiu hoje estar aqui.

Obrigada!

"A diferença de ganhar e perder, na maioria das vezes, é não desistir"
Walt Disney

Introdução: O uso de preparações medicinais como garrafadas e xaropes são muito utilizadas, devido a sua tradicionalidade de uso na terapêutica popular. As garrafadas, produtos de misturas de plantas com fins medicinais veiculados em bebidas alcoólicas, não possuem uma legislação que as regulamentem e com isso, pode gerar um grande risco para a população por serem apresentados com inúmeras indicações terapêuticas e sem contra indicação. Com a manipulação caseira, sem o cumprimento das boas práticas de fabricação, o que pode carrear ao final do processo, contaminação por micro-organismos patogênicos, e por se tratar de uma mistura não se tem o conhecimento das substâncias presentes, adicionadas ou não, podem causar mal para quem as utiliza. Neste contexto, as operações policiais têm se intensificado para combater o comércio e a produção destes preparados visando resguardar a população. **Objetivos:** A região Amazônica possui uma grande diversidade em sua flora e ainda, possui a cultura de consumo destas preparações medicinais como as garrafadas, e nesse sentido, objetivou este trabalho a avaliar as características físicas, químicas e a qualidade microbiológica de xaropes e garrafadas, suspeitas de adulteração apreendidas pela Polícia Técnico Científica do Amapá - POLITEC. **Métodos:** Entre os testes empregados foram realizados, a análise física (pH e grau brix°), análise química por espectrômetro de massa de ressonância de íon ciclotron com transformada de Fourier (FT-ICR MS) e investigação microbiológica de fungos e bactérias patogênicas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*) através da técnica de semeadura por superfície. **Resultados e Discussão:** As amostras das garrafadas e xaropes obtiveram valores de pH ácido, o que pode causar instabilidade química aos seus componentes e com relação ao teor de grau brix° as amostras estavam dentro dos padrões. A partir da análise química foi possível elucidar a presença de alguns compostos relacionados as plantas descritas nos rótulos e ausência de substâncias sintéticas. O resultado da avaliação microbiológica detectou a presença de *Staphylococcus* spp. em quatro amostras “mel com mastruz e leite do Amapá”, “mel com limão e alho”, garrafada “tônico dos pulmões” e “xarope de cupim”, tornando-as inadequadas. Houve crescimento de fungos em dois xaropes “xarope de cumaru” e “xarope de quebra pedra e boldo”, no entanto, dentro dos limites estabelecidos na Farmacopeia Brasileira para este micro-organismo. **Conclusão:** Contudo, é necessário regulamentação desses produtos fabricados de forma irregular, pois não há como garantir a eficácia, sobretudo a segurança para seus consumidores.

Palavras-Chave: Garrafadas; Produto fitoterápico; Xaropes.

Agradecimentos: POLITEC, UFES, INCT e CAPES.

ABSTRACT

Introduction: The use of medicinal preparations such as bottles and syrups are widely used, due to their traditional use in popular therapy. The bottles, products of mixtures of plants with medicinal purposes conveyed in alcoholic beverages, do not have a legislation that regulates them and, with this, can generate a great risk for the population because they are presented with numerous therapeutic indications and without contraindication. With homemade handling, without compliance with good manufacturing practices, which can lead to contamination by pathogenic microorganisms at the end of the process, and because it is a mixture, there is no knowledge of the substances present, whether added or not, can cause harm to those who use them. In this context, police operations have intensified to combat trade and the production of these preparations to protect the population. **Objectives:** The Amazon region has a great diversity in its flora and still has the culture of consumption of these medicinal preparations such as bottles, and in this sense, this work aimed to evaluate the physical, chemical characteristics and the microbiological quality of syrups and bottles, suspected adulteration apprehended by the Amapá Scientific Technical Police - POLITEC. **Methods:** Among the tests employed, physical analysis (pH and brix ° degree), chemical analysis by cyclotron ion spectrometer with Fourier transform (FT-ICR MS) and microbiological investigation of fungi and pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*) using the surface sowing technique. **Results and Discussion:** The samples of bottles and syrups obtain acidic pH values, which can cause chemical instability to their components and with respect to the brix ° degree content, as the samples were within the standards. From the chemical analysis it was possible to elucidate the presence of some related compounds such as plants applied on labels and the absence of synthetic substances. The result of the microbiological evaluation detected the presence of *Staphylococcus* spp. in four samples "mel com mastruz e leite do Amapá", "mel com limão e alho", bottled "tônico dos pulmões" and "xarope de cupim", showing them as inadequate. There was fungal growth in two syrups "xarope de cumaru" and "xarope de quebra pedra e boldo", however, within the limits defined in the Brazilian Pharmacopoeia for this microorganism. **Conclusion:** However, it is necessary to regulate these products manufactured in an irregular way, as there is no way to guarantee their effectiveness, especially safety for their consumers.

Keywords: Bottles; Herbal product; Syrups.

Acknowledgements: POLITEC, UFES, INCT e CAPES.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Imagens do momento da apreensão, “laboratório” ficava nos fundos de uma kitnet.....	16
Figura 2 -	Imagens dos materiais encontrados na fábrica clandestina no município de Caxias, Maranhão.....	17
Figura 3 -	Imagens da garrafada Saúde do homem (A-B) e xarope de cumarú (C-D) apreendidos em operações policiais na cidade de Macapá.....	31
Figura 4 -	Espectro da garrafada “mel com mastruz e leite do Amapá”.....	39
Figura 5 -	Espectro de massas da fração 1 da garrafada “Saúde da mulher”, modo negativo (ESI -).....	40
Figura 6 -	Espectro da garrafada “Saúde do homem”, modo positivo (ESI +).....	41
Figura 7 -	Imagem da garrafada “saúde do homem” apreendida, descrição das plantas constituintes no produto.....	45
Figura 8 -	Resultado do plaqueamento das amostras de garrafadas e xaropes através da técnica de <i>spread plate</i> em ágar sal manitol (A) e ágar sangue (B).....	46
Figura 9 -	Coloração de Gram realizada a partir das amostras dos produtos Mel com mastruz e leite do Amapá (A), Mel com limão e alho (B), Tônico dos pulmões (C) e Xarope de cupim (D).....	48
Figura 10 -	Fotografia dos produtos apreendidos em laboratório clandestino na cidade de Macapá.....	50
Figura 11 -	Fluxograma das etapas das análises para otimização da rotina laboratorial na análise de produtos fitoterápicos.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Informações que devem conter em rótulos de embalagem primária de produtos fitoterápicos, segundo a RDC nº 26/2014 da ANVISA.....	29
Tabela 2 -	Determinação do grau brix (°Bx) em amostras de garrafadas e xaropes apreendidos.....	33
Tabela 3 -	Avaliação do pH em amostras de garrafadas e xaropes apreendidos.....	34
Tabela 4 -	Composição das garrafadas e xaropes conforme a descrição do rótulo, oriundos de apreensão cedidos pela POLITEC-AP.....	36
Tabela 5 -	Substâncias sintéticas da biblioteca do SAFS-FORENDEX pesquisadas na análise química por FT-ICR MS.....	38
Tabela 6 -	Relação massa carga (m/z) dos principais sinais identificados nos espectros das amostras analisadas.....	42
Tabela 7 -	Resultado da pesquisa para micro-organismos patogênicos <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>Salmonella</i> spp.; <i>S. aureus</i> e fungos. Plaqueamento das amostras em meio ágar Macconkey, ágar Sal manitol e ágar Sabouroud dextrose, respectivamente.....	47
Tabela 8 -	Resultado dos testes de coagulase e catalase a partir de amostras positivas com colônias características de <i>S. aureus</i> resultantes da semeadura em ágar Sangue.....	48

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
3.1	PANORAMA DO CONSUMO DE PRODUTOS FITOTERÁPICOS.....	15
3.2	ASPECTOS LEGAIS DE COMERCIALIZAÇÃO E REGULAMENTAÇÃO BRASILEIRA DAS GARRAFADAS E XAROPES.....	16
3.3	CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM PRODUTOS FITOTERÁPICOS.....	18
3.4	ANÁLISES UTILIZADAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE IRREGULARIDADES EM PRODUTOS FITOTERÁPICOS.....	20
3.4.1	Avaliação macroscópica do rótulo da embalagem.....	20
3.4.2	Análise física e química.....	21
3.4.3	Análise do perfil químico.....	22
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1	AMOSTRA.....	24
4.2	ANÁLISE DO RÓTULO.....	24
4.3	AVALIAÇÃO FÍSICA.....	24
4.4	AVALIAÇÃO QUÍMICA.....	25
4.4.1	Avaliação do pH.....	25
4.4.2	Análise Química Por Espectrometro De Massa De Ressonância De Íon Ciclotron Com Transformada De Fourier (FT-ICR MS).....	25
4.5	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	25
4.5.1	Fungos.....	26

SUMÁRIO

4.5.2	Pesquisa qualitativa de bactérias patogênicas.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1	ANÁLISE DO RÓTULO.....	28
5.2	AVALIAÇÃO FÍSICA.....	32
5.2.1	Determinação do grau Brix (°Bx).....	32
5.3	AVALIAÇÃO QUÍMICA.....	33
5.3.1	Avaliação do pH.....	33
5.3.2	ANÁLISE QUÍMICA POR ESI (-) FT-ICR MS.....	35
5.4	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	46
5.5	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP) COMO CRITÉRIO DE ANÁLISE DE FITOTERÁPICOS APREENDIDOS.....	51
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	54
	REFERÊNCIAS.....	56
	APÊNDICES.....	63

1 INTRODUÇÃO

O uso das plantas medicinais atrelado ao conhecimento empírico da cultura tradicional da população é um legado que perpetua a cada geração, que tem como objetivo tratar doenças. Por sua vez, o uso de produtos fitoterápicos vem se destacando exponencialmente a terapia medicamentosa, possuem grande importância cultural na região norte do país, devido a grande diversidade da região Amazônica.

As garrafadas, preparações de plantas medicinais veiculadas em bebidas alcoólicas, assim como outras preparações medicinais são amplamente consumidas na região norte do Brasil, entretanto, é um produto que apresenta elevado risco quando utilizado unicamente como forma de tratamento para doenças, pois não são consideradas medicamentos e não possuem uma regulamentação específica.

A consolidação das garrafadas como patrimônio cultural da região norte e que se tornou popularmente conhecida no mercado “ver o peso” (Belém do Pará) junto a dificuldade de fiscalização sobre esses produtos facilita que estes sejam alvos de produções irregulares por pessoas má intencionadas, incorporando substâncias sintéticas que possam estar ligadas com as indicações terapêuticas em sua rotulagem, promovendo assim a lucratividade através da fidelização do cliente pela alternativa terapêutica mais econômica e efetiva.

Tendo em vista que as garrafadas e preparações medicinais não possuem regulamentação pelos órgãos competentes fiscalizadores e são produtos com fins medicinais, difundidos na medicina popular em decorrência da tradicionalidade de uso e questões culturais, são produtos passíveis de adulteração e qualidade insatisfatória devido em sua maioria não cumprirem as boas práticas de fabricação. Contudo, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características físicas, químicas e realizar a pesquisa de micro-organismos patogênicos em garrafadas e xaropes para elucidar a qualidade desses produtos vendidos no Estado do Amapá, tendo como amostras de estudo, produtos de apreensão de uma fábrica clandestina que foi alvo de denúncia, fábrica esta que fazia distribuição desses produtos fitoterápicos destinados a venda no centro comercial da cidade.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar física, química e microbiologicamente as garrafadas e os xaropes medicinais apreendidos em operações policiais no Estado do Amapá.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os rótulos das embalagens das garrafadas e xaropes apreendidos com base na RDC 26/14 da ANVISA;
- Caracterizar o pH e grau Brix das garrafadas e xaropes apreendidos;
- Identificar a presença de substâncias sintéticas nas garrafadas e xaropes utilizando FT-ICR MS;
- Pesquisar a presença de fungos e bactérias patogênicas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* em amostras de garrafadas e xaropes apreendidos;
- Elaborar um fluxograma para otimização das análises laboratoriais com base em um Procedimento Operacional Padrão como guia de critérios para análise de produtos fitoterápicos oriundos de apreensões, baseado na legislação vigente.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PANORAMA DO CONSUMO DE PRODUTOS FITOTERÁPICOS

O consumo de produtos fitoterápicos vem crescendo exponencialmente a cada ano e algumas alternativas terapêuticas vem sendo utilizadas em paralelo a terapêutica medicamentosa convencional (VAN ROOYEN et al., 2017), a dificuldade de acesso a tratamentos terapêuticos, tradicionalidade de uso e eficácia atraem o interesse da população, assim como da indústria farmacêutica (YANG, Y.; DENG, 2016). A característica de consumo desses produtos, por sua vez também, chama atenção do comércio irregular.

Paralelamente a isso, o consumo de garrafadas, que são misturas de plantas com fins medicinais veiculados em bebidas alcoólicas, tornam-se um grande desafio para a saúde pública, pois as garrafadas não possuem legislação própria e são popularmente difundidos entre a comunidade brasileira, principalmente na região norte do Brasil. Assim como as plantas medicinais, as garrafadas não são consideradas medicamento e por isso, não podem possuir indicações terapêuticas e posologia em sua embalagem (PASSOS et al., 2018).

As garrafadas e os xaropes são produtos fitoterápicos populares na região norte do Brasil. O mercado do “Ver o Peso” em Belém do Pará foi popularizado pela venda desse tipo de produto como os populares “banhos de cheiro”, conhecidos nacional e internacionalmente. Tornando-se com o passar dos anos um produto fortemente cultural.

Em um estudo realizado no Estado do Amapá sobre o consumo de produtos fitoterápicos no tratamento de doenças, 95,43% das pessoas entrevistadas responderam já ter feito uso sob alguma forma de utilização *in natura* como chás medicinais, garrafadas, xaropes e outros, enquanto 4,57% relataram nunca ter consumido. A forma de utilização de plantas medicinais se dá principalmente na forma de chás (49,1%), logo em seguida o consumo é proveniente das garrafadas (23,8%), sumo (7,3%), banhos aromáticos (4,9%) e inalação (1,6%) (FILOCREÃO; GALINDO; SANTOS, 2017).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.2 ASPECTOS LEGAIS DE COMERCIALIZAÇÃO E REGULAMENTAÇÃO BRASILEIRA DAS GARRAFADAS E XAROPES

Existe dificuldade de fiscalização sobre as garrafadas, por serem produtos que possuem importância cultural e religiosa e a sua comercialização já está consolidada, isto facilita produções irregulares com as garrafadas e demais preparações medicinais. Pessoas má intencionadas podem utilizar dessa ferramenta cultural adicionando substâncias sintéticas ou até mesmo drogas ilícitas, para atrair vendas e fidelizar o cliente, caracterizando um crime contra a saúde pública.

No Brasil a Lei nº 9.677 de 2 de julho de 1998 estabelece em seu artigo 273 que a falsificação, alteração e adulteração, assim como também realizar o armazenamento, importar e comercializar produtos falsificados, alterados e adulterados com finalidade terapêutica e medicinal, incluindo também insumos farmacêuticos, cosméticos, saneantes e produtos para fins de uso em diagnóstico é considerado crime hediondo contra a saúde pública, com pena de 10 a 15 anos de reclusão e multa (Brasil, 1998).

Na cidade de Macapá, no ano de 2017, houve uma apreensão desses produtos. Estes por sua vez eram fabricados de maneira irregular e insalubre, cujo ambiente era favorável a principalmente contaminação microbiana. (ABREU, 2017).

Figura 1 – Imagens do momento da apreensão, “laboratório” ficava nos fundos de uma kitnet.



Fonte: Jorge Abreu/G1

Em Caxias/MA, foi desmontada uma fábrica de medicamentos clandestina,

3 REFERENCIAL TEÓRICO

onde ocorria a fabricação clandestina, sem manuseio adequado e com compostos proibidos pela Anvisa, como álcool 90 graus, proibido para a ingestão humana. Além de muitos materiais de embalagens com um quantitativo de três mil rótulos falsos, carimbos com datas únicas de fabricação, centenas de garrafas vazias e líquidos prontos (REDONDO, 2019).

Figura 2 – Imagens dos materiais encontrados na fábrica clandestina no município de Caxias, Maranhão.



Fonte: Divulgação

No município de Almenara (MG), um homem foi preso por suspeita de aplicar golpes e teve uma arma de fogo apreendida em sua casa. Ele foi acusado por vender suposto medicamento fitoterápico e alegava que esse medicamento seria capaz de curar diversas enfermidades, assim chegava a cobrar até 5 mil pelo remédio. Uma das vítimas sofria de problemas na tireoide e chegou a pagar mais de 3 mil reais para o suspeito (ACO do 44º BPM, 2017).

É proibida a venda de chás, ervas e quaisquer outras preparações com finalidade terapêutica em feiras livres e deve ser comercializada como alimento e, em sua embalagem, deve estar descrito em seu rótulo apenas o nome científico da planta, por exemplo (PEREIRA, 2018).

Há inúmeros casos em que ocorre a prescrição desses remédios por pessoas não habilitadas, o que se caracteriza como curandeirismo que segundo o Código

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Penal Brasileiro é a prática de prescrever, ministrar ou aplicar, habitualmente, qualquer substância, bem como usar gestos, palavras ou qualquer outro meio (não inserido na prática médica) com finalidade de cura ou fazer diagnósticos sem ter habilitação médica (KIÔ, 2018).

3.3 CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM PRODUTOS FITOTERÁPICOS

Alguns contaminantes podem estar presentes, como os micro-organismos, e, portanto, proporcionar qualidade insatisfatória em produtos farmacêuticos. A baixa qualidade seguida do não cumprimento das boas práticas de fabricação traz sérias consequências importantes para a saúde, pois não há garantia de que o medicamento ou preparação fitoterápica seja seguro e eficaz durante o tratamento, podendo ocasionar o desenvolvimento de resistência microbiana, em casos de medicamentos antimicrobianos, reações adversas e consequentemente aumentando os custos do governo com os sistemas de saúde (KOVACS et al., 2014).

Produtos farmacêuticos derivados de plantas também podem estar contaminados com organismos patogênicos como bactérias do gênero *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* e outras (JAN; ABBAS, 2018). A contaminação por micro-organismos prejudica não só o consumidor e o produto, como também traz prejuízos financeiros para os setores alimentício, cosmético e farmacêutico. Os produtos farmacêuticos oferecem um ambiente favorável para o crescimento microbiano, principalmente pelos constituintes de algumas formulações que são fontes de nutrientes para esses micro-organismos e por mais que o produto apresente conservante em sua formulação, é possível que haja uma degradação do mesmo devido à presença elevada de carga microbiana no produto (OLIVEIRA; ROSSATO; BERTOL, 2016).

A *Escherichia coli* é um bacilo Gram-negativo, fermentadora de glicose, presente na microbiota intestinal de humanos e animais homeotérmicos com relação de comensalismo. No entanto, há espécies que são capazes de causar em humanos graves doenças intestinais e extra intestinais, quando esta espécie contamina outros animais como aves e mamíferos com fins alimentícios e produtos farmacêuticos, acarreta grandes prejuízos econômicos e para a saúde pública (PONTES et al.,

3 REFERENCIAL TEÓRICO

2018).

Algumas espécies de fungos como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. produzem micotoxinas, podendo acarretar intoxicações graves em quem as consomem. As condições do ambiente em que o fungo se encontra favorecem essas espécies a produzirem essas micotoxinas. As aflatoxinas, produzidas por algumas espécies de fungos do gênero *Aspergillus*, são altamente tóxicas e por isso sua presença torna-se bastante preocupante em alimentos e produtos farmacêuticos (OLIVEIRA; ROSSATO; BERTOL, 2016).

As bactérias do gênero *Pseudomonas* são Gram-negativos, de 140 espécies já identificadas, 25 delas estão associadas ao homem. Dentre elas incluem-se *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. cepacia*, *P. stutzeri*, *P. maltophilia* e *P. putrefaciens*. Esses micro-organismos podem ser encontrados no ambiente, solos e águas. A *P. aeruginosa* é a bactéria do gênero *Pseudomonas* frequentemente encontrada em infecções hospitalares, principalmente pela higienização inadequada dos profissionais de saúde ou por equipamentos hospitalares (FERREIRA, 2017).

A *Salmonella* spp. é uma bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, naturalmente encontrada no ambiente, com multiplicação em temperaturas que variam entre 7 a 49°C. Ela é causadora da salmonelose, uma doença, que quando não tratada, contribui significativamente para a mortalidade em todo o mundo, correspondendo a 93 milhões de casos. Grande parte dos sorovares de *Salmonella* spp. causam zoonoses, com variados hospedeiros, no entanto, causam infecções em humanos (WILLIAMS et al, 2015).

Bactérias do gênero *Staphylococcus* possuem diferentes habitats, diferentes espécies possuem uma relação de comensalismo com o ser humano, no entanto, a espécie *Staphylococcus aureus* é considerada o patógeno humano mais importante entre o gênero, é considerada um micro-organismo oportunista, com elevada prevalência em infecções nosocomiais. Possui um pH mínimo de 4,5 para sua proliferação e temperatura ótima para o seu crescimento em torno de 37°C, entretanto, em temperaturas mais elevadas é que são capazes de produzir a toxina (>15°C), porém em casos de produtos que estão contaminados por este microrganismo estes fatores podem variar (ARAÚJO; ALMEIDA, 2017).

Algumas bactérias e fungos estão presentes naturalmente em plantas,

3 REFERENCIAL TEÓRICO

entretanto caso o material vegetal durante a sua colheita, secagem ou armazenamento não seja realizada de maneira adequada, esses micro-organismos podem crescer exponencialmente, podendo causar doenças aos seus consumidores. Por isso, as monografias oficiais estabelecem limites aceitáveis de carga microbiana para os derivados vegetais (NAFIU, 2017).

A numerosa presença de micro-organismos pode causar uma instabilidade no produto, levando a uma diminuição ou ainda a perda de sua eficácia com consequente degradação do princípio ativo. O pH do preparado medicinal também pode sofrer alteração em decorrência da presença microbiana. Essas alterações físicas e químicas comprometem a biodisponibilidade e a adesão do consumidor (SILVA et al. 2016).

No Brasil, por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), resolução nº 67, de 8 de outubro de 2007, que estabelece parâmetros de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias exige o cumprimento do regulamento para o exercício das atividades. Os produtos oriundos de matéria-prima vegetal estão inclusos no grupo I, com disposições a serem atendidas em seus anexos desta resolução. Portanto, seguir as boas práticas de fabricação é fundamental para assegurar a qualidade, segurança e eficácia de produtos farmacêuticos manipulados.

3.4 ANÁLISES UTILIZADAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE IRREGULARIDADES EM PRODUTOS FITOTERÁPICOS

3.4.1 Avaliação macroscópica do rótulo da embalagem

O rótulo do produto tem a finalidade de trazer informações básicas ao consumidor. Essas informações são essenciais para que ofereça ao produto um acondicionamento adequado, uso correto, bem como o seu descarte. O rótulo padronizado baseado nas diretrizes da legislação é indispensável para a efetividade e segurança do produto. (ANVISA 2009).

A etapa inicial para verificar se um produto fitoterápico é original ou não, é avaliar a aparência da embalagem. Itens obrigatórios que devem constar na

3 REFERENCIAL TEÓRICO

embalagem de acordo com a resolução RDC nº 26/2014 da ANVISA, subseção II do capítulo VIII concernente as embalagens de produtos fitoterápicos elencados a seguir são:

I - nome comercial do produto tradicional fitoterápico;

II - nomenclatura popular, seguida da nomenclatura botânica;

III - concentração do IFAV, conforme o inciso III do art. 57;

IV - a via de administração;

V - o nome do titular do registro ou sua logomarca, desde que essa contenha o nome da empresa;

VI - o telefone do Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC) da empresa titular do registro ou da notificação;

VII - número do lote;

VIII - prazo de validade.” (ANVISA, 2014).

3.4.2 Análise física e química

Em casos de suspeita de alguma alteração, parâmetros físicos são utilizados para verificar se há um desvio de qualidade associado ao produto. De acordo com a RDC nº 26/2014 da ANVISA, subseção II relacionada aos derivados da droga vegetal, utilizam-se métodos de análise para a caracterização físico-química para extratos fluidos como a caracterização, resíduo seco, pH, teor alcoólico e densidade relativa (ANVISA, 2014).

O teor de grau brix é um método de caracterização física, principalmente utilizado em xaropes que visa quantificar a presença de sólidos solúveis totais em determinada amostra. Esse método consiste na refração da luz através de um refratômetro que mede o desvio da luz em relação ao desvio provocado pela solução. Durante a análise é feito a soma da quantidade de compostos dissolvidos na solução como açúcares, sais, proteínas, ácidos e etc. O resultado obtido é dado em grau °Bx, por exemplo, uma solução açucarada cujo resultado é 25 °Bx tem 25 gramas de sacarose em 100 gramas de líquido (ELIAS, 2015).

Alguns fatores podem alterar a estabilidade de medicamentos e de produtos fitoterápicos como por exemplo, o pH, temperatura, luz, umidade, entre outros.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Essas alterações ainda podem ser identificadas através de alterações das propriedades organolépticas (ANVISA, 2012).

O potencial hidrogeniônico, o pH, é definido com base na concentração de íons hidrogênio presentes na solução (MONTEIRO et al., 2012). O pH alterado de uma formulação pronta pode modificar a degradação do fármaco. Um estudo de estabilidade química feito por Gupta (2004) mostra que a fenilefrina sofre degradação da cadeia lateral com perda da função amina secundária em pH superior a 7 (POMBAL; BARATA; OLIVEIRA, 2010).

3.4.3 Análise do perfil químico

Analisar o perfil químico da composição de produtos fitoterápicos como as garrafadas e xaropes é essencial para a identificar quali e quantitativamente as substâncias presentes na formulação. Existem atualmente inúmeras técnicas de identificação de substâncias e, dentre essas, as mais utilizadas são as técnicas cromatográficas e espectrométricas. Estas técnicas são referências em análises laboratoriais, por serem bastante sensíveis. No entanto, é uma técnica que exige um investimento alto e pessoas capacitadas para operar a máquina (KOVACS et al., 2014).

A cromatografia é um método físico e químico de separação e identificação de substâncias. Consiste na migração de substâncias presentes em uma amostra, entre duas fases, uma fase móvel e uma fase estacionária, possui ampla aplicabilidade na indústria farmacêutica. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), também conhecida pela sigla em inglês HPLC (High Performance Liquid Chromatography), é uma técnica composta por um cromatógrafo com uma bomba e detectores compatíveis com a coluna utilizada. Possui colunas fechadas e compactadas como fase estacionária, com tamanho variando entre 1,7 a 5 μm e sua fase móvel é constituída de uma mistura de solventes em grau analítico padrão CLAE, (ALMEIDA, 2016).

A espectroscopia de radiação no infravermelho é muito utilizada para qualificar e quantificar diversas substâncias, como muitas substâncias orgânicas e inorgânicas absorvem na região do infravermelho, sua aplicação é bastante versátil.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier possui uma alta sensibilidade e excelente resolução (MARCHETTI, 2014)

Outra técnica muito utilizada para a detecção de substâncias é a espectrometria de massas que se baseia na ionização de moléculas e as separa em íons, baseando-se na relação massa/carga (m/z). É uma técnica que possui uma variedade de fontes de ionização que irão variar de acordo com os tipos de analito de interesse a ser pesquisado (TOSATO, 2016).

Os adulterantes em produtos fitoterápicos se tornaram um grave problema potencialmente perigoso para a saúde e tem se mostrado uma prática ilegal comum. Estudos realizados por Dastjerdi et al. (2018) analisaram 61 fitoterápicos para perda de peso, através de cromatografia gasosa e espectrometria de massa. Eles identificaram que em 72% das amostras havia sido adulterada com outras substâncias de uso farmacêutico controlado como tramadol, fluoxetina e venlafaxina.

Hemdan e Tawakol (2018) em seus estudos identificaram a presença de medicamentos sintéticos não declarados em medicamentos fitoterápicos falsificados e verificaram a presença de Fenolftaleína, Sibutramina e sildenafil nos medicamentos fitoterápicos “Zotreem Plus”, “Slimming Bomb” e “Enjoy”, respectivamente. Em alguns países as agências reguladoras consideram os medicamentos fitoterápicos como suplementos alimentares, fato que favorece os fabricantes a não precisarem buscar a aprovação do FDA (Food and Drug Administration).

Esses achados químicos são uma questão preocupante para a saúde pública, apresenta potencial risco para quem os consome, visto que certas pessoas podem apresentar sensibilidade a diferentes componentes do medicamento. A introdução de substâncias adulterantes é crime, está previsto em lei, pode ocasionar intoxicações e agravos a saúde, sua detecção requer técnicas específicas que possibilitem a elucidação química. Tendo em vista isso, a química forense corrobora para a elucidação de crimes, através da aplicação dos conhecimentos da área química na resolução judicial (FERREIRA, 2016).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRA

Um quantitativo de 12 amostras de garrafadas e xaropes oriundos de apreensão, cedidos pelo Departamento de Polícia Técnico-Científico do Estado do Amapá (POLITEC), foram utilizados neste estudo. Foi retirada alíquotas de 40 mL do conteúdo das embalagens das amostras de cada produto fitoterápico foram transferidas imediatamente para frascos estéreis. O transporte dessas amostras foi feito sob refrigeração em isopor térmico com gelo artificial reutilizável até o laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal do Amapá.

4.2 ANÁLISE DO RÓTULO

Os rótulos das embalagens das garrafadas e dos xaropes foram analisados e comparados com os critérios estabelecidos pela RDC n° 26, de 13 de maio de 2014 da ANVISA (ANVISA, 2014). Foi observado se os rótulos das embalagens dos produtos continham as seguintes informações:

- ✓ Nome comercial do produto tradicional fitoterápico;
- ✓ Nomenclatura popular, seguida da nomenclatura botânica;
- ✓ Concentração;
- ✓ Via de administração;
- ✓ Nome do titular do registro ou sua logomarca, desde que essa contenha o nome da empresa;
- ✓ Telefone do Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC) da empresa titular do registro ou da notificação;
- ✓ Número do lote;
- ✓ Prazo de validade.

4.3 AVALIAÇÃO FÍSICA

Para avaliação do grau brix de cada amostra também foi avaliado o teor de açúcares totais em refratômetro para açúcar 0-32% Brix-unidade K52-032.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4 AVALIAÇÃO QUÍMICA

4.4.1 Avaliação do pH

O pH foi aferido com o pHmêtro digital (modelo 827 pH lab da Metrohm). A avaliação do pH das garrafadas e dos xaropes foram realizados conforme a Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

4.4.2 Análise Química Por Espectrometro De Massa De Ressonância De Íon Ciclotron Com Transformada De Fourier (FT-ICR MS)

Para a injeção na fonte de ESI, foram preparadas soluções metanólicas contendo 50 mg de cada amostra das garrafadas e xaropes em 5 mL de metanol. Para análise, foram retiradas individualmente de cada amostra alíquotas de 10 µL para injeção no espectrômetro de massas. Todas as amostras também foram fracionadas através da técnica de extração em fase sólida SPE a fim de evitar a supressão de outros sinais presentes no espectro, ocasionada pela presença de açúcares nas amostras de xarope. Posteriormente, as diluições e suas frações de cada amostra de produto fitoterápico foram injetadas no espectrômetro FT-ICR MS (Modelo 9.4 Solarix, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). As análises foram realizadas no modo positivo e negativo em uma faixa de massa 150-1500 *m/z*.

4.5 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

A pesquisa de micro-organismos patogênicos em amostras de garrafadas e xaropes foram realizadas de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (ANVISA, 2010) para ensaios microbiológicos para produtos não estéreis com adaptações.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.5.1 Fungos

Para a quantificação de bolores e leveduras, alíquotas de 1 mL dos produtos fitoterápicos foram adicionados em caldo peptona de caseína para diluição, na proporção 1:10. Feito isso, foi transferido 0,1 µL da diluição para a placa com o meio ágar Sabouroud dextrose. Cada amostragem foi semeada em triplicata pela técnica de espalhamento *spread plate*. Posteriormente, todas as placas foram incubadas por um período de 2-5 dias em uma temperatura de 25°C ao abrigo da luz e calor excessivo. Por fim, foi feita a contagem de unidades formadoras de colônia de fungos e leveduras, o resultado da contagem foi multiplicado pela diluição decimal da contagem e comparados com os limites microbianos para produtos não estéreis, disposto na Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

4.5.2 Pesquisa qualitativa de bactérias patogênicas

Para a identificação de bactérias patogênicas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* foram semeados em caldo de enriquecimento, caldo triptona de soja. Alíquotas de 1 mL das amostras de garrafadas e xaropes foram adicionadas em tubos contendo 9 mL do caldo de enriquecimento, proporção 1:10, com posterior incubação em estufa bacteriológica por um período 24-48h a 35°C.

Para a identificação das bactérias Gram negativas *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Salmonella* spp., foi feito semeio em triplicata das amostras em ágar Macconkey, meio seletivo para enterobactérias. Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica por um período 24-48h a 35°C. Após o período de incubação, foi verificado se houve o desenvolvimento de colônias típicas para cada micro-organismo nos meios de plaqueamento. Bactérias fermentadoras da lactose apresentam coloração rósea e as não fermentadoras deste açúcar permanecem com colônias incolores.

Para a identificação de *S. aureus* as amostras foram semeadas em triplicata no meio seletivo ágar Sal manitol, todos os semeios foram feitos pela técnica de

4 MATERIAL E MÉTODOS

semeadura por superfície, *spread plate*. Feito isso, observou-se o crescimento de colônias sugestivas de *S. aureus*, que em meio ágar Sal manitol formam colônias grande rodeadas de uma zona amarela. Para a confirmação das colônias bacterianas características de *Staphylococcus aureus*, o semeio primário foi feito em ágar sangue, meio utilizado para verificação de hemólise por espécies de *Staphylococcus* spp.

Provas bioquímicas de coagulase e catalase foram realizadas de acordo com o manual de microbiologia clínica da ANVISA (2013) e a coloração de Gram foi realizada para a identificação morfológica dos cocos Gram positivos, característico de bactérias do gênero *Staphylococcus* spp.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DO RÓTULO

Todos os rótulos das amostras de garrafadas e xaropes apreendidas foram avaliados conforme informações dispostas na resolução RDC nº 26/2014 da ANVISA, subseção II do capítulo VIII concernente as embalagens de produtos fitoterápicos.

De acordo com esta resolução, os rótulos das embalagens primárias de produto tradicional fitoterápico devem conter as seguintes informações:

“I - nome comercial do produto tradicional fitoterápico;

II - nomenclatura popular, seguida da nomenclatura botânica;

III - concentração do IFAV, conforme o inciso III do art. 57;

IV - a via de administração;

V - o nome do titular do registro ou sua logomarca, desde que essa contenha o nome da empresa;

VI - o telefone do Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC) da empresa titular do registro ou da notificação;

VII - número do lote;

VIII - prazo de validade.” (ANVISA, 2014).

Após avaliação dos rótulos das embalagens primárias das amostras de garrafadas e xaropes apreendidos, quando comparadas com a RDC 26/2014, encontraram-se fora do preconizado (Tabela 1). Apenas os itens via de administração e validade aparecem presentes em 100% das amostras avaliadas. O item V da avaliação dos rótulos das embalagens primárias não estava presente, havia descrição de “produto isento de registro” em todos os rótulos das embalagens das amostras avaliadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1 – Informações que devem conter em rótulos de embalagem primária de produtos fitoterápicos, segundo a RDC nº 26/2014 da ANVISA.

Produto	Nomenclatura botânica	Concentração	Via de administração	SAC	Lote	Validade
Mel com mastruz e leite do Amapá			X			X
Saúde da mulher			X	X		X
Aguardente Alemã			X			X
Saúde do homem			X			X
Uxi Amarelo			X			X
Elixir Longa vida			X			X
Mel com limão e alho			X			X
Xarope de cumaru			X			X
Quebra pedra e boldo			X			X
Cura tudo			X			X
Tônico dos pulmões			X			X
Xarope de cupim			X			X

Com relação as garrafadas, não há legislação que regulamente este tipo de produto, o que dificulta a sua avaliação e fiscalização. A rotulagem de todos os materiais apreendidos, incluindo garrafadas e xaropes, continha informações sobre produtos de origem vegetal, com indicações terapêuticas e autodenominação de “produtos 100% naturais”.

Tendo em vista que as garrafadas não são consideradas medicamentos e ainda, com a descrição de indicações terapêuticas, posologias e denominações de produtos “seguros” não deveriam estar presentes em seus rótulos. Contudo, a descrição das informações na embalagem primária é necessária não somente pelo aspecto regulatório, mas para a instrução correta e segurança de seus usuários.

No que concerne as informações presentes nesses rótulos, a ausência de especificações pode trazer risco aos seus usuários. A concentração desconhecida

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

pode causar prejuízos, pois implica diretamente em sua posologia através de uma dose errônea, baixa ou alta, mesmo quando especificado em seu modo de uso “tomar duas colheres de sopa duas vezes ao dia”, por exemplo, essa informação pode ser inválida para outro lote produzido do mesmo produto, pois há incerteza quanto a concentração equivalente em gramas de cada metabólito vegetal produzido pela espécie vegetal.

A presença do número do SAC é importante para contactar com o fabricante para orientações, sugestões ou até uma possível reclamação do consumidor quando pertinente a um determinado lote produzido e sua ausência inviabiliza o *feedback* para a empresa.

O fato desses produtos, garrafadas, não serem alvos de fiscalização permitem que estes informem em sua rotulagem supostas leis ou decretos, com os dizeres de “Produto Isento de Registro de acordo com o artigo 28 - Decreto nº 79.094 - Lei nº 6.360 de 23/09/1976”, este decreto além de ter sido revogado pelo Decreto nº 8.07723, não há menção de garrafadas, sobretudo o seu registro. Fazer afirmação falsa ou enganosa de produtos ou serviços, está prevista na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990 em seu artigo 66 do Código de Defesa do Consumidor, com detenção penal de até um ano e multa (BRASIL, 1990).

O produto tradicional fitoterápico pode ser registrado ou notificado. A notificação desses produtos é uma maneira simplificada que visa diminuir os processos burocráticos de regularização, porém é necessário que as empresas que foram autorizadas a fabricar e comercializar cumpram as boas práticas de fabricação. Portanto, o produto tradicional fitoterápico só pode ser incluído na categoria de notificação se este estiver incluso no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira ou em outros compêndios oficiais (CARVALHO et al., 2018).

Além disso, em seus rótulos, há menção de uma mistura de plantas em cada produto, isso se torna dúvida para os consumidores, pois não tem comprovação de identificação botânica, ou seja, não há como comprovar que existe, de fato, a presença delas. Como são produtos provenientes de apreensão devido a sua produção em larga escala feita de forma irregular e em baixas condições sanitárias, são produtos que podem ser fonte de contaminação microbiana.

O uso desses produtos deve ser criterioso até para aqueles que não possuem

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

contraindicações. Ademais, grupos especiais como gestantes, idosos e portadores de doenças crônicas não devem fazer automedicação, ou até mesmo, substituição de um tratamento para um problema de saúde já conhecido, prescrito por um profissional médico, por esse tipo de produto. Concernente a isso, muitos xaropes que têm concentrações elevadas de açúcares devem estar explícitos em seu rótulo a contraindicação para usuários diabéticos.

A negligência desses produtos pela legislação e a tradicionalidade de uso, complicam ainda mais os riscos inerentes as garrafadas, pois possuem misturas de diversas substâncias ativas complexas e em concentrações desconhecidas que além de tudo, não possuem comprovação científica de uso e presença das plantas ou partes delas e ainda, não garantem segurança e eficácia aos seus consumidores. Outro fator importante está atrelado ao processo fabril, que quando não são regidos de boas práticas de fabricação e manipulação, podem sofrer degradações químicas, ações enzimáticas e contaminação microbiana (PASSOS et al., 2018).

Figura 3 – Imagens da garrafada Saúde do homem (A-B) e xarope de cumarú (C-D) apreendidos em operações policiais na cidade de Macapá.



Fonte: próprio autor

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2 AVALIAÇÃO FÍSICA

5.2.1 Determinação do grau Brix (°Bx)

O teor de grau brix foi avaliado em todas as amostras com o intuito de verificar a quantidade de sólidos solúveis presentes nas garrafadas e xaropes, para os xaropes a quantidade de açúcares é quantificada pelo teor de grau Brix°. A quantidade de açúcar presente nesses produtos está relacionada com a conservação do produto e viscosidade, a exemplo dos xaropes.

Segundo Andrade e Silva (2016) a determinação do teor de açúcares foi dada pelo grau brix (°Bx), método que consiste na análise da refração da luz por um refratômetro, considera os sólidos solúveis presentes em uma amostra, o que pode gerar falsos positivos para teores de açúcares pois, o método abrange todos os sólidos solúveis (açúcares e sais).

Para os xaropes, o teor de açúcares em sua formulação não deve ser inferior a 45% peso/peso (p/p) de sacarose ou outros açúcares. Os xaropes ainda podem conter agentes flavorizantes, agregando a eles um sabor característico (BRASIL, 2011). O teor de sacarose na escala Brix varia de 50 a 70°Bx em xaropes artificiais (MONTEIRO et al, 2013).

Os xaropes mel com mastruz e leite do amapá, mel com limão e alho, xarope de cumaru, xarope de cupim e tônico dos pulmões foram diluídos na proporção 1:2 para a leitura no refratômetro. Após leitura, os resultados foram multiplicados por 3x a diluição 1:2 (amostra:água), obtendo a faixa desejável de sacarose para os xaropes, normalmente entre 60 a 80%, valor que proporciona ao xarope, sabor e viscosidade (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013). Portanto, os xaropes avaliados estão dentro da faixa de concentração de sacarose, conforme apresentado na tabela 2.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 2 – Determinação do grau brix (°Bx) em amostras de garrafadas e xaropes apreendidos.

Produtos fitoterápicos	grau Brix (°Bx)	Leitura (x3)
Mel com mastruz e leite do Amapá	24°Bx	72°
Saúde da mulher	3.2°Bx	
Aguardente Alemã	8°Bx	
Saúde do homem	3.5°Bx	
Uxi Amarelo	4°Bx	
Elixir Longa vida	4°Bx	
Mel com limão e alho	29.1°Bx	87.3°
Xarope de cumaru	20.3°Bx	60.9°
Quebra pedra e boldo	4°Bx	
Cura tudo	3.4°Bx	
Tônico dos pulmões	22.3°Bx	66.9°
Xarope de cupim	23.1°Bx	69.3°

Contudo, o grau Brix aproxima a concentração de açúcar na amostra, porém é um método de pouca especificidade, pois além do açúcar, pode identificar outros sólidos solúveis e gerar um resultado pouco preciso para a análise dos carboidratos de interesse em uma amostra açucarada.

5.3 AVALIAÇÃO QUÍMICA

5.3.1 Avaliação do pH

O pH de todas as garrafadas e preparados medicinais apresentaram valores baixos em uma faixa de temperatura de 14 a 21°C. Os resultados estão apresentados na tabela a seguir.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 3 – Avaliação do pH em amostras de garrafadas e xaropes apreendidos

Produtos fitoterápicos	pH	Temperatura
Mel com mastruz e leite do Amapá	2.22	17.1°C
Saúde da mulher	1.78	14.5°C
Aguardente Alemã	1.48	15.0°C
Saúde do homem	1.73	16.7°C
Uxi Amarelo	2.56	16.1°C
Elixir Longa vida	2.67	16.8°C
Mel com limão e alho	1.84	17.4°C
Xarope de cumaru	2.75	18.7°C
Quebra pedra e boldo	2.76	18.6°C
Cura tudo	1.83	19.1°C
Tônico dos pulmões	1.67	19.1°C
Xarope de cupim	2.58	21.5°C

Os resultados encontrados após aferição em amostras de garrafadas e xaropes revelaram valores de pH extremamente ácidos para consumo, estes valores podem estar relacionados com a forma de armazenamento, pois não possuíam acondicionamento térmico adequado e ainda, sem o controle de temperatura e umidade do local. Fato este que corrobora para a perda de estabilidade do produto.

O valor de pH ideal seria em torno de 4 a 5, este valor favorece a estabilidade de muitos fármacos (THOMPSON; DAVIDOW, 2013). No entanto, as amostras apresentaram valores muito ácidos comprometendo a sua estabilidade e ainda, a adesão do produto pelo consumidor, a acidez acentuada torna o produto menos palatável para o consumo. Os valores de pH muito ácidos encontrados nesses produtos, quando consumidos frequentemente, podem comprometer a função salivar, contribuindo para o aumento da solubilidade da apatita dentária, principal componente do esmalte dentário (SILVA et al., 2016).

Os xaropes avaliados neste estudo são populares entre a população de Macapá, principalmente entre as crianças. Durante esta fase de vida é comum observar o uso de xaropes para combater afecções respiratórias como o xarope de

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

cumaru que tem indicação expectorante. Este xarope apresentou um valor baixo (2.75) na escala de pH, valores baixos que de acordo com Silva et al. (2015) relatam que xaropes com valores de pH baixo associado a uma ineficiente higienização bucal favorecem a erosão do esmalte dentário, criando um ambiente propício ao crescimento da cárie dentária.

O pH adequado de formulações líquidas está relacionado a estabilidade do fármaco. O fármaco pode apresentar instabilidade química quando presente em pH inadequado, provocando assim sua decomposição (SILVA et al., 2015).

O crescimento de micro-organismos em preparações farmacêuticas manipuladas pode alterar a estabilidade física desses produtos como a geração de reações de degradação, a exemplo da hidrólise de gorduras, alterações no pH, cor e odor. A temperatura de armazenamento inadequada e o pH alterado ainda pode influenciar na solubilidade do princípio ativo (POMBAL; BARATA; OLIVEIRA, 2010).

Segundo Bruno et al. (2005) valores baixos de pH favorece o crescimento de fungos, e dependendo de como este está armazenado, pode reduzir o tempo de prateleira do produto e ainda, causar toxiinfecção no consumidor.

Rodrigues et al. (2018) avaliaram as propriedades físico-químicas do xarope de cupim e encontraram valores médios de pH 4,33 na faixa de temperatura de 15 a 20°C, enquanto o valor de pH do presente estudo para o mesmo xarope apresentou valor inferior a este em temperatura de armazenamento.

Diante a isto, o controle de pH das formulações apresenta relevância sobre a estabilidade dos produtos. O fornecimento de condições ideais durante a manipulação, o armazenamento e o transporte do produto final e os protegendo também de fatores extrínsecos como a luz, calor e umidade possibilitam um período de vida útil de prateleira maior.

5.3.2 Análise Química Por ESI (-) FT-ICR MS

A composição informada nos rótulos das garrafadas e xaropes continham apenas os nomes populares das plantas, sem nenhuma outra informação adicional de conservante, flavorizante e edulcorante.

A tabela a seguir está disposta a composição das garrafadas e xaropes com a

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

indicação de uso presente nos rótulos avaliados. A análise química teve o intuito de pesquisar e identificar a presença de substâncias sintéticas não descritas nos rótulos dos produtos apreendidos que poderiam estar relacionadas com a indicação e efeito terapêutico.

Tabela 4 – Composição das garrafadas e xaropes conforme a descrição do rótulo, oriundos de apreensão cedidos pela POLITEC-AP.

Produtos Fitoterápicos	Composição	Indicação
Saúde do homem	Barbatimão, Confrei, Ipê roxo, Assacú, Agoniada, Unha de gato	Tratamento de inflamações, cistite, uretrite, infecção urinária, trata e previne o câncer.
Uxi-amarelo com unha de gato	Uxi-amarelo, Unha de gato	Miomas e ovários policísticos, infecções urinárias, inflamação uterina, prevenção do câncer e como auxílio para mulheres com dificuldade para engravidar.
Quebra-pedra e boldo	Quebra-pedra, Boldo, Pó do côco, babaçu e raiz amarga	Cálculo renal, diurético, combate o diabetes auxilia na prevenção do
Xarope cumarú	Mel, Cumarú, Sucupira, Romã, Hortelão, Alho roxo, Limão, Própolis, Gengibre, Eucalipto, Selva de jatobá, óleo de Piquí, óleo de Copaíba, óleo de Andiroba, extrato de Ortelã	Infecções gripais, bronquite, sinusite, pneumonia, asma, chiado no peito, catarro no peito, tosse aguda, infecção na garganta e resfriado.
Tônico dos pulmões	Mel com Matruz e leite do amapá.	Tosse, bronquite e asma
Elixir de longa vida	Catuaba preta, Jatobá, Quina, Hortelã, Romã, Camomila, Amêndoa, Laranjeira, Anis Estrelado, Quarenta Galhos, Amora Branca, Castanha do Pará, mel.	Depurativo do sangue, anemia, tontura, fraqueza nas pernas e nos ossos, escurecimento da vista e estimulação dos nervos

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cura tudo	Espinheira Santa, Alcachofra do norte, Artemísia, Carqueja Amarga, Castanha da Índia, Cavalinha, Chapéu de Couro, Ipê Roxo, Jurubeba e Salsa Parrilha.	Gastrite, úlcera, pedra nos rins, fígado, hepatite, reumatismo, prisão de ventre, hemorroidas, vermífugo. Auxilia no controle da diabetes e nos regimes de emagrecimento.
Saúde da mulher	Uxi-amarelo, unha de gato, barbatimão, verônica, ipê roxo, assacú, aroeira, jucá, flor de catingueira, pata de vaca e noni.	Inflamações do útero e ovário, cisto, miomas, coceira vaginal, corrimento com odor, menstruação irregular, cólicas e preventivo do câncer e dores urinárias.
Aguardente alemã	Jalapa, batata de purga, pixurí, nosmostarda, anis estrelado, ruan, caramelan, rui barbo, carqueja, alcatrão.	Indigestão, congestão, fígado, paralisia facial, tremedeira, dor de cabeça, enxaqueca, menopausa, depurativo do sangue e circulação do sangue.
Mel com mastruz e leite do amapá	mel com mastruz e leite do amapá.	Gastrite, úlcera, pneumonia, prevenção do câncer de próstata e fortificante pulmonar.
Xarope de cupim	mel, cupim, sucupira, romã, hortelã, alho roxo, limão, própolis, gengibre, eucalipto, selva de jatobá, óleo de piquí, óleo de copaíba, óleo de andiroba.	Infecções gripais, bronquite, sinusite, pneumonia, asma, chiado no peito, catarro no peito, tosse aguda, infecção na garganta e resfriado.
Mel com limão e alho	eucalipto, própolis, mentol, extrato de sucupira, extrato de jatobá, extrato de cambará, extrato de angico, óleo de piquí, óleo de andiroba, óleo de andiroba.	Falta de ar, gripe, resfriado, tosse, faringite, bronquite, pneumonia, asma, rouquidão, dor de garganta e amídalas inflamadas.

Não foram encontrados na avaliação química das amostras de garrafadas e xaropes massas de substâncias químicas como a presença de medicamentos sintéticos (anti-inflamatórios, inibidores da fosfodiesterase e broncodilatadores) e

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

drogas de abuso (tabela 5), tais massas foram pesquisadas nos espectros de acordo com a base de dados do SAFS-FORENDEX (Associação Sul de Cientistas Forenses, 2020).

Tabela 5 – Substâncias sintéticas da biblioteca do SAFS-FORENDEX pesquisadas na análise química por FT-ICR MS

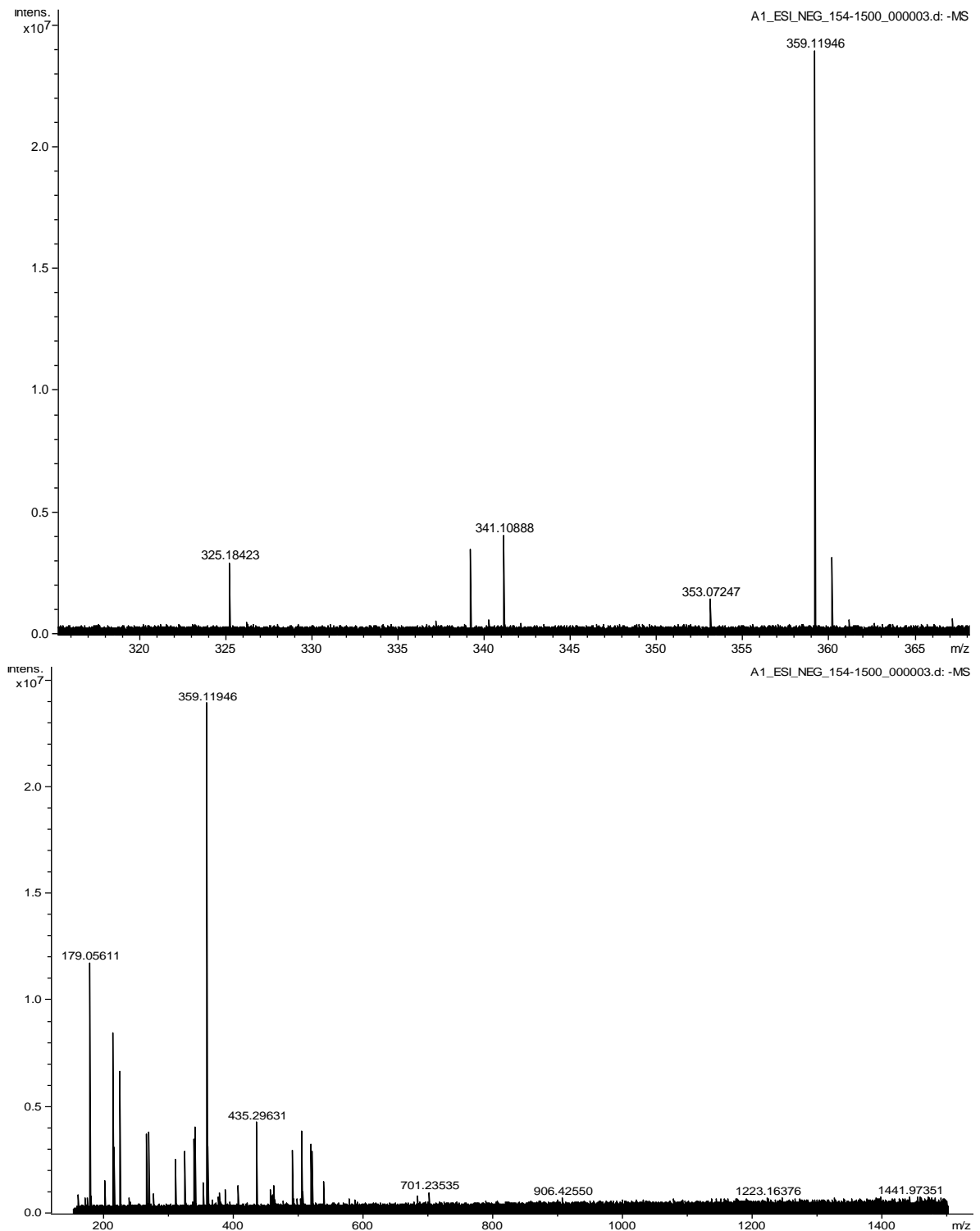
Anti-Inflamatórios		Drogas Ilícitas	
Substâncias	Massa Molar	Substâncias	Massa Molar
Diclofenaco	296,148 g/mol	Cocaína	303,3529 g/mol
Ibuprofeno	206,29 g/mol	Canabidiol	314,4617 g/mol
Piroxicam	331,348 g/mol	Dextromoramide	392,5338 g/mol
Nimesulida	308,311 g/mol	Ecgonina	185,2337 g/mol
Cetoprofeno	254,281 g/mol	Heroína	369,4110 g/mol
Naproxeno	230,259 g/mol	Metanfetamina	149,2337 g/mol
Ácido mefenâmico	241,285g/mol	Fentanil	336,471 g/mol

Broncodilatadores		Inibidores da Fosfodiesterase	
Substâncias	Massa Molar	Substâncias	Massa Molar
Fenoterol	303,35 g/mol	Sildenafil	474,5764 g/mol
Salbutamol	239,311 g/mol	Tadalafila	389,404 g/mol
Terbutalina	225,284 g/mol	Vardenafila	488,604 g/mol
Formoterol	344,405 g/mol	Roflumilaste	403,207 g/mol
Salmeterol	415,57 g/mol	Cilomilaste	343,417 g/mol
Aminofilina	420,427 g/mol		
Teofilina	180,164 g/mol		
Doxofilina	266,25 g/mol		
Brometo de ipratrópio	332,457 g/mol		
Brometo de tiotrópio	472,416 g/mol		

A identificação dos principais sinais no espectro revelou a presença de algumas substâncias que sugerem a presença das plantas descritas nos rótulos, como pode ser observado no espectro da garrafada “mel com mastruz e leite do amapá” (figura 4), “saúde da mulher” (figura 5) e “saúde do homem” (figura 6).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

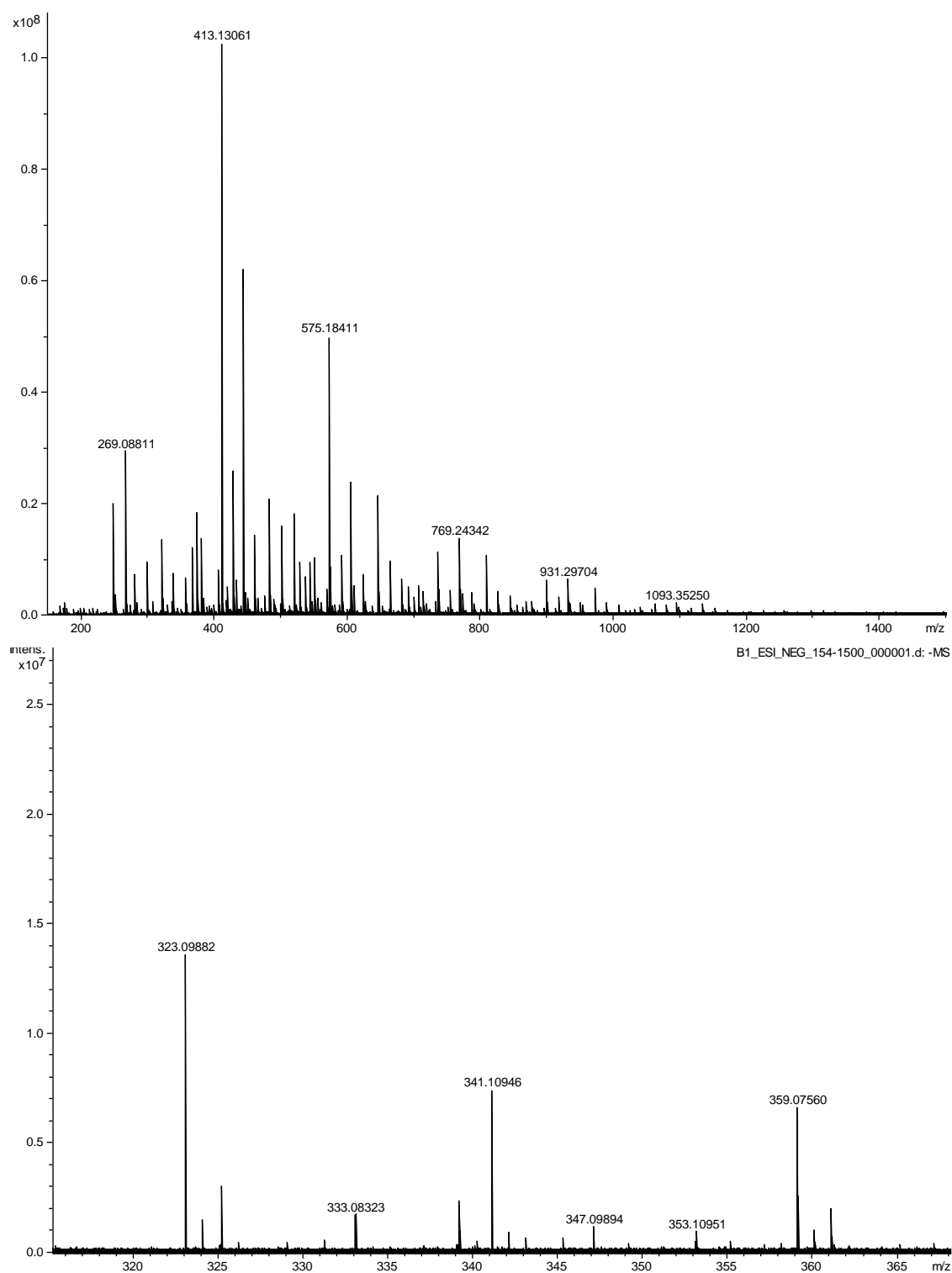
Figura 4 - Espectro da garrafada “mel com mastruz e leite do Amapá”



Fonte: Próprio autor

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

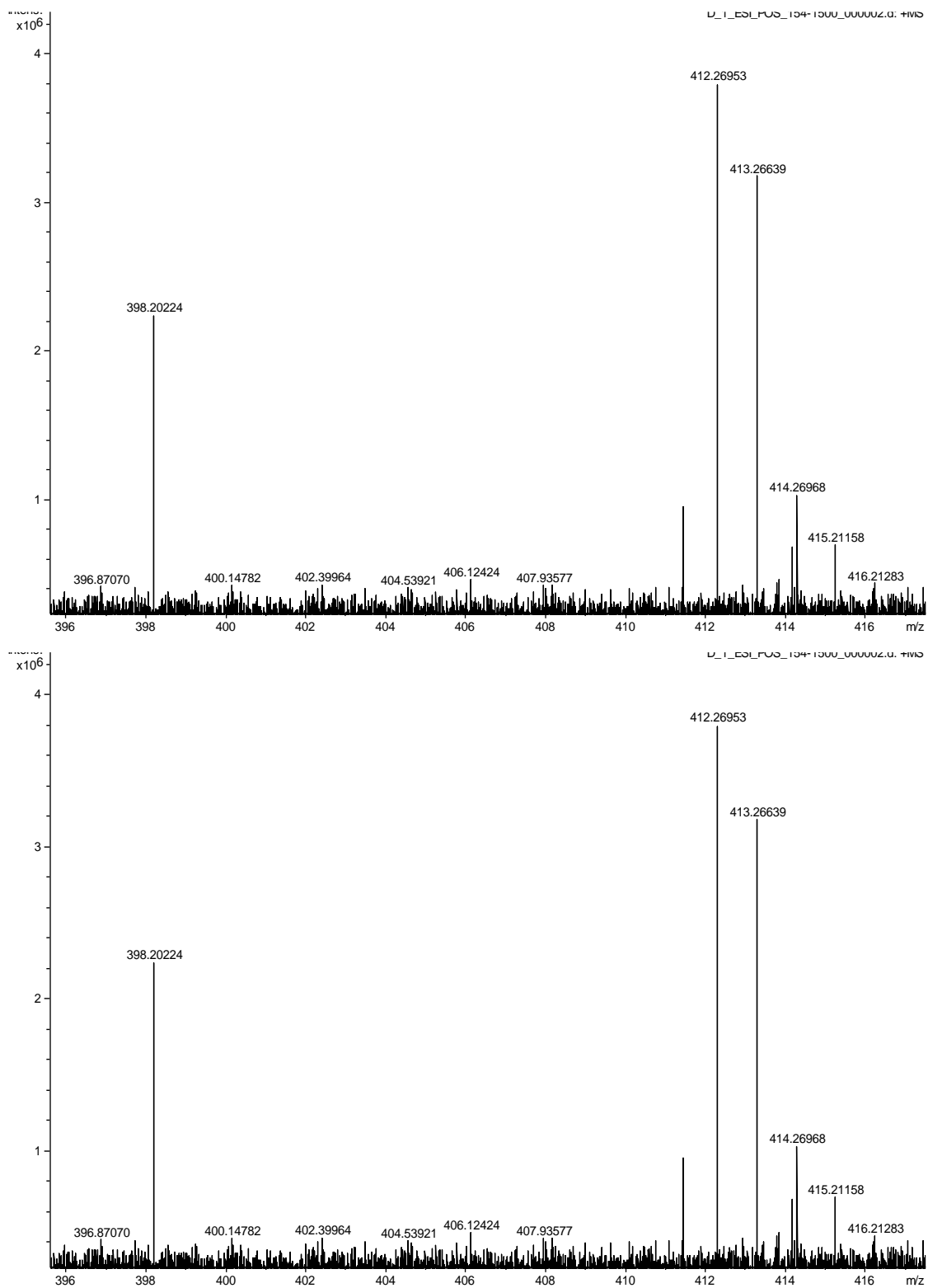
Figura 5 - Espectro de massas da fração 1 da garrafada “Saúde da mulher”, modo negativo (ESI -)



Fonte: Próprio autor

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 6 - Espectro da garrafada “Saúde do homem”, modo positivo (ESI +)



Fonte: Próprio autor

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação dos principais sinais no espectro revelou a presença de algumas substâncias da própria planta descrita nos rótulos. Alguns xaropes foram encontrados sinais de açúcares com m/z 341.109 $[M+H]^+$, m/z 359.119 $[M+H]^+$ e m/z 521.172 $[M+H]^+$ devido a abundância desses açúcares nas amostras, há supressão em outros sinais menos intensos. A relação massa carga (m/z) das massas encontradas nos espectros foi criada com base em imagens de MS e em dados da literatura, conforme a tabela disposta a seguir.

Tabela 6 – Relação massa carga (m/z) dos principais sinais identificados nos espectros das amostras analisadas.

Mel com mastruz e leite do Amapá	Massa observada $[M-H]^+ m/z$	Identificação	Referência
	325.184	Ácido feruloil pentosídeo	BARROS et al. 2013
	367.216	Isômero do ácido feruloilquínico	SIMIRGIOTIS et. at 2015
	359.119	Sacarose	
	637.342	Isorhamnetina O-rhamnosyl-glucuronídeo	BARROS et al. 2013
Saúde da mulher	Massa observada $[M-H]^+ m/z$	Identificação	Referência
	255.233	Ácido graxo (ácido palmítico)	SIMIRGIOTIS et al., 2015
	593.4	Robinetinidol-(epi)galocatequina	PINTO et al., 2015
	607.3	Robinetinidol-4'-O-methyl(epi)galocatequina	PINTO et al., 2015
Aguardente alemã	Massa observada $[M-H]^+ m/z$	Identificação	
	345.283	Desconhecido	
	347.094	Desconhecido	
	659.547	Desconhecido	
Saúde do homem	Massa observada $[M-H]^+ m/z$	Identificação	
	398.202	Equimidina	LIU et al. 2009

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

	412.269	Lasiocarpina	LIU et al. 2009
Uxi-amarelo	Massa observada	Identificação	
	[M-H]⁻ m/z		
	255.233	Ácido graxo (ácido palmítico)	SIMIRGIOTIS et al., 2015
	653.301	Desconhecido	
Longa vida	Massa observada	Identificação	
	[M-H]⁻ m/z		
	445.135	Tanino	
Mel com limão e alho	Massa observada	Identificação	
	[M-H]⁻ m/z		
	341.109	Sacarose	
	359.119	Sacarose	
	521.172	Sacarose	
Xarope de cumaru	Massa observada	Identificação	
	[M-H]⁻ m/z		
	215.032	Glicose com Cl	
	341.109	Sacarose	
Quebra-pedra	Massa observada	Identificação	
	[M-H]⁻ m/z		
	445.135	Tanino	
Xarope cura tudo	Massa observada	Identificação	
	[M-H]⁻ m/z		
	445.135	Tanino	
Tônico dos pulmões	Massa observada	Identificação	
	[M-H]⁻ m/z		
	215.033	Glicose+Cl	
	341.109	Sacarose	
Xarope de cupim	Massa observada	Identificação	
	[M-H]⁻ m/z		
	341.109	Sacarose	

Em todos os xaropes foi observada a presença de açúcares, na forma simples como monômeros e dímeros de sacarose, corroborando com os resultados do grau Brix^o.

Há presença de compostos graxos como o ácido palmítico, *m/z* 255.233 [M+H]⁻, flavonóides e seus derivados fenólicos como ácido feruloil pentosídeo *m/z*

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

325.184 [M+H]⁻, isômero do ácido feruloilquínico m/z 367.216 [M+H]⁻, Isorhamnetina O-rhamnosyl-glucorínídeo m/z 637.342 [M+H]⁻ e a galontanina nas amostras das garrafadas e xaropes analisados, o que sugere a presença da planta ou partes dela. No entanto, não foi possível confirmar a presença de seus marcadores fitoquímicos, visto que há uma mistura de plantas, pois há complexidade de substâncias conforme observado no espectro e especificado no conteúdo do rótulo das embalagens dos produtos.

Os compostos fenólicos e seus derivados podem ser encontrados em plantas com estruturas variadas. Estas substâncias têm propriedades antioxidantes, antimicrobiana, antiinflamatória e vasodilatadora. Possuem estrutura química com no mínimo um anel aromático e com um ou mais radical hidroxil (FERRERA et al., 2016).

Estudos realizados por El-Askary et al. (2020) sobre os derivados do ácido quínico das folhas de *Artemisia annua* L. mostraram que os derivados do ácido quínico tem forte relação com o potencial antioxidante e hepatoprotetor descrito nas propriedades do gênero da espécie da planta. Estes derivados são capazes de aumentar a secreção da glutathione e normalizar os níveis dos marcadores hepáticos.

Através da análise por espectrometria de massas por elétron-spray (ESI-MS) em modo positivo, foi possível identificar a presença da lasiocarpina e quimidina, alcalóides pirrolizidínicos, na amostra da garrafada “Saúde do homem”. As massas correspondentes a estes sinais no espectro são m/z 398.202 [M+H]⁺ e m/z 412.269 [M+H]⁺, respectivamente. Nessa garrafada há descrição da planta confrei, corroborando o seu achado químico com a presença de partes da planta (figura 7).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 7 – Imagem da garrafafa “saúde do homem” apreendida, descrição das plantas constituintes no produto.



Fonte: próprio autor

Alcaloides pirrolizidínicos são metabólitos secundários resultantes do metabolismo de algumas espécies de plantas, dentre elas podemos citar o Confrei (*Symphytum officinalis* L.), presente na garrafada “saúde do homem” como a equimidina e a lasiocarpina. O efeito hepatotóxico destes alcaloides já é bastante evidenciado devido à atuação de seus metabólitos como agentes alquilantes, onde ocorre uma reação de oxidação no carbono- α ao N, catalisada por monooxigenases do citocromo P-450 (SILVA; BOLZAN; HEINZMANN, 2006).

A equimidina, substância encontrada no confrei, está relacionada a vários casos de doença veno-oclusiva do fígado quando esta é utilizada sob a forma de chá ou de droga vegetal. A lasiocarpina resultou em 61% dos ratos utilizados em um estudo carcinomas hepatocelulares, 33% com carcinoma de células escamosas da pele e 28% com adenomas de pulmão e em outro estudo, também com ratos que foram alimentados com lasiocarpina em uma concentração alimentar de 50 ppm por 55 semanas, 45% destes animais desenvolveram angiossarcomas do fígado e 35% apresentaram carcinomas hepatocelulares (MEI et al. 2010).

Embora a maioria das garrafadas e xaropes apresentem em seu rótulo a descrição de plantas, durante a análise química não foi possível concluir a presença de todos os marcadores fitoquímicos, devido a amostra ser de origem vegetal e

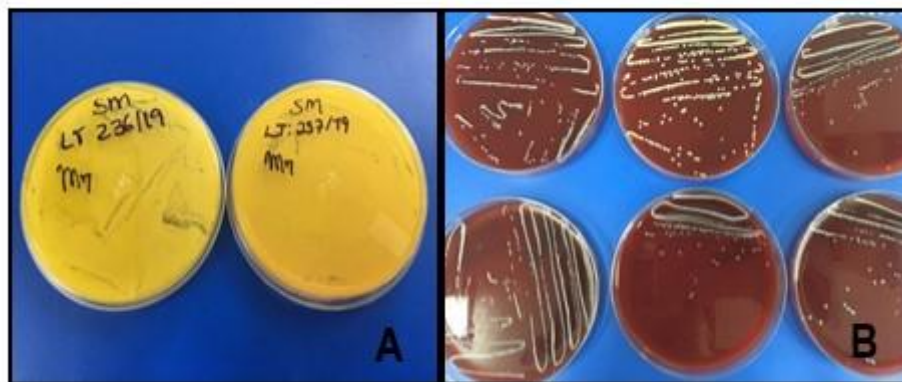
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

conter muitas substâncias complexas, fato este que dificulta a interpretação dos sinais, podendo ser observado na inconclusão dos sinais gerados nos espectros das garrafadas “aguardente alemã” e “uxi-amarelo” que não foram identificadas as substâncias, pois as massas referentes aos sinais do espectro encontrados não são compatíveis com a literatura e possivelmente as substâncias podem ter sofrido clivagem, formado cátions e íons, e consequente formação de adutos no espectro, estes que por sua vez, causam inconcistencias durante a interpretação (BONANCÊA, 2005).

5.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Não houve crescimento de micro-organismos do gênero *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Salmonella* no meio seletivo para enterobactérias utilizado, ágar Macconkey. No entanto, houve crescimento de colônias sugestivas de *S. aureus* em 4 amostras dos xaropes “mel com mastruz e leite do Amapá”, “mel com limão e alho”, garrafada “tônico dos pulmões” e “xarope de cupim” nos dois meios utilizados, ágar sal manitol e ágar sangue (Figura 8). Na pesquisa de fungos e leveduras, foi observado crescimento em 2 amostras dos “xaropes de Cumaru” e “xarope de Quebra pedra e boldo”, descrito na tabela 7.

Figura 8 – Resultado do plaqueamento das amostras de garrafadas e xaropes através da técnica de *spread plate* em ágar sal manitol (A) e ágar sangue (B).



5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 7 – Resultado da pesquisa para micro-organismos patogênicos *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Salmonella* spp.; *S. aureus* e fungos. Plaqueamento das amostras em meio ágar Macconkey, ágar Sal manitol e ágar Sabouroud dextrose, respectivamente.

Produtos fitoterápicos	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.	Fungos
Mel com mastruz e leite do Amapá	-	-	-	Presente	-
Saúde da mulher	-	-	-	-	-
Aguardente Alemã	-	-	-	-	-
Saúde do homem	-	-	-	-	-
Uxi Amarelo	-	-	-	-	-
Elixir Longa vida	-	-	-	-	-
Mel com limão e alho	-	-	-	Presente	-
Xarope de cumaru	-	-	-	-	<10 UFC/mL (est.)
Quebra pedra e boldo	-	-	-	-	<10 UFC/mL (est.)
Cura tudo	-	-	-	-	-
Tônico dos pulmões	-	-	-	Presente	-
Xarope de cupim	-	-	-	Presente	-

A coloração de Gram realizada nas amostras revelou a presença de cocos Gram-positivos (Figura 9) característicos de *S. aureus*, dessa maneira foi necessário a confirmação da espécie através dos testes fenotípicos como a prova da coagulase e catalase.

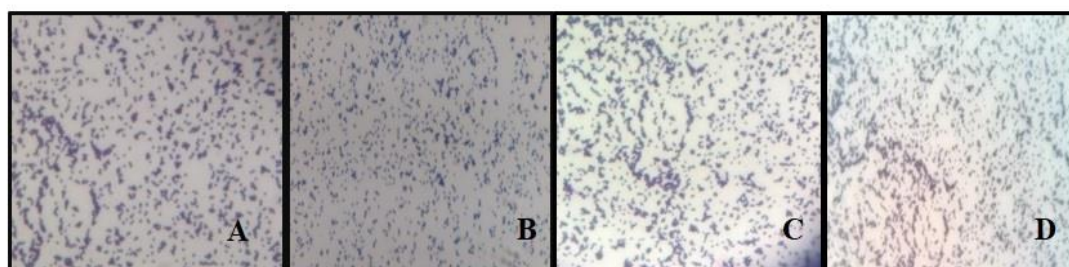
A coagulase é uma enzima produzida por algumas espécies de *Staphylococcus* que pode estar presente na parede celular da bactéria, sendo este um marcador de virulência e diferenciação das espécies de *Staphylococcus* spp (COSTA et al., 2011). Já a prova da catalase, teste rápido e simples que utiliza o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sobre a colônia bacteriana para observação da decomposição do H_2O_2 pela enzima catalase, em água e oxigênio. O teste tem a finalidade de verificar se os cocos produzem ou não a enzima catalase (MENDES et

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

al., 2018).

Tendo em vista o resultado foi confirmado a presença de *Staphylococcus* coagulase negativa, tabela 8.

Figura 9 – Coloração de Gram realizada a partir das amostras dos produtos Mel com mastruz e leite do Amapá (A), Mel com limão e alho (B), Tônico dos pulmões (C) e Xarope de cupim (D).



Fonte: próprio autor

Tabela 8 – Resultado dos testes de coagulase e catalase a partir de amostras positivas com colônias características de *S. aureus* resultantes da semeadura em ágar Sangue.

Produtos fitoterápicos	Coagulase	Catalase
Mel com mastruz e leite do Amapá	-	+
Saúde da mulher	-	-
Aguardente Alemã	-	-
Saúde do homem	-	-
Uxi Amarelo	-	-
Elixir Longa vida	-	-
Mel com limão e alho	-	+
Xarope de cumaru	-	-
Quebra pedra e boldo	-	-
Cura tudo	-	-
Tônico dos pulmões	-	+
Xarope de cupim	-	+

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo a farmacopeia brasileira 5ª edição (2010) em produtos não estéreis para uso oral contendo matéria-prima de origem natural, deverá estar ausente de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em 1 g ou 1 mL, para bactéria do gênero *Salmonella* ausência em 10 g ou 10 mL e para fungos e leveduras a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) deverá ser inferior a 10^2 UFC/g ou mL.

Portando, 8 das 12 amostras apreendidas avaliadas estão de acordo com o preconizado pelo compendio oficial brasileiro para esses micro-organismos. No entanto, houve crescimento de colônias de *Staphylococcus* coagulase negativa nos xaropes “Mel com mastroz e leite do Amapá”, “mel com limão e alho”, garrafada “tônico dos pulmões” e “xarope de cupim”, tornando-se, inadequadas.

É comum observar no centro comercial da cidade de Macapá a venda desses produtos que possuem tradicionalidade de uso pela população local. A venda desses produtos é feita de forma informal, na maioria das vezes em barracas, sem condições apropriadas de climatização e iluminação.

Essas amostras são provenientes de apreensão feita pela polícia civil do Estado que fechou uma fábrica clandestina de xaropes em um bairro localizado na zona norte de Macapá. As garrafas que eram envasadas os produtos ficavam imersas em um balde com água parada em um local sem higiene (figura 10).

A produção e o armazenamento inadequado influenciam diretamente na qualidade do produto. Esses produtos de apreensão eram produzidos nos fundos de uma kitnet, que funcionava como fábrica, de forma irregular, cujo ambiente e forma de preparo traziam diversos riscos para a saúde (ABREU, 2017).

A qualidade da água utilizada na preparação desses produtos deve ser livres de contaminantes microbiológicos como também de quaisquer outras impurezas. Um estudo realizado por Lima e colaboradores (2020) analisou a água utilizada na preparação de medicamentos fitoterápicos caseiros e constataram, através da análise microbiológica pela metodologia do teste colilert®, 77,8% das amostras analisadas apresentavam contaminação por coliformes totais, enquanto 66,7% estavam impróprias para o consumo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 10 – Fotografia dos produtos apreendidos em laboratório clandestino na cidade de Macapá.



Fonte: Jorge Abreu/G1

Os “xaropes de cumaru” e “quebra pedra e boldo” estão dentro dos limites permitidos para fungos e leveduras. É válido ressaltar que apesar da unidade formadora de colônia encontrada estar dentro do permitido pela farmacopeia brasileira, é necessário que esses produtos com fins medicinais como garrafadas, chás e outros tipos de preparações sejam sempre fabricados em boas condições, pois os produtos de origem vegetal que são utilizados na produção dos produtos fitoterápicos não são estéreis e já possuem uma carga microbiana natural e na ocorrência falha em qualquer etapa pode elevar o crescimento microbiano. O processo fabril tem influência direta sobre a qualidade desses produtos.

Os *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN), encontrada em amostras de xaropes e garrafadas neste estudo, possuem patogenicidade menor em relação ao *S. aureus*. Contudo, estas bactérias podem causar infecções mais graves em decorrência do uso indiscriminado de antibióticos, devido a fatores adaptativos como a capacidade de formação de biofilmes e possuir genes que codificam resistência aos antimicrobianos (ARAÚJO, 2019).

O *S. aureus* é uma bactéria anaeróbica facultativa, Gram-positiva, coagulase

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

positiva e pode apresentar-se microscopicamente como um coco único, em pares ou agrupamentos de cocos. O *Staphylococcus* spp. podem ser diferenciados de estreptococos com a prova da catalase (KHAN et al., 2019).

Bactérias do gênero *Staphylococcus* possuem diferentes habitats, diferentes espécies possuem uma relação de comensalismo com o ser humano, no entanto, a espécie *Staphylococcus aureus* é considerada o patógeno humano mais importante entre o gênero, é considerada um micro-organismo oportunista, com elevada prevalência em infecções nosocomiais. Possui um pH mínimo de 4,5 para sua proliferação e temperatura ótima para o seu crescimento em torno de 37°C, entretanto, em temperaturas mais elevadas é que são capazes de produzir a toxina (>15°C), porém em casos de produtos que estão contaminados por este micro-organismo estes fatores podem variar (ARAÚJO; ALMEIDA, 2017).

Silva et al. (2016) avaliaram a qualidade microbiológica de lambedores comercializados no município de Cuité em Pernambuco. Os pesquisadores encontraram em três amostras de lambedores, xaropes caseiros, micro-organismos patogênicos como *S. aureus* presente em duas amostras e em uma amostra foi encontrado *Salmonella* ssp.

Estudos realizados por Braz et al. (2015) avaliaram preparações medicinais adquiridas em raizeiro na cidade de Sancerlândia, Goiás. Eles constataram que houve elevada contaminação fúngica, $3,5 \times 10^3$ UFC/ mL em amostras de garrafadas, apresentando-se acima do limite estabelecido pela Farmacopeia brasileira 5ª edição.

Portanto, a qualidade microbiológica de um produto farmacêutico depende do fornecimento de condições de higiene e assepsia do local, ferramentas, equipamentos e do manipulador. Essas medidas previnem e diminuem consideravelmente os riscos de contaminação por micro-organismos.

5.5 PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP) COMO CRITÉRIO DE ANÁLISE DE FITOTERÁPICOS APREENDIDOS

Os Procedimentos Operacionais Padrão elaborados nesse estudo tem como objetivo auxiliar a POLITEC-AP em suas análises amostrais de produtos fitoterápicos apreendidos, objetivando reduzir tempo e custos com insumos e técnicas

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

laboratoriais para análise.

A primeira etapa de avaliação das amostras é a análise do rótulo, conforme o check-list proposto no POP 1 - Avaliação do rótulo (apêndice 1), conforme os critérios estabelecidos e em consonância com a legislação vigente, RDC nº 26 de 13 de maio de 2014 da ANVISA, que dispõe sobre registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos.

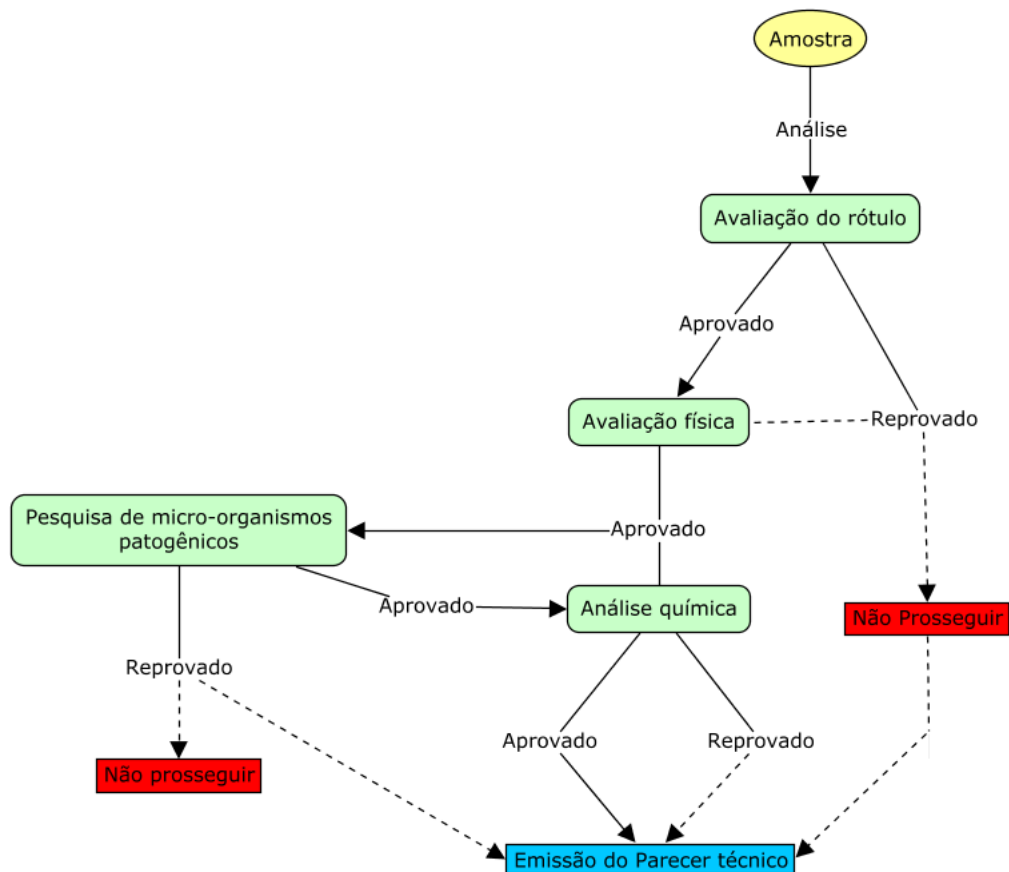
Após aprovação na avaliação do rótulo, a caracterização física da amostra poderá ser realizada, testes como pH, teor de sólidos solúveis totais (grau Brix°), solubilidade, características organolépticas e outros testes disponíveis poderão ser empregados.

Posteriormente, a pesquisa de micro-organismos patogênicos em amostra de produtos fitoterápicos, através de semeio e cultivo em meios seletivos permite avaliar a presença de bactérias patogênicas ao homem como *E. coli*, bactérias do gênero *Salmonella* spp., *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Os meios de cultivo e série bioquímica para pesquisa e identificação de cada micro-organismo poderão variar de acordo com cada laboratório. Nesta etapa de avaliação a coloração de Gram e os testes da catalase e coagulase, provas que servem para diferenciação e classificação da espécie de *Staphylococcus* spp estão descritas no POP 2 – Coloração de Gram (apêndice 2), POP 3 - Teste de catalase (apêndice 3) e POP 4 - Teste de coagulase (apêndice 4), respectivamente.

Por fim, a avaliação química que objetiva identificar a presença de substâncias sintéticas não descritas em rótulos de produtos fitoterápicos e que possam estar relacionadas com algum efeito terapêutico proposto pelo produto. As técnicas empregadas podem ser cromatográficas ou espectrométricas. Como os xaropes são amostras com elevado teor de açúcares e estes por sua vez interferem na interpretação dos sinais no espectro, pois os sinais de açúcares sobrepõem os demais sinais, é necessário extraí-los por meio da extração em fase sólida (SPE), apêndice 5. O Fluxograma das etapas de otimização da rotina laboratorial estão ilustradas na figura 11.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 11 – Fluxograma das etapas das análises para otimização da rotina laboratorial na análise de produtos fitoterápicos



Fonte: próprio autor

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Não foram encontradas substâncias químicas sintéticas ou drogas de abuso nas amostras analisadas pelo espectrômetro de massas FT-ICR MS. No entanto, entre as 12 amostras avaliadas, apenas 4 foi possível elucidar a presença de fragmentos de massa relacionado a substâncias químicas das plantas descritas nos rótulos das embalagens, sendo em sua maioria constituída apenas de açúcares, tendo seu efeito placebo. Este trabalho reforça a importância do controle dos riscos associados a baixa qualidade na produção desses produtos. É necessário que as garrafadas e o xaropes sejam fiscalizadas a fim de assegurar em todas as etapas de produção condições adequadas de higiene. A avaliação microbiológica revelou a presença da bactéria *S. aureus* colagulase negativa em 4 amostras de xaropes “mel com mastruz e leite do Amapá”, “mel com limão e alho”, “tônico dos pulmões” e “xarope de cupim”, tornando-as imprópria para consumo e esse resultado está associado com o valor baixo de pH, que dificulta o crescimento microbiano. O fluxograma de otimização da rotina laboratorial nas análises dos produtos fitoterápicos junto ao Procedimento Operacional Padrão auxilia na redução dos gastos com insumos e equipamentos caros para análise de produtos reprovados em fases preliminares, contribuindo para o fluxo de trabalho e de casos sem um desfecho por falta de recursos com equipamentos. Todos os produtos do estudo eram comercializados no Estado do Amapá e após avaliação, mostraram-se inaptas para a comercialização e consumo. As garrafadas, xaropes caseiros e outras preparações, possuem grande importância cultural em nossa região e por isso merecem atenção. Uma solução para este aspecto regulatório deverá englobar a participação conjunta de políticas governamentais para a coordenar a cadeia de produção e comercialização específica para esses produtos. Os produtos fitoterápicos fabricados de forma caseira, sem o cumprimento das boas práticas de fabricação, podem carrear micro-organismos e consequentemente gerar prejuízos aos seus consumidores, causando toxi-infecções relacionadas a presença de micro-organismos patógenos. Vale ressaltar que todas as plantas descritas em seus rótulos trazem incerteza sobre a sua presença, devido serem produtos de apreensão. Contudo, a negligência sobre esses produtos não garante a segurança e eficácia aos consumidores e ainda, como são produtos que geram renda aos seu

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

fabricantes, por serem “produtos naturais”, são suscetíveis a produções irregulares e charlatanismo.

REFERÊNCIAS

ACO, 44º BPM - ALMENARA – **Homem é preso por estelionato e uma arma é apreendida.** Polícia Militar de Minas Gerais, 15ª Região da Polícia Militar - Teófilo Otoni/MG. 01 de setembro de 2017. Disponível em: <PMMG - 44º BPM - ALMENARA – Homem é preso por estelionato e uma arma é apreendida (policiamilitar.mg.gov.br)> Acesso em 06 fev. 2021.

ABREU, J. Xaropes vendidos em Macapá e apreendidos em operação teriam açúcar e cachaça, diz Vigilância. **G1 Amapá**, Macapá, 11 de agosto de 2017. Disponível em <g1.globo.com/ap/amapa/jornal-do-amapa/videos/v/policia-civil-e-vigilancia-sanitaria-apreendem-xaropes-feitos-com-acucar-e-cachaca/5912279/> Acesso em 29 jun. 2020.

ALLEN JR., L. V; POPOVICH, N. G; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos.** 9. ed. Artmed, 2013.

ANDRADE, N. D.; SILVA, D. M. **Análise dos métodos brix e cromatografia para a determinação de açúcares redutores residuais totais.** Faculdade de Engenharia de Produção, Universidade do Rio Verde, 2016.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada-RDC nº 71, de 22 de dezembro de 2009. **Estabelece regras para a rotulagem de medicamentos.** Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0071_22_12_2009.pdf/84755241-6284-48f9-a446-ec9d34841622> Acesso em 06 fev. 2021.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira.** 2ª edição, 2012. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259372/FNFB+2_Revisao_2_COFAR_setembro_2012_atual.pdf/20eb2969-57a9-46e2-8c3b-6d79dccf0741> Acesso em 06 fev. 2021.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da diretoria colegiada-RDC nº 26, de 13 de maio de 2014.** Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf> Acesso em 16 ago. 2018.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Gram-Positivos: Teste da catalase em tubo.** Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo4/id_sta.htm> Acesso em 12 out. 2019.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Gram-Positivos: Teste da coagulase em tubo.** Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo4/id_sta.htm> Acesso em 12 out. 2019.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Módulo 5: Tecnologias em Serviços de Saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013. Disponível em <<http://www.saude.mt.gov.br/upload/controle-infeccoes/pasta13/modulo5.pdf>> Acesso em 06 ago. 2019.

ARAÚJO, A. S.; ALMEIDA, A. F. **Caracterização fenotípica de bactérias isoladas de peixes e da água em tanques de piscicultura no município de Macapá-Ap entre o período chuvoso e seco**. 2017. 52f. (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal do Amapá, Macapá, Amapá, 2017.

ARAÚJO, R. L. S. **Avaliação genotípica e fenotípica de cepas de *Staphylococcus* ssp. isoladas em hospitais do Distrito Federal no período de 2009 a 2016**. 2019. 69 f. Dissertação (Programa Stricto Sensu em Ciências Genômicas e Biotecnologia) - Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2019.

ASSOCIAÇÃO SUL DE CIENTISTAS FORENSES. 2020 Disponível em <<http://forendex.safs1966.org/index.php/holdings/index>>

BARROS, L.; PEREIRA, E.; CALHELHA, R. C.; DUEÑAS, M.; CARVALHO, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 1732-1740, 2013.

BONANCÊA, C. E. **Estudo dos mecanismos de fotodegradação de corantes sobre dióxido de titânio através de técnicas de espectroscopia Raman intensificadas**. 2005. Dissertação (Mestrado em Físico-Química) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Formulário de fitoterápicos da farmacopeia brasileira**. Brasília: ANVISA, 2011.

BRASIL. **Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990**. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. Disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L8078.htm> Acesso em 10 dez. 2019

BRASIL. Ministério da Saúde. **Lei nº 9.677 de 02 de julho de 1998**. Altera dispositivos do capítulo III do Título VIII do Código Penal, incluindo na classificação dos delitos considerados hediondos crimes contra a saúde pública, e dá outras providências. Brasília, 1998d. Disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9677.htm>. Acesso em: 22 mar. 2018.

REFERÊNCIAS

- BRAZ, P. H.; MELO, T. L.; BRANDÃO, R. S.; PINTO, M. V., GONÇALVES, V. S. Análise microbiológica de preparações medicinais adquiridas em raizeiro na cidade de Sanclerlândia, Goiás. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 8, n. 1, p. 2-10, 2015.
- BRUNO, L. M; QUEIROZ, A. A. M; ANDRADE, A. P. C; VASCONCELOS, N. M; BORGES, M. F. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em Fortaleza (CE). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, 23, p. 75-84, 2005.
- CARVALHO, A. C. B.; LANA, T. N.; PERFEITO, J. P. S.; SILVEIRA, D. The Brazilian market of herbal medicinal products and the impacts of the new legislation on traditional medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 212, p. 29–35, 2018. doi:10.1016/j.jep.2017.09.040
- COSTA, G. M.; Pereira, U. P.; Custódio, D. A. C.; Silva, N. Caracterização de *Staphylococcus coagulase-positiva* utilizando plasmas de diferentes espécies animais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, São Paulo, v. 70, n. 4, 2011.
- DASTJERDI, A. G.; AKHGARI, M.; KAMALI, A.; MOUSAVI, Z. Principal component analysis of synthetic adulterants in herbal supplements advertised as weight loss drugs. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 31, p. 236–241, 2018.
- ELIAS, W. C. **Estudo da Automação e Controle do Grau Brix das Dornas de Fermentação de Uma Destilaria**. 2015. 49f. (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, CORNÉLIO PROCÓPIO, Paraná, 2015.
- EL-ASKARY, H. I.; MOHAMED, S. S.; EL-GOHARI, H. M. A.; EZZAT, S. M.; MESELHY, M. R. Quinic acid derivatives from *Artemisia annua* L. leaves; biological activities and seasonal variation. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 200–208, 2020.
- FERREIRA, A. G. Química forense e técnicas utilizadas em resoluções de crimes. **Acta de Ciências e Saúde**, v. 2, n. 5, 2016.
- FERREIRA, J. A. **Deteção e identificação rápidas dos principais contaminantes microbiológicos em fármacos por espectroscopia de infravermelho**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Farmacêutica) - Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa.
- FERRERA, T. S; HELDWEIN, A. B.; DOS SANTOS, C. O; SOMAVILLA, J. C.; SAUTTER, C. K. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em ervaíras sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v.18, n. 2, supl. I, p.588-596, 2016

REFERÊNCIAS

- FILOCREÃO, A. S. M.; GALINDO, A. G.; SANTOS, T. J. S. Fitoterapia na Amazônia: a experiência do estado do Amapá-Brasil. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 40, p. 399-420, 2017.
- HEMDAN, A.; TAWAKOL, M. S. HPLC–UV Chromatographic Methods for Detection and Quantification of Undeclared Withdrawn Synthetic Medications in Counterfeit Herbal Medicines with Confirmation by HPLC–PDA and Mass Spectrometry. **Springer**, n. 81, p. 777–783, 2018.
- JAN, S.; ABBAS, N. Quality Assurance and Quality Control of Medicinal and Aromatic Herbs. In: **Himalayan Phytochemicals**, SPI Global: India, 2018, p. 217–246.
- KHAN, S. U. H.; KHAN, S. M.; MAJEED, A.; ASHRAF, A.; HABIB, A.; WANI, J. M.; KUMAR, R.; TRIVEDI, R. N. Antimicrobial effect of colloidal argentum colloid on ampicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 7, n. 1, p. 181-183, 2019.
- KIÔ, R. **Passabém: Casal é Preso Pelo Crime de Curandeirismo**. Minas Gerais, 16 de maio de 2018. Disponível em <Passabém: Casal é preso pelo crime de curandeirismo. - RKIO NOTÍCIAS> Acesso em 06 de fev. 2021.
- KOVACS, S.; HAWES, S. E.; MALEY, S. N.; MOSITES, E.; WONG, L.; STERGACHIS, A. Technologies for detecting falsified and substandard drugs in low and middle-income countries. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, 2014.
- LIMA, C. M. S.; FUJISHIMA, M. A. T., LIMA, B. P.; MASTROIANNI, P. C., SOUSA, F. F. O.; SILVA, J. O. Microbial contamination in herbal medicines: a serious health hazard to elderly consumers. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, n. 1, 2020.
- LIU, F.; WAN, S. Y.; JIANG, Z.; LI, S. F. Y.; ONG, E. S.; OSORIO, J. C. C. Determination of pyrrolizidine alkaloids in comfrey by liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. **Talanta**, v. 80, n. 2, p. 916–923, 2009.
- MARCHETI, R. G. A. **Avaliação da falsificação de medicamentos a partir dos dados de laudos periciais do departamento de polícia federal no brasil no período de 2006 a 2012**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, Brasília.
- MENDES, L. A. B.; PAULA, D. S.; GOMES, J. O.; OLIVEIRA, L. G.; MORAIS, M. G.; CORTEZ, E. N.; SILVA, K. O.; OLIVEIRA JÚNIOR, W. V.; BRAZ, W. R. Avaliação da presença de estafilococos coagulase positiva em “queijo minas artesanal” comercializados na microrregião de Bom Despacho-MG. **Conexão Ci.**, Formiga – MG, v. 13, n. 1, p. 18 – 26, 2018.
- MEI, N.; GUO, L.; FU, P. P., FUSCOE, J. C.; LUAN, Y.; CHEN, T. Metabolism,

REFERÊNCIAS

genotoxicity and carcinogenicity of comfrey. **Journal of Toxicology and Environmental Health part B**, v. 13, p. 509–526, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Técnica de Coloração de GRAM**. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/115_03gram.pdf> Acesso em: 17 out. 2019.

MONTEIRO, C.; CREPALDI, R.M.C.; AVELAR, A.F.M.; PETERLINI, M.A.S.; PEDREIRA, M.L.G. Potencial hidrogeniônico de soluções de antibióticos submetidas a condições ambientais: ensaio preliminar. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 46, n. 2, p. 311-319, 2012.

MONTEIRO, M.A.A; VAZ, E. L. S; SAMAPAI, M. M; CODARO, E. N; ACCIARI, H. A. Determinação de sacarose no xarope artificial de groselha por medidas de viscosidade: Uma abordagem interdisciplinar. **Caderno Brasileiro de Ensino de Física**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 566-578, 2013.

NAFIU, M. O.; HAMID, A. A.; MURITALA, H. F.; ADEYEMI, S. B. Preparation, Standardization, and Quality Control of Medicinal Plants in Africa. In: **Medicinal Spices and Vegetables from Africa**, Camarões: Academic Press, p. 171–204, 2017.

OLIVEIRA, L. S.; ROSSATO, L. G.; BERTOL, C. D. Análise da contaminação microbiológica de diferentes dentífricos. **Revista de Odontologia da UNESP**, n. 45, v. 2, p. 85-89, 2016.

PASSOS, M. M. B.; ALBINO, R. C.; SILVA, M. F.; OLIVEIRA, D. R. A disseminação cultural das garrafadas no Brasil: um paralelo entre medicina popular e legislação sanitária. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 116, p. 248-262, 2018.

PEREIRA, C. R. **Chás e garrafadas sem registro não podem ser vendidos como medicamento**. Rondônia, 07 de maio de 2018. Disponível em <Vigilância em Saúde - Chás e garrafadas sem registro não podem ser vendidos como medicamento - Governo do Estado de Rondônia (rondonia.ro.gov.br)> Acesso em 06 fev. 2021.

PEREIRA, R. E. P; PETRECHEN, G. G. Principais métodos diagnósticos bacterianos – revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. n. 16, p. 1-12, 2011

PETROVICK, G. F.; PETROVICK, P. R.; TEIXEIRA, H. F. Estabelecimento de roteiro para adequação a critérios de qualidade da rotulagem de medicamentos industrializados. **Infarma**, v. 15, n. 7/8, p. 73-80, 2003

PINTO, S. C. G; BUENO, F. G.; PANIZZON, G. P.; MORAIS, G., DOS SANTOS, P. V. P.; BAESSO, M. L.; LEITE-MELLO, E. V. S.; DE MELLO, J. C. P. *Stryphnodendron adstringens*: Clarifying Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Planta Medica**, v. 81, p. 1090–1096, 2015.

REFERÊNCIAS

- POMBAL, R.; BARATA, P.; OLIVEIRA, R. Estabilidade dos medicamentos manipulados. **Revista Faculdade de Ciências da Saúde**, n. 7, p. 330-341, 2010.
- PONTES, P. S.; COUTINHO, S. D. A.; IOVINE, R. DE O.; CUNHA, M. P. V.; KNÖBL, T.; CARVALHO, V. M. Survey on pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in captive cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 415, p. 01-07, 2018.
- REDONDO, W. **Descoberta Em Caxias Fábrica Que Produzia Remédios Falsificados**. Blog William Redondo. Maranhão, 27 de outubro de 2019. Disponível em: <Jornalismo com seriedade: DESCOBERTA EM CAXIAS FÁBRICA QUE PRODUZIA REMÉDIOS FALSIFICADOS (willianredondo.blogspot.com)> Acesso em 06 fev. 2021.
- RODRIGUES, A. P. F.; BARBOSA, M. E. O.; KOBAYASHI, N. H. C.; FARIAS, S. V.; BARBOSA, I. C. C.; SOUZA, E. C.; SILVA, A. S. **Caracterização físico-química de xarope de cupim**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2018, São Luiz. Disponível em < <http://www.abq.org.br/cbq/2018/trabalhos/7/855-26342.html> > Acesso em 02 dez. 2019.
- SILVA, C. M.; BOLZAN, A. A.; HEINZMANN, B. M. Alcalóides pirrolizidínicos em espécies do gênero Senecio. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 1047-1053, 2006.
- SILVA, C. O.; REIS, M. E. S.; SANTANA, K. F. P.; MAESTRI, F. P.; SAATKAMP, C. J.; MAESTRI, R. P. Avaliação do potencial cariogênico de anti-histamínicos de uso pediátrico. **Eletronic Journal of Pharmacy**, v. 12, n. 3, p. 15-22, 2015
- SILVA, R. P. P.; SANTOS, R.B.; GIMENIS, C.; GEMEINDER, A. C. S.; GEMEINDER, J.L.P. **Avaliação Físico - Química de Xarope Fitoterápico Industrializado**. 2016. Disponível em <https://cic.unifio.edu.br/anaisCIC/anais2016/pdf/09_18.pdf> Acesso em 29 jun. 2020.
- SILVA, B. R.; LIMA, I. O.; CARMO, E. S.; SOUZA, J. B. P. Avaliação microbiológica de Lambedores. **Revista Saúde e Ciência**, v. 5, n. 1, p. 5-22, 2016.
- SIMIRGIOTIS, M.; BENITES, J.; ARECHE, C.; SEPÚLVEDA, B. Antioxidant Capacities and Analysis of Phenolic Compounds in Three Endemic Nolana Species by HPLC-PDA-ESI-MS. **Molecules**, 20(6), p. 11490–11507, 2015.
- THOMPSON, J. E.; DAVIDOW, L. W. **A Prática Farmacêutica na Manipulação de Medicamentos**. 3ª ed. Porto Alegre, Artmed Editora, 2013.
- TOSATO, F. **Aplicação da Espectrometria de Massas Ambiente por Paper Spray Ionization na Identificação e Quantificação de Cocaína e no Controle de Qualidade de Bebidas**. 2016. 75 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de pós-graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2016.

REFERÊNCIAS

WILLIAMS, S.; MARKEY, P.; HARLOCK, M.; BINNS, P.; GAGGIN, J.; PATEL, M. Individual and household-level risk factors for sporadic salmonellosis in children. **Journal of Infection**, n. 72, v. 1, p. 36–44, 2015.

YANG, Y.; DENG, J. Analysis Of Pharmaceutical Products And Herbal Medicines Using Ambient Mass Spectrometry. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, n. 82, p. 68–88, 2016. DOI:10.1016/J.TRAC.2016.04.011

VAN ROOYEN, R. M.; PRETORIUS, B.; TEMBANI, N. M.; HAM-BALOYI, W. T. Evidence-based Recommendations To Facilitate Professional Collaboration Between Allopathic And Traditional Health Practitioners. **Health Sa Ge Sondheim**, n. 22, p. 291-299, 2017.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Avaliação do rótulo


APÊNDICE 2 – Coloração de Gram

APÊNDICE 3 – Teste da catalase em tubo

APÊNDICE 4 – Teste da coagulase em tubo

APÊNDICE 5 – Extração em fase sólida (SPE) de

amostras contendo açúcares

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	EDIÇÃO: 1º
		DATA: 12/10/2019
	AVALIAÇÃO DO RÓTULO	PÁGINA 1 – 1

Objetivo:

Verificar a presença de informações que são necessárias na rotulagem dos produtos fitoterápicos.

Materiais:

- Produtos fitoterápicos;

Procedimento:

- Analisar se os produtos contêm as seguintes informações:
- Nome do produto; Fabricação; Validade; Lote; CNPJ; Laboratório; Farmacêutico responsável; CRF; Número de registro; Quantidade de princípio ativo; Número de SAC.

Interpretação:


- Os produtos que apresentam todas as informações acima mencionada apresentam rotulagem completa.
- Produtos com ausência de alguma dessas informações apresentam falhas de rotulagem.

Observação:



Referências:

1. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da diretoria colegiada-RDC nº 26, de 13 de maio de 2014.** Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf> Acesso em 16 ago. 2018..
2. PETROVICK, G. F.; PETROVICK, P. R.; TEIXEIRA, H. F. Estabelecimento de roteiro para adequação a critérios de qualidade da rotulagem de medicamentos industrializados. **Infarma**, v. 15, n. 7/8, p. 73-80, 2003

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	EDIÇÃO: 1º
		DATA: 12/10/2019
	COLORAÇÃO DE GRAM	PÁGINA 1 – 1

Objetivo:

Corar lâminas de esfregaço microbiológico para diferenciação de bactérias Gram positiva e Gram negativa. A permeabilidade da parede celular bacteriana a diferentes corantes utilizados nas etapas do método classifica a bactéria como Gram positivas ou Gram negativas.

Materiais:

- Água
- Alça bacteriológica
- Álcool Lâmina
- Microscópio ótico
- Lugol
- Óleo de imersão
- Fucsina
- Solução Salina
- Violeta de genciana

Procedimento:


- Prepare o esfregaço de células bacterianas com solução salina;
- Cubra o esfregaço com violeta genciana e deixe por aproximadamente 15 segundos;
- Adicione igual quantidade de água sobre a lâmina coberta com violeta genciana e deixe agir por mais 45 segundos;
- Escorra o corante e lave em um filete de água corrente;
- Cubra a lâmina com lugol diluído (1/20) e deixe agir por aproximadamente 1 minuto;
- Escorra o lugol e lave em um filete de água corrente;
- Adicione álcool etílico (99,5º GL) sobre a lâmina; descorando-a, até que não desprenda mais corante;
- Lave em um filete de água corrente;
- Cubra a lâmina com o safranina e deixe agir por aproximadamente 30 segundos;
- Lave em um filete de água corrente;
- Deixe secar ao ar livre, ou se preferir seque suavemente com o auxílio de um papel de filtro limpo;
- Colocar uma gota do óleo de imersão na lâmina;
- Fazer leitura da lâmina em microscópio ótico em objetiva de 100x.

Interpretação:

As bactérias Gram negativas têm maiores quantidades de lipídeos em sua parede celular, com isso, elas possuem menos permeabilidade aos solventes orgânicos e, por isso não retêm o corante violeta de genciana, sua visualização no microscópio é vermelho-rosa. Já as bactérias Gram positivas ao microscópio ficam com a coloração roxa devido a sua parede celular ser menos permeável a solventes orgânicos, elas retêm o corante violeta de genciana.

Referências:

1. PEREIRA, R. E. P; PETRECHEN, G. G. Principais métodos diagnósticos bacterianos – revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. n. 16, p. 1-12, 2011.
2. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Técnica de Coloração de GRAM**. Disponível em <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/115_03gram.pdf> Acesso em 17 out. 2019.

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	EDIÇÃO: 1º
		DATA: 12/10/2019
	TESTE DA CATALASE EM TUBO	PÁGINA 1 – 1

Objetivo:

Verificar a presença da enzima catalase que decompõe H_2O_2 em água e O_2 e, desta forma, distinguir os grupos estafilococos e estreptococos.

Materiais:

- Alça bacteriológica
- Pipetas
- Lâminas
- Solução de H_2O_2
- Caldo de cultura ou colônia de micro-organismos

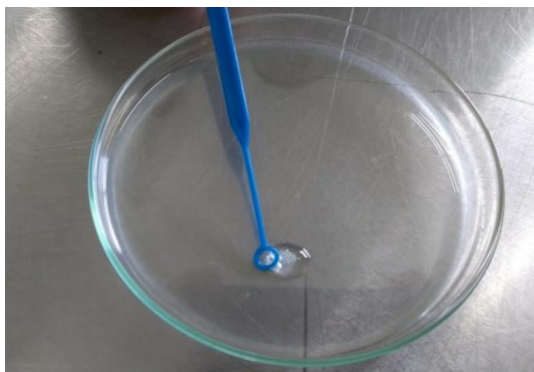
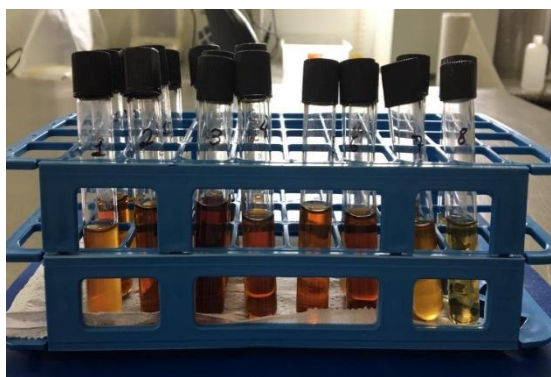
Procedimento:

- Com alça bacteriológica, retirar uma colônia do meio de cultura;
- Colocar a colônia sobre uma lâmina de vidro;
- Adicionar uma gota de H_2O_2 a 3%;
- Observar a reação.

Interpretação:


- Formação de bolhas indica ser a família *Micrococcaceae* (Ex.: *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Planococcus* spp., *Stomatococcus* spp.);
- Sem formação de bolhas indica ser a família *Streptococcaceae* (Ex.: *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Aerococcus* spp., *Gemella* spp., *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp.).

Observação:



Referências:

1. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Gram-Positivos: Teste da catalase em tubo.** Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo4/id_sta.htm Acesso em 12 out. 2019.

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	EDIÇÃO: 1º
		DATA: 12/10/2019
	TESTE DA COAGULASE EM TUBO	PÁGINA 1 – 1

Objetivo:

Verificar se o micro-organismo possui a coagulase (ou fator aglutinante) livre e ligada, que, reagindo com um fator plasmático, forma um complexo que atua no fibrinogênio do plasma formando a fibrina. A atividade da coagulase é utilizada para distinguir espécies patogênicas de *Staphylococcus* de espécies não patogênicas, sendo um bom indicador da patogenicidade do *S. aureus*.

Materiais:

- Tubos de ensaio
- Pipetas
- Estufa
- Alça bacteriológica
- Caldo de cultura ou colônia
- Plasma sanguíneo (coelho ou humano)

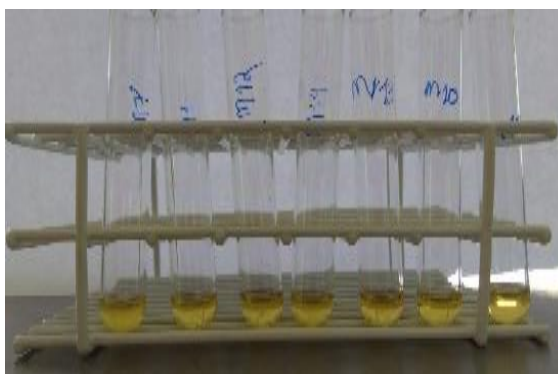
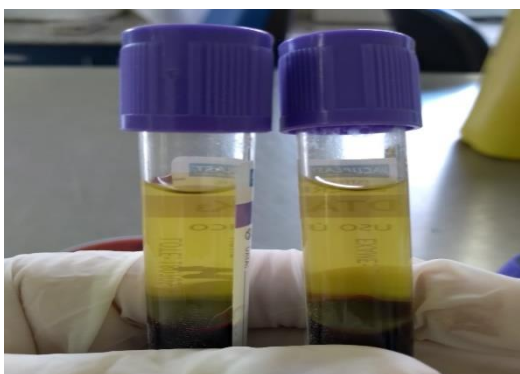
Procedimento:

- Colocar 0,5 mL de plasma em tubo de ensaio;
- Adicionar uma alçada de colônia diretamente no plasma de coelho ou humano com EDTA;
- Incubar por 4 h a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa ou banho-maria; caso não haja formação de coágulo, incubar por 24 h.

Interpretação:


- A formação de coágulos às 4h, às 6h ou às 24h de incubação é interpretada como uma prova positiva. A ausência de coagulação após 24 horas de incubação é uma prova negativa.

Observação: Caso não ocorra coagulação após 4h na estufa ou banho-maria, continuar a incubação e fazer novas leituras após 6h e 24h.



Referências:

1. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Gram-Positivos: Teste da coagulase em tubo.** Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo4/id_sta.htm Acesso em 12 out. 2019.

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	EDIÇÃO: 1º
		DATA: 12/10/2019
	EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE) DE AMOSTRAS CONTENDO AÇÚCARES	PÁGINA 1 – 1

Objetivo:

Extração de açúcares em amostras de xarope e garrafadas pela técnica de extração em fase sólida SPE para obtenção de 4 frações.

Materiais:

- Água destilada
- Agulha pra SPE
- Bomba de vácuo
- Cartucho de SPE
- Manifold
- Metanol
- Micropipetas / Pipetas
- Tubo de vials

Procedimento:

- Ativar o cartucho com 5mL de metanol, em seguida complete com mais 5mL de água destilada;
- Colete cada fração, preferencialmente, em tubos de vials;
- 1ª fração → acrescente 5mL da amostra;
- 2ª fração → acrescente 5mL de H₂O destilada;
- 3ª fração → acrescente 2mL da proporção H₂O:MeOH (75:25);
- 4ª fração → acrescente 2mL de metanol.

Referências:

1. TOSATO, F. **Aplicação da Espectrometria de Massas Ambiente por Paper Spray Ionization na Identificação e Quantificação de Cocaína e no Controle de Qualidade de Bebidas**. 2016. 75 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de pós-graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2016.