

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Mariana Lamas Accampora

**CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DE MEDICAMENTOS  
HOMEOPÁTICOS INDUSTRIAIS E MANIPULADOS PARA O TRATAMENTO DA  
ASMA COMERCIALIZADOS EM FARMÁCIAS DO RIO DE JANEIRO**

Rio de Janeiro

2015

Mariana Lamas Accampora

**CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DE MEDICAMENTOS  
HOMEOPÁTICOS INDUSTRIAIS E MANIPULADOS PARA O TRATAMENTO DA  
ASMA COMERCIALIZADOS EM FARMÁCIAS DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Victor Augustus Marin

Rio de Janeiro

2015

Catálogo na fonte  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
Biblioteca

Accampora, Mariana Lamas

Controle de qualidade microbiológico de medicamentos homeopáticos industriais e manipulados para o tratamento da asma comercializados em farmácias do Rio de Janeiro / Mariana Lamas Accampora. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ,2015.

102 f., il.

Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2015.

Orientadoras: Victor Augustus Marin

1. Medicamento Homeopático. 2. Contaminação de Medicamentos 3. Técnicas Microbiológicas. 4. Controle de Qualidade. I.Título.

Microbiological quality control of industrial and compounded homeopathic drugs used in the treatment of asthma commercialized in Rio de Janeiro.

Mariana Lamas Accampora

**CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DE MEDICAMENTOS  
HOMEOPÁTICOS INDUSTRIAIS E MANIPULADOS PARA O TRATAMENTO DA  
ASMA COMERCIALIZADOS EM FARMÁCIAS DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária

Aprovado em 26/03/2015

**BANCA EXAMINADORA**

---

Helena Pereira da Silva Zamith (Doutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Luciana de Sousa Lopes (Doutor)  
Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia

---

Shirley de Mello Pereira Abrantes (Doutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Victor Augustus Marin (Doutor) - Orientador  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

## AGRADECIMENTOS

- À minha mãe Cristina, meu exemplo de vida, amiga e companheira, que está sempre me ajudando e aconselhando, oferecendo todo o apoio que preciso, e me dando ensinamentos para a vida com muito amor, carinho e dedicação. Obrigada por ter me apoiado por toda a vida em todas as minhas escolhas, me mostrando sempre o melhor caminho a seguir e não me deixando em hipótese alguma desistir, sem você definitivamente não teria chegado até aqui.
- Ao meu pai, Cláudio, pelo incentivo, apoio e paciência para que eu sempre superasse meus obstáculos com coragem, descobrindo meus limites para que assim pudesse trilhar minha carreira profissional e galgasse os degraus de mais uma etapa da minha vida.
- À minha grande amiga Nataly Cossatis, que me acompanha desde o ensino médio, que sempre esteve ao meu lado não importando a distância e o pouco tempo em certas épocas de nossas vidas. Você para mim não é só uma amiga, é a irmã que sempre quis ter, uma “mãe” em diversos aspectos, uma das pessoas mais importantes e especiais da minha vida e que tenho certeza de que estará comigo sempre, não importa onde a vida nos leve.
- À minha grande e querida amiga Camila Bastos, que me acompanha desde a faculdade, e se tornou uma das minhas melhores amigas. Nestes mais de 3 anos de amizade pude ver a pessoa incrível e especial que você é. Tão diferente de mim e ao mesmo tempo tão parecida, aos poucos se tornou uma amiga essencial na minha vida, me apoiando em momentos difíceis, me aconselhando, me incentivando e dando forças para eu alcançar meus objetivos. Obrigada por tudo!
- À minha grande e dedicada amiga Andreia Paredes, que ao longo destes mais de 4 anos de amizade se tornou uma amiga incomparável! Apesar da distância, sempre soube me oferecer um ombro amigo quando tanto tive dúvidas para realizar este feito e em muitos outros momentos importantes da minha vida, obrigada por estar ao meu lado sempre, mesmo de longe.
- Ao meu namorado Rodrigo Macario, que teve a difícil tarefa de me aturar nos meus muitos momentos de desespero nesses dois anos, me acalmando, me fazendo ver que eu era capaz, e me mostrando que o meu sucesso nessa etapa da minha vida só dependia da minha força de vontade. Sem você ao meu lado não teria conseguido! Obrigada por ser essa pessoa incrível que ficou ao meu lado nos momentos mais difíceis com toda a paciência do mundo!
- Ao meu querido amigo Ivson, que apesar do pouco tempo de amizade me ajudou muito na fase final do meu trabalho, me apoiando, incentivando e me aturando nos meus dias de desespero em que achei que não iria conseguir.
- Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz pela oportunidade de realizar este mestrado, aprimorando meus estudos e incrementando minha qualificação profissional e acadêmica.

- Ao meu orientador Prof. Dr. Victor Augustus Marin pela sua orientação, profissionalismo, compreensão com os problemas que apareceram durante esses dois anos e pelos ensinamentos importantes que levarei para a minha vida e que contribuíram muito para minha formação acadêmica.
- Às minha co-orientadoras e amigas, Joana Barbosa e Hilda Nóbrega, que me ensinaram toda a parte prática do meu projeto e me ajudaram diariamente em todas as minhas dificuldades. Muito obrigada por tudo que fizeram por mim, por me apoiarem, me incentivarem e me ensinarem tudo que aprendi neste pouco tempo que fiquei com vocês.
- Às Professoras Dra. Helena Pereira da Silva Zamith, Dra. Luciana de Souza Lopes e Dra. Shirley de Mello Pereira Abrantes, por aceitarem fazer parte da minha banca de defesa, e contribuírem tão positivamente e enriquecedoramente com o meu trabalho.
- Aos docentes que ministraram todas as aulas do meu mestrado, contribuindo de forma significativa para minha formação como mestre em Vigilância Sanitária e a todos da coordenação e secretaria de Pós-graduação do INCQS.
- A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela prestação financeira para a viabilização do projeto e pelo financiamento de minha bolsa de mestrado.

We learned in the last fifty years that not only do we exist in the Universe, but it is the

Universe itself that exists within us

Neil deGrasse Tyson

## RESUMO

Introduzida no Brasil no ano de 1840, a homeopatia vem conquistando cada vez mais adeptos ao longo dos anos. Apesar das controvérsias relacionadas à eficácia deste tipo de tratamento, suas vantagens como: possibilidade de tratamento de diversas condições patológicas com um medicamento único, poucos efeitos colaterais associados ao uso do medicamento, custo inferior aos alopáticos, inúmeros relatos de satisfação de seus usuários, entre outros, levam esta prática a continuar se difundindo pela população. A procura pela homeopatia tem sido observada em maiores proporções para o tratamento de problemas respiratórios, dentre os principais a asma e a bronquite. Contudo, a maioria dos medicamentos homeopáticos são produzidos em farmácias de manipulação, estabelecimentos onde vários estudos apontam falhas em diversos estágios do processo de produção. Apesar da Farmacopeia Homeopática Brasileira e da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 67 estabelecerem diversos parâmetros de qualidade a serem seguidos, o controle de qualidade dos produtos finais ainda é precário devido ao alto custo financeiro para a implantação de todos os parâmetros requisitados. Um dos problemas mais encontrados é a contaminação microbiana presente no produto final, que pode ter se originado em diversos pontos da produção, desde a matéria prima até a manipulação, embalagem, armazenamento e transporte desses produtos. Embora existam estudos indicando a contaminação microbiana em produtos manipulados, estudos sobre o controle da qualidade de medicamentos homeopáticos são escassos. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar a qualidade microbiológica de um medicamento homeopático utilizado no tratamento da asma, produzido por uma indústria farmacêutica e cuja formulação foi reproduzida em quatro farmácias de manipulação diferentes, para que além de verificar a qualidade destes produtos, pudesse ser comparada a qualidade do medicamento obtido de ambos tipos de estabelecimentos. Os limites utilizados para a avaliação dos resultados foram os preconizados pela Farmacopeia Brasileira de 2010. Foram analisadas 50 amostras do medicamento (10 oriundas de uma indústria farmacêutica e 10 oriundas de 4 farmácias de manipulação) quanto à sua capacidade inibitória, quantidade de microrganismos viáveis totais e presença de patógenos. Foi observado um índice de reprovação total (ambos os estabelecimentos) de 50%, sendo 34% reprovadas apenas no teste de contagem de microrganismos viáveis totais, 48% pela presença de bactérias Gram-negativas bile tolerantes acima do limite permitido e 38% pela presença de algum patógeno. Os patógenos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp. e *Candida albicans* foram encontrados nas amostras. Os resultados apresentam uma diferença de 18,75% a mais no total de reprovação dos medicamentos de farmácias de manipulação. Os produtos de ambos os tipos de estabelecimentos apresentaram alto nível de contaminação, indicando a necessidade da implementação de um maior controle de qualidade microbiológico nestes estabelecimentos, visto que seus produtos serão administrados a consumidores já debilitados por alguma patologia, podendo desenvolver um quadro infeccioso grave.

Palavras chave: qualidade microbiológica, medicamento homeopático, medicamento manipulado, contaminação microbiana, controle de qualidade.

## ABSTRACT

Introduced in Brazil in 1840, homeopathy is gaining more and more followers over the years. Despite the controversies related to the effectiveness of this type of treatment, its advantages as: the possibility of treating various pathological conditions with a single drug, a few side effects associated with use of the drug, lower cost to allopathic, numerous reports of satisfaction of its members, among others lead this practice to continue spreading among the population. The demand for homeopathy has been observed in higher proportions for the treatment of respiratory problems, among main asthma and bronchitis. However, most homeopathic medicines are produced in compounding pharmacies, establishments where several studies point out flaws in various stages of the production process. Despite the Brazilian Homeopathic Pharmacopoeia and the Collegiate Board Resolution (RDC) N° 67 establish various quality parameters to be followed, the quality control of final products is still precarious due to the high financial cost for the implementation of all required parameters. One of these problems is the presence of microbial contamination in the final product. It may have originated in several parts of production, from raw materials due handling, packaging, storage and transport of these products. Although there are studies indicating microbial contamination in compounded products, studies on the quality control of homeopathic medicines are scarce. Therefore, this study aimed to analyze the microbiological quality of a homeopathic medicine for the treatment of asthma produced by a pharmaceutical company. This formulation was reproduced in four different compounding pharmacies. In addition, the original homeopathic medicine quality was compared from those obtained from the compounding pharmacies. The limits used for the evaluation of the results were those recommended by the Brazilian Pharmacopoeia of 2010. We analyzed 50 samples of the drug (10 coming from a pharmaceutical company and 10 originating from 4 compounding pharmacies) for their inhibitory capacity, number of total viable counts of microorganisms and the presence of pathogens. A total failure rate of 50% was observed (both establishments), 34% disapproved only on total viable microorganisms count test, 48% by presence of bile tolerant Gram negative bacteria above the allowed limit and 38% by the presence of some pathogen. The pathogens *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp. and *Candida albicans* were found in the samples. The results show a difference of 18.75% over the total disapproval of drug compounding pharmacies. The products of both types of establishments had high levels of contamination, indicating the need to implement greater control of microbiological quality in these establishments, since their products will be administered to consumers already weakened by some disease, which may lead the development of a serious infectious condition.

Keywords: microbiological quality, homeopathic medicine, compounded drugs, microbial contamination, quality control

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Microorganismos de referência utilizados.	<b>56</b>
<b>Tabela 2</b>	Limites microbianos para produtos não estéreis.	<b>59</b>
<b>Tabela 3</b>	Interpretação dos resultados do teste quantitativo para bactérias Gram-negativas bile tolerantes.	<b>60</b>
<b>Tabela 4</b>	Resultados apresentados na contagem de bactérias aeróbias, bolores e leveduras, patógenos identificados e presença de GNBT, nas 50 amostras testadas, oriundas de um laboratório farmacêutico (10 amostras) e 4 farmácias de manipulação (10 amostras de cada).	<b>76</b>
<b>Tabela 5</b>	Conclusão dos resultados de cada teste realizado nas 50 amostras testadas oriundas de um laboratório farmacêutico (10 amostras) e 4 farmácias de manipulação (10 amostras de cada).	<b>79</b>
<b>Tabela 6</b>	Percentual de reprovações em cada teste, reprovação geral em cada estabelecimento e reprovação total das cinquenta amostras testadas dos cinco estabelecimentos.	<b>81</b>

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b>	Percentual de reprovação em todos os testes realizados para as 10 amostras do laboratório farmacêutico A) e para as 10 amostras de cada farmácia de manipulação (B, C, D e E).	<b>74</b>
<b>Gráfico 2</b>	Incidência dos patógenos e GNBT no total de amostras.	<b>75</b>
<b>Gráfico 3</b>	Comparação do percentual de reprovação total e em cada teste, entre as 10 amostras do medicamento industrial e a média aritmética das 40 amostras referentes às 4 farmácias de manipulação.	<b>75</b>

## LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
a.C	Antes de Cristo
AMHB	Associação Médica Homeopática Brasileira
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BGN	Bacilos Gram-negativos
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPM	Boas Práticas de Manipulação
CHs	Centesimais Hahnemannianas
EAEC	<i>E. coli</i> Enteroagregativa
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
EHEC	<i>E. coli</i> Enterohemorrágica
EIEC	<i>E. coli</i> Enteroinvasiva
BEM	Eosina azul de metileno
EPEC	<i>E. coli</i> Enteropatogênica
ETEC	<i>E. coli</i> Enterotoxigênica
ExPEC	<i>Extraintestinal Pathogenic E. coli</i>
GNBT	Gram-negativo bile tolerante
IN	Instrução Normativa
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
KOH	Hidróxido de Potássio
LPS	Lipopolissacarídeos
LT	Termolábil
MAC	Medicinas Alternativas e Complementares

MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> multirresistentes
MT	Medicinas Tradicionais
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i>
PIC	Práticas Integrativas e Complementares
PNMNPC	Política Nacional de Medicina Natural e Práticas Complementares
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS
POP	Procedimento Operacional Padronizado
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RE	Resolução Específica
SHU	Síndrome Hemolítica Urêmica
ST	Termoestável
Stx	Toxina Shiga
SUS	Sistema Único de Saúde
TSA	Agar Trypticaseína de Soja
UFC	Unidade Formadora de Colônia
XLD	Agar Xilose Lisina Desoxicolato

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
1.1 HISTÓRICO DA HOMEOPATIA.....	14
1.1.2 A medicina Hipocrática.....	14
1.1.3 A homeopatia segundo Hahnemann.....	16
1.1.4 Princípios básicos da homeopatia .....	17
1.2 O MEDICAMENTO HOMEOPÁTICO .....	19
1.3 A HOMEOPATIA NO BRASIL.....	20
1.4 REGULAÇÃO DE MEDICAMENTOS DINAMIZADOS NO BRASIL.....	21
1.5 A INSERÇÃO DA HOMEOPATIA NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS).....	24
1.6 PORQUE OPTAR POR UM TRATAMENTO ALTERNATIVO? .....	29
1.6.1 Usos clínicos da homeopatia. ....	31
1.6.2 Questionamentos com relação à homeopatia. ....	33
1.7 ESCOLHA E COMPOSIÇÃO DO MEDICAMENTO DO ESTUDO.....	36
1.8 QUALIDADE DAS FORMULAÇÕES MANIPULADAS.....	38
1.9 PATÓGENOS PESQUISADOS .....	43
<b>2 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>52</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>53</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	53
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	53
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>54</b>
4.1 MANIPULAÇÃO E PREPARO DA AMOSTRA.....	54
4.2 VERIFICAÇÃO DA CAPACIDADE INIBITÓRIA .....	55
4.3 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS VIÁVEIS TOTAIS .....	57
4.4 PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE PATÓGENOS.....	60
4.4.1 Bactérias Gram-negativas bile tolerantes (GNBT) .....	60
4.4.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	61

4.4.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	63
4.4.4 <i>Salmonella</i> sp. ....	65
4.4.5 <i>Escherichia coli</i> .....	66
4.4.6 <i>Candida albicans</i> .....	69
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>71</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>82</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>92</b>
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>93</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 HISTÓRICO DA HOMEOPATIA

Atos isolados de um único indivíduo nunca foram suficientes para levar à evolução de qualquer ramo da ciência. Apesar de inúmeras descobertas serem conferidas ao pesquisador principal envolvido no desfecho de uma inovação, decerto este estava embasado em diversos conhecimentos científicos anteriores, que possibilitaram à chegada até o grande momento da descoberta de uma inovação científica (CORRÊA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997). Com a homeopatia não poderia ser diferente. Baseada em diversos conceitos anteriores e tendo como o principal deles a “Lei dos Semelhantes”, a homeopatia foi instituída e fundamentada apenas em 1796 pelo médico alemão Samuel Hahnemann, considerado criador da terapêutica homeopática (BRASIL, 2011). Porém, a menção mais antiga que se tem conhecimento, trata-se de um papiro de 1500 a.C, onde foram encontrados registros de tratamentos de enfermidades através do conceito de que o semelhante cure-se pelo semelhante (CORRÊA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997).

### 1.1.2 A medicina Hipocrática

Os princípios teóricos da prática homeopática começaram a ser melhor observados na Escola de Cós na Grécia Antiga (Século V a.C), a qual Hipócrates era líder. A obra de Hipócrates foi um marco na prática médica da época, que até então só fazia uso de procedimentos “esotéricos” e “místicos” para tratar qualquer problema de saúde, e por isso era considerado o Pai da Medicina (SIQUEIRA-BATISTA, 2003; CORRÊA et al., 2006). A medicina hipocrática, como passou a ser conhecida, se consolidava no método de observação dos sintomas do enfermo. Coletavam informações como o histórico dos sintomas apresentados, e pelo exame do corpo, utilizavam apenas a visão, audição, olfato, tato e o paladar, que juntos permitiam uma análise final do quadro do paciente, tornando possível a elaboração de um diagnóstico e até de um prognóstico do problema. Assim, com muita observação e experiência neste tipo de tratamento foi moldado o método hipocrático (SIQUEIRA-BATISTA, 2004; CORRÊA et al., 2006).

Hipócrates acreditava que o corpo humano era formado por sangue, flegma (secreção mucosa), bile amarela e bile negra (procedentes do coração, sistema respiratório, fígado e

baço, respectivamente) e que estes devem se manter em equilíbrio para que se perpetue a condição denominada de saúde. Quando houvesse um predomínio de um desses elementos (denominados de humores) em algum local do corpo, o processo patológico teria início levando o indivíduo ao adoecimento. Porém, a maioria dos médicos da época acreditavam que esta descompensação dos *humores* deveria ser reestabelecida pelo próprio organismo, que entraria novamente em harmonia, eliminando a doença (CORRÊA et al., 2006). Este princípio passou a ser conhecido como *Natura Medicatrix* (cura pela natureza) e acreditava que o próprio organismo, quando estimulado com substâncias que iam de acordo com a natureza dos sintomas apresentados, reconduzia o enfermo ao estado de equilíbrio (homeostase) perfeito, eliminando a doença. Isto era feito utilizando substâncias medicamentosas como catalisadores para estimular o organismo a começar seu próprio processo de cura (BREUNER, 2002; CORRÊA et al., 2006).

Além deste princípio, outros dois também faziam parte da terapêutica hipocrática: *Contraria Contrariis Curantur*, conhecida como “Lei dos Contrários”, em que o tratamento dos sintomas era feito por meio de substâncias medicamentosas que tinham um efeito contrário aos sintomas, ou seja, a dor seria aliviada com o uso de substâncias sedativas, sem se preocupar com a origem da dor. E por último a *Similia Similibus Curantur*, semelhante cura-se pelo semelhante ou “Lei dos Semelhantes”, onde se acreditava que a doença poderia ser interrompida com a administração de substâncias que causavam os mesmos tipos de sintomas que a doença. Hipócrates acreditava que todos estes conceitos eram eficazes no tratamento das enfermidades e que um não se opunha ao outro, mas se complementavam (CORRÊA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997; BREUNER, 2002; CORRÊA et al., 2006).

Galeno (Século II a.C), médico e filósofo grego, acreditava na prática médica pela “Lei dos contrários” isoladamente, tornando o tratamento mais humanístico e menos simplista. Sua doutrina prevaleceu por aproximadamente 1550 anos, corroborada posteriormente por Avicena (Século XIII d.C), médico considerado um dos maiores sábios do Irã e um dos maiores difusores das obras de Galeno. Neste ponto, os conceitos de Hipócrates já estavam fragmentados entre os que acreditavam na “Lei dos Contrários” ou na “Lei dos Semelhantes”, e no século XVI, a maioria das faculdades de medicina e dos médicos ensinavam e praticavam a “Lei dos Contrários”. Isso perdurou até o momento em que revolucionários como Paracelso, voltaram a apresentar uma visão totalmente oposta à que era utilizada, onde visava muito mais o ser humano como um todo que precisava estar em harmonia, já dando início ao conceito de que existia uma força “invisível” *anima* (que na

homeopatia atual é chamada de força vital) que era capaz de manter o organismo em funcionamento pleno (CORRÊA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997; CORRÊA et al., 2006).

Todos estes conceitos, desenvolvidos ao longo do tempo, serviram como base teórica para o surgimento da prática da homeopatia como é vista hoje, segundo os conceitos definidos por Samuel Hahnemann (CORRÊA et al., 2006).

### 1.1.3 A homeopatia segundo Hahnemann

Christian Frederich Samuel Hahnemann se formou em medicina na Alemanha, seu país de origem, em 1779, passando a exercer a clínica médica por alguns anos. Desiludido com os resultados obtidos com a prática da medicina convencional, que muitas vezes não conseguia curar seus pacientes ou que ele acreditava que o tratamento era mais perigoso que a própria doença, desistiu da prática de clínica médica. Passou então a dedicar sua vida à sua nova carreira de tradutor de livros médicos, como forma de obter seu sustento, visto que também havia sido treinado como linguista, historiador médico e químico. Na tradução de um desses livros, chamado *Matéria Médica* de William Cullen, ficou curioso com as explicações sobre os efeitos terapêuticos da *China Officinales* (quina), uma planta que era descrita como um possível tratamento para a malária (CORRÊA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997; BREUNER, 2002; CORRÊA et al., 2006; BRASIL, 2011; ERLEWYN-LAJEUNESSE, 2012).

Ao notar que os sintomas de intoxicação pela Quina foram semelhantes aos desenvolvidos por pacientes com malária, Hahnemann recordou de um dos conceitos da medicina hipocrática e posteriormente de Paracelso, sobre a possibilidade de se tratar as doenças com substâncias que causam sintomas semelhantes aos da própria doença - *Similia Similibus Curantur* (BREUNER, 2002). Decidiu então testar a quina em si mesmo e registrar os sintomas desenvolvidos, que como esperado, foram semelhantes aos sintomas de pacientes com malária. Entusiasmado com o resultado e embasado na filosofia hipocrática da “Lei dos Semelhantes”, começou a testar diversas substâncias em si mesmo e em colegas de trabalho que estavam dispostos a participar dos seus experimentos, retornando assim, à clínica médica em 1796, ano que ficou conhecido como o marco inicial da homeopatia, utilizando esta nova forma de tratamento fundamentada na cura pelos semelhantes. (CORRÊA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997; BREUNER, 2002; CORRÊA et al., 2006; BRASIL, 2011; ERLEWYN-LAJEUNESSE, 2012).

#### 1.1.4 Princípios básicos da homeopatia

Além do princípio básico da homeopatia fundamentado na “Lei dos Semelhantes” - *Similia Similibus Curantur* (semelhante cura-se pelo semelhante), a experimentação em indivíduos sãos passou a ser um dos pilares em que se baseia a prática homeopática. Substâncias específicas eram administradas a um grupo de pessoas saudáveis e através do método observacional, catalogavam os sintomas gerados pelas substâncias, possibilitando assim a descoberta do potencial medicinal de diversas substâncias e aprendendo os sintomas que poderiam ser tratados pelas mesmas. Atualmente mais de 2000 substâncias são utilizadas em preparações homeopáticas devido ao trabalho iniciado por Hahnemann (BREUNER, 2002).

Assim como já era discutido na época de Hipócrates, Hahnemann também acreditava na existência de uma *energia vital* que possibilita ao organismo um equilíbrio (homeostase) com o ambiente em que vive mantendo o estado denominado de saúde. O ser humano é visto como uma unidade de corpo, mente e essa “*energia vital*” (que outros preferem chamar de *alma*) que se mantêm em equilíbrio. Quando ocorre uma perturbação, um desequilíbrio de uma dessas unidades, ocorre alguma disfunção orgânica que faz o indivíduo adoecer. Relacionado a esta questão, temos um outro conceito também já descrito por Hipócrates, conhecido como *Natura medicatrix* (cura pela natureza), em que se acredita que toda cura vem de dentro do próprio organismo, e que os componentes essenciais para essa cura são o reforço da força vital e a remoção do obstáculo para a cura.

A preferência do uso de substâncias, que quando administradas em quantidade normal a pessoas saudáveis induziam os sintomas apresentados pela doença, era justificada por Hahnemann, que acreditava que assim seu tratamento estaria de acordo com a natureza do paciente, induzindo seu corpo a reagir quando exposto à uma pequena quantidade de uma substância que gera os mesmos sintomas que ele vem apresentando. Acreditava que a ação dos medicamentos deveria servir apenas como um estímulo para o processo de cura do próprio organismo, que iria regredindo os sintomas espontaneamente. A análise da totalidade dos sintomas do paciente é também um dos aspectos mais atraentes do tratamento homeopático, pois o médico não irá centrar-se apenas em sintomas únicos dentre os muitos sintomas apresentados em uma doença, e sim na totalidade de sintomas apresentados pelo indivíduo, sejam eles físicos ou psicológicos. Sendo assim, fazendo uso de diferentes substâncias catalogadas para o uso homeopático, o médico formula um único medicamento, específico para tratar a totalidade de sintomas apresentados pelo enfermo, permitindo a

individualização do tratamento de todos os sintomas do paciente, sem focar na doença em si (CORRÊA; QUINTAS, 1994; BREUNER, 2002; CORRÊA et al., 2006; LIMA; BEM, 2010; BRASIL, 2011).

Atualmente, as substâncias que compõem a formulação de um medicamento homeopático podem ser oriundas de diversas matérias primas como: minerais inertes, produtos químicos, materiais biológicos oriundos de bactérias, vírus, plantas, animais e tecidos humanos, ou secreções. Na época de Hahnemann essa variedade ainda não era tão grande, mas as substâncias utilizadas (em sua maioria plantas e minerais) eram tóxicas e ele logo percebeu a necessidade de usar pequenas quantidades das substâncias, já que elas próprias geravam sintomas. Com isso Hahnemann decidiu experimentar uma técnica que conseguia realizar intensa diminuição da matéria utilizada através de diluições, com o intuito de reduzir a toxicidade das substâncias até o ponto onde ainda obtivesse como resultado um produto final com as propriedades farmacológicas mantidas.

Assim Hahnemann atendia seus pacientes percorrendo o interior do país com sua carroça, onde levava suas preparações homeopáticas. Com o tempo começou a perceber que os pacientes que moravam em locais mais distantes tinham um tratamento mais eficaz, recuperando a saúde mais rapidamente do que os pacientes que moravam perto de sua residência. Questionando-se qual seria o motivo de tal diferença, já que a preparação das diluições era a mesma, associou isto ao movimento brusco que sua carroça fazia ao passar pelas estradas esburacadas do interior. A fim de confirmar a sua hipótese, passou a sacudir os frascos após as diluições, e a partir deste momento, os resultados obtidos foram muito positivos, fazendo com que seu tratamento homeopático fosse ficando cada vez mais popular. Este processo de diluições seguidas de agitações ficou conhecido como dinamização, e possibilita potencializar os medicamentos homeopáticos mesmo nas suas maiores diluições, onde não podem mais ser encontrados no produto final resquícios da matéria-prima original (CORRÊA, 1995; BREUNER, 2002; CORRÊA et al., 2006; CÉSAR, 2003).

Todos estes princípios serviram como fundamento para a criação da homeopatia que apesar dos desenvolvimentos ocorridos na técnica de dinamização e na descoberta do potencial medicinal de milhares de substâncias que Hahnemann nunca suspeitou, seu cerne continua o mesmo até os dias de hoje.

## 1.2 O MEDICAMENTO HOMEOPÁTICO

Os medicamentos homeopáticos são baseados em uma tintura-mãe criada pela dissolução da matéria prima utilizada, em água, álcool ou mais comumente em uma solução hidroalcoólica, sendo denominado medicamento homeopático composto, caso sua formulação apresente mais de uma matéria prima (BRASIL, 2011). Dentre estas matérias primas estão incluídos minerais inertes, produtos químicos, material biológico obtido a partir de bactérias, vírus, plantas, animais e tecido humano ou secreções. No entanto, as soluções são diluídas até um grau em que não são susceptíveis de conter qualquer parte da substância original (EKINS-DAUKES et al., 2004; ERLEWYN-LAJEUNESSE, 2012)

Quando se fala em diluição e agitação (dinamização) surgem alguns questionamentos: Em que proporções são feitas estas duas etapas? Quantas diluições? Quantas agitações? Em que essa matéria prima é diluída?

Após diversas tentativas de diluições, Hahnemann estabeleceu que a melhor escala de diluição era a centesimal, onde adicionava 1 parte da substância para cada 100 partes do diluente. Em sua época, usava como veículos de diluição, água da chuva ou neve e álcool etílico, sendo o último muito importante também para a conservação das soluções dinamizadas aumentando o seu prazo de validade para uso. Criou assim as centesimais, hoje chamadas de Centesimais Hahnemannianas (CHs), que indicam quantas dinamizações foram feitas da substancia referida adicionando-se “CHs” no final da prescrição (CÉSAR, 2003). Por exemplo, para uma substância na concentração de 3CH, os processos de diluição 1:100 e agitação foram realizados três vezes seguidas. Hoje em dia ainda são realizadas diluições em água, álcool ou solução hidroalcoólica para preparações homeopáticas líquidas e lactose para as preparações em drágeas. A dinamização de substâncias solúveis é feita no próprio frasco onde são feitas as diluições do produto, balançando o frasco para cima e para baixo indo de encontro sempre a um anteparo horizontal e semi-rígido (um isopor, por exemplo), não exercendo muita força para não danificar a embalagem do produto. Já a dinamização de produtos insolúveis era feita triturando a substância em um gral de porcelana, desconcentrando a matéria, usando como diluente o pó de lactose, agitando-a com os movimentos circulares do pistilo (CÉSAR, 2003; BRASIL, 2011).

Em relação às agitações, Hahnemann não estabeleceu um padrão. Em seus trabalhos, cada vez ia aumentando a quantidade de agitações, por acreditar que o aumento da eficiência medicamentosa é diretamente proporcional ao número de vezes em que o duplo processo de diluir e agitar é realizado. Existem outros métodos de diluições sem ser o CH (como as

cinquenta milésimos e decimais, por exemplo) que não são muito utilizados hoje em dia, mas independentemente do método, está preconizado a realização de 100 agitações entre cada processo de diluição (CÉSAR, 2003; ERLEWYN-LAJEUNESSE, 2012).

### 1.3 A HOMEOPATIA NO BRASIL

No Brasil, a homeopatia só foi introduzida no ano de 1841, através do médico homeopata Benoit-Jules Mure (Bento Mure). Neste mesmo ano Bento fundou a Escola Homeopática do Rio de Janeiro, no ano seguinte o Instituto Homeopático de Saí (Santa Catarina) e a primeira farmácia homeopática do Rio de Janeiro (NOBRE, 1942; CORRÊA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997; CORRÊA et al., 2006). Em 1845 foi criada a primeira escola de formação de homeopatia, a Escola Homeopática do Brasil, substituída posteriormente pela Academia Médico Homeopática do Brasil, em 1847.

Após diversas críticas sobre o método desconhecido que tentava difundir, Bento resolveu sair do país, deixando os primeiros passos da implantação da homeopatia no Brasil além de diversos seguidores de seu trabalho, que deram continuidade na disseminação desta prática médica alternativa. O Hospital da Ordem Terceira da Penitência em 1858, abriu uma enfermaria Homeopática, que incentivou inúmeros outros hospitais a fazerem o mesmo. Em 1914 foi fundada a Faculdade Hahnemaniana, e anexo a ela o Hospital Homeopático do Rio de Janeiro. Apenas décadas depois (1966) foi decretada a obrigatoriedade de inclusão da Farmacotécnica Homeopática em todas as faculdades de Farmácia do Brasil e em 1977 foi publicada a primeira edição oficial da Farmacopeia Homeopática Brasileira, que hoje já está em sua 3ª edição (2011) (CORRÊA et al., 2006).

Com o passar dos anos foi possível acompanhar a difusão dos conceitos homeopáticos por todo o mundo; e os inúmeros relatos de eficácia dos medicamentos, no tratamento de diversos tipos de doenças; contribuíram positivamente nesta dispersão. Porém, ao longo do século XIX, este panorama começou a mudar novamente. Apesar dos inúmeros relatos de efeitos positivos em decorrência do uso de preparações homeopáticas, a homeopatia começou a ser cada vez mais questionada por não existir um mecanismo teórico plausível para a eficácia do medicamento final. Além disso, o início das descobertas de anatomia patológica e a descoberta dos microrganismos patogênicos, corroborou ainda mais para o isolamento da homeopatia, levando à uma procura consideravelmente maior pelos tratamentos alopáticos

tradicionais, focando novamente apenas no tratamento da doença (CORREA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997; CORREA et al., 2006).

Por volta da década de 70 e 80, a homeopatia reconquistou um novo período de ascensão, tendo em 1979 e 1980 seu reconhecimento como especialidade médica, pela Associação Médica Brasileira e pelo Conselho Federal de Medicina, respectivamente. Com o objetivo de estabelecer diretrizes para a formação de um médico homeopata, em 1981 foi criada a Associação Médica Homeopática Brasileira (AMHB) que passou a ter o poder de conceder o Título de Especialista em homeopatia. Hoje em dia a formação em homeopatia é oferecida de diversas formas, tanto a partir de disciplinas obrigatórias ou eletivas na Graduação de Medicina, em Pós-Graduações, Residência e Especializações. Tudo isso visando a melhor formação possível de um profissional extremamente capacitado e qualificado (CORREA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997; CORREA et al., 2006; GALHARDI; BARROS, 2008).

Atualmente, apesar de todo o preconceito, a homeopatia continua a evoluir em segundo plano. Diversas circunstâncias ainda fazem com que haja uma procura crescente da população por tratamentos alternativos (CORRÊA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1997).

#### 1.4 REGULIZAÇÃO DE MEDICAMENTOS DINAMIZADOS NO BRASIL

No ano de 2007, foi criada a categoria de medicamentos dinamizados industrializados, instituída pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº26, de 30 de março de 2007. Ficou instituída assim, a notificação de comercialização de medicamentos dinamizados industrializados, mediante procedimento eletrônico, disponível no site da ANVISA. Esta exige também relatório técnico de qualidade para insumos ativos, insumo inerte, produto a granel e produto acabado, contendo o método de análise e os respectivos resultados, suas especificações e a cópia das referências bibliográficas utilizadas na metodologia. Essas referências devem ser reconhecidas pela agência reguladora. Caso a metodologia seja inovadora, deve-se apresentar validação baseado no ‘Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos’, dispostos na Resolução Específica (RE) nº 899, de 29 de maio de 2003 (BRASIL, 2003b; BRASIL, 2007b).

Todas as metodologias utilizadas devem ser reconhecidas oficialmente no país, descritas em Farmacopeias reconhecidas pela ANVISA. A legislação admite que as metodologias farmacopeicas não precisam de validação. Com isso, consideram-se metodologias farmacopeicas as que constam na Farmacopeia Brasileira e nas últimas atualizações oficializadas no país das outras farmacopeias reconhecidas pela ANVISA como: alemã, americana, argentina, britânica, europeia, francesa, Organização Mundial de Saúde (OMS), japonesa, mexicana, portuguesa, conforme estabelecido pela RDC nº 37, de 6 de Julho de 2009. A última atualização da Farmacopeia Brasileira foi publicada em sua 5ª edição em dezembro de 2010 (BRASIL, 2009a; BRASIL, 2010).

Também há necessidade de comprovação de segurança e eficácia do produto, por meio do envio de cópias de referências bibliográficas que especifiquem as alegações terapêuticas sugeridas. Caso a substância ativa do medicamento não conste na tabela de potências para registro e notificação de medicamentos dinamizados, presente na Instrução Normativa (IN) nº5 de 11 de abril de 2007, cabe ao fabricante comprovar a segurança de uso do medicamento na concentração pretendida com estudos toxicológicos, clínicos e não clínicos adequados. Se o medicamento contiver mais de um princípio ativo, como a maioria dos medicamentos homeopáticos, a indicação terapêutica alegada, deve ser comprovada para cada componente da fórmula (BRASIL, 2007c).

O medicamento dinamizado industrializado é de venda isenta de prescrição médica quando for para uso externo, ou quando cada um de seus insumos apresentarem dinamizações igual ou superior a 6CH de acordo com a IN nº5/2007 (BRASIL, 2007c).

Em questão de rotulagem, os medicamentos dinamizados seguem a RDC nº71 de 22 de setembro de 2009 e a RDC nº 26/2007, que se complementam à regulação vigente em questão de embalagem de medicamentos dinamizados, acrescentando outras informações que devem ser adicionadas como: especificação da potência de cada substância, escala, via de administração, a forma farmacêutica e a denominação dos insumos ativos utilizando a nomenclatura oficial das Farmacopeias (BRASIL, 2007c; BRASIL, 2009b).

Os medicamentos dinamizados não possuem bulas padronizadas pela ANVISA e por isso a RDC nº47/2009 dispõe detalhes sobre os itens e frases obrigatórias que devem estar presentes para medicamentos dinamizados (BRASIL, 2009c).

Mesmo com toda essa legislação sobre medicamentos dinamizados industrializados, onde os homeopáticos se enquadram, a grande maioria das formulações homeopáticas são oriundas de farmácias de manipulação (YAMAMOTO et al., 2004). Considerados como um desafio para a Vigilância Sanitária, os medicamentos homeopáticos manipulados trazem

questionamentos frequentes sobre a garantia da qualidade de suas formulações, devido a impossibilidade de análise final do produto e associação de fármacos, sem estudos prévios de estabilidade e eficácia terapêutica, e qualidade da matéria prima utilizada, com casos relatados de óbitos devido a essas problemáticas (ALMEIDA; FILHO, 2010).

No ano de 2000, o Brasil criou a RDC nº 33, que aprova o regulamento técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos. O controle da qualidade de medicamentos analisa todos os insumos que participam do processo produtivo e o produto acabado. Nesse controle são realizados testes físico-químicos e biológicos, como a contagem de microrganismos viáveis em produtos não-estéreis (BRASIL, 2000; MEDEIROS et al., 2007). Além disso, estabelece os requisitos gerais para aquisição de drogas, insumos farmacêuticos, materiais da embalagem, rotulagem, armazenamento, manipulação, conservação, transporte e dispensação de formulações magistrais, bem como os requisitos mínimos necessários de instalações e equipamentos adequados para seu funcionamento (BRASIL, 2000).

Entretanto, essa regulamentação ainda é falha, motivo pelo qual levou a ANVISA a instituir no ano de 2005 a Consulta Pública Nº 31, a fim de aperfeiçoar e adequar essa questão para uma melhor política nacional. Outras Resoluções já foram instituídas para medicamentos manipulados como a RDC nº 354 de 2003, que dispunha todas as substâncias e concentrações em preparações magistrais permitidas nestes tipos de estabelecimentos, e a RDC nº 214 de 2006 que dispunha sobre o mesmo tema da RDC nº 33. Porém todas elas foram revogadas em 2007, quando entrou em vigor a RDC nº 67, que dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias, além das substâncias e concentrações permitidas, requisitos mínimos de instalações para produção de medicamentos magistrais e oficiais, e todos os testes necessários para o controle de qualidade efetivo, sendo a legislação vigente até os dias de hoje (BRASIL, 2000; BRASIL, 2003a; BRASIL, 2005; BRASIL, 2006a; BRASIL, 2007a).

Em resumo, algumas das principais diferenças na legislação da indústria farmacêutica homeopática para a farmácia de manipulação, são: Na indústria todos os medicamentos são passíveis de registro e notificação de venda, que após concedidos tem uma validade de 5 anos, com obrigatoriedade de renovação de ambas. O produto final deve apresentar bula contendo a via de administração do medicamento, indicação de uso, interações medicamentosas, posologia, possíveis efeitos colaterais, e as substâncias presentes no medicamento (com a CH de cada substância). Além disso, é necessária a apresentação de dados de estudos toxicológicos, controle físico-químico e microbiológico do produto final, realizados

utilizando uma amostragem significativa de todos os lotes produzidos (BRASIL, 2006a; BRASIL, 2007a; BRASIL, 2007b; BRASIL, 2009b).

Devido à impossibilidade da análise de uma amostragem de lote nos medicamentos homeopáticos produzidos em farmácias de manipulação, visto que são produzidos em apenas uma unidade específica para o paciente, o controle da qualidade dos produtos final deste tipo de estabelecimento apresenta uma dificuldade ainda maior de ser realizado. Sendo assim, a alternativa encontrada foi a necessidade de dois tipos de licença de funcionamento diferentes para que o estabelecimento possa comercializar medicamentos manipulados. A primeira é a autorização de funcionamento (AF) que é necessária para que qualquer farmácia ou drogaria possa comercializar medicamentos. A segunda é a autorização especial, que pode ser solicitada apenas por farmácias de manipulação que já possuem a AF. Ambas as autorizações são concedidas após uma inspeção para averiguar se o estabelecimento atende a todas as disposições presente na legislação vigente, sendo necessária a renovação anual das autorizações, mediante novas inspeções. Além disso, o produto final necessita apenas conter em seu rótulo a posologia prescrita pelo médico, as substâncias presentes no medicamento com suas respectivas CHs, o nome do estabelecimento que foi produzido e do responsável pela confecção do medicamento, e o número das licenças do estabelecimento (BRASIL, 2006a; BRASIL, 2007a; BRASIL, 2007b; BRASIL, 2009b).

### 1.5 A INSERÇÃO DA HOMEOPATIA NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)

Quando se acompanha a história da medicina, é possível observar a influência de diferentes políticas na construção e organização do cuidado e atendimento em saúde (BARROS, 2000; GALHARDI; BARROS; LEITE-MOR, 2013). O movimento que ficou conhecido como Reforma Sanitária, teve início no Brasil na década de 70, dando um passo inicial para a formulação dos princípios e diretrizes do que se conhece hoje como o Sistema Único de Saúde (SUS). O processo de implementação do SUS foi impulsionado após a Constituição de 1988, que em seu Artigo 196 efetiva o mandamento constitucional do direito à saúde como um “direito de todos” e “dever do Estado”, regulamentado pela Lei 8.080/1990, que operacionaliza o atendimento à saúde pública (MATTOS, 2009; TEIXEIRA, 2015). Seus princípios ainda estão longe de ser completamente alcançados; é um sistema ainda em construção, visando sempre alcançar seus objetivos iniciais (MATTOS, 2009).

São sete os princípios básicos estabelecidos em relação ao SUS sendo eles:

- **Universalidade** – Coloca a saúde como um direito fundamental de todo e qualquer cidadão, sendo considerada como cláusula pétrea (proibida de ser retirada da Constituição Brasileira) por ser um direito e garantia individual, cabendo ao Estado o dever de garantir os meios necessários para que a população possa realizar o exercício pleno deste direito (BRASIL, 1990).
- **Integralidade** - “O homem é um ser integral, bio-psico-social, e deverá ser atendido com esta visão integral por um sistema de saúde também integral, voltado a promover, proteger e recuperar sua saúde” (BRASIL, 1990).
- **Equidade** – Visa assegurar que todo cidadão é igual perante ao SUS, e será atendido de acordo com a complexidade de suas necessidades, sem privilégios ou barreiras, até o limite do que o sistema puder oferecer para todos (BRASIL, 1990).
- **Regionalização e Hierarquização** – Dispõe que os serviços de saúde devem ser oferecidos em níveis de complexidade tecnológica crescente, e com a definição da população a ser atendida, oferecendo a população o acesso a todo tipo de tecnologia disponível, visando o maior número de resolução dos problemas (BRASIL, 1990).
- **Resolubilidade** – Exige que o serviço de saúde esteja capacitado para enfrentar e resolver, até o nível de sua competência, sejam problemas de saúde individuais ou de impacto coletivo (BRASIL, 1990).
- **Descentralização** – Distribuição da responsabilidade relacionada aos serviços de saúde entre os vários níveis de governo (Federal, Estadual e Municipal), cabendo aos municípios, a maior responsabilidade na promoção da saúde voltada aos seus cidadãos, por estarem mais perto e conseqüentemente mais familiarizados com reais problemas e necessidades da população municipal (BRASIL, 1990).

- **Participação dos Cidadãos** – Garantia constitucional de que o povo, através de seu representante, participará da formulação, controle e execução das políticas de saúde em todos os níveis de governo (BRASIL, 1990).

Quando se observa de um âmbito geral estes princípios, fica fácil entender a importância da implementação das Práticas Integrativas e Complementares (PIC) no SUS. Um sistema que visa oferecer à população toda forma de tratamento ao seu alcance, e que vê o paciente como um ser integrado bio-psico-socialmente, está em total concordância com a filosofia das PICs, como no caso da homeopatia, que também tem por princípio básico um tratamento mais humanizado que se preocupa com todos os aspectos que giram em torno da saúde do paciente.

Na década de 2000, diversos documentos começaram a ser publicados pela OMS, enfatizando a necessidade de uma prática integral no cuidado à saúde com a inclusão de práticas não biomédicas. Em 2001 foi publicado um documento (*Legal Status of Traditional Medicine and Complementary/Alternative Medicine: A Worldwide Review*) em que mostra a situação das Medicinas Tradicionais (MT) e Medicinas Alternativas e Complementares (MAC) nos países membros da OMS. Em 2002, outro documento (*Estratégia de la OMS sobre a Medicina Tradicional 2002-2005*) descreve o crescimento das MTs e MACs, citando estratégias de implantação, necessidades de pesquisas nessas áreas, e o caminho para o financiamento, com o objetivo de efetivar a implantação destas práticas nacional e internacionalmente. Os dados publicados nos documentos mostram que 48% da população da Austrália, 70% do Canadá, 42% dos EUA, 38% da Bélgica e 75% da França utilizavam MAC nos atendimentos à saúde. (GALHARDI; BARROS; LEITE-MOR, 2013).

No Brasil, em 1996 foi proposta a inserção de terapias alternativas e práticas populares no SUS, durante a 10ª Conferência Nacional de Saúde, visando principalmente o uso de medicamentos homeopáticos e plantas medicinais (ELDIN; DUNFORD, 2001). Apesar disto somente em 2003, na 12ª Conferência Nacional de Saúde foi criada a Política Nacional de Medicina Natural e Práticas Complementares (PNMNPC). Após algumas revisões, a PNMNPC foi publicada em 2006 como a Portaria Nº 971 do Ministério da Saúde, com o nome de Política de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS, que discorre sobre a implementação e respectiva regulamentação, garantia de acesso às práticas por toda a população, avaliação das práticas, pesquisas científicas e financiamento das ações necessárias para a viabilização desta política (BRASIL, 2006b; GALHARDI; BARROS, 2008; DIAS; MELO; SILVA, 2014).

Um estudo de 2013, realizado por Galhardi e colaboradores, demonstrou o conhecimento dos gestores municipais de saúde do estado de São Paulo, sobre a PNPIC e a sua influência da oferta da homeopatia pelo SUS. Constataram que dos 645 municípios de São Paulo, apenas 47 realizaram atendimentos em homeopatia pelo SUS no período do estudo (2000 a 2007), porém neste mesmo período houve um crescimento de 14.6% no total de consultas homeopáticas realizadas. Dos 42 gestores que participaram da entrevista 11 (26%) relataram ter conhecimento sobre a PNPIC e a consideraram importante no amparo e implantação da homeopatia no SUS, mas 7 deles afirmaram que não fazem o uso da homeopatia no desenvolvimento de seu serviço, 13 (31%) já tinham ouvido falar, mas tinham pouco conhecimento sobre o seu conteúdo, 17 (41%) desconheciam completamente a sua existência e um deles preferiu não responder.

Em relação ao conhecimento da população sobre o assunto, um estudo recente mostra a percepção da população sobre o significado, acesso e utilização da homeopatia pelo SUS (DIAS; MELO; SILVA, 2014). Dos 50 indivíduos que participaram do estudo (relatando já ter ouvido falar de homeopatia) a maioria absoluta (51,5%) teve contato com o assunto através de meios de comunicação em massa como televisão, rádio, panfletos de propaganda, jornais, internet, etc. A segunda maior fonte (25%) vinha de conhecidos leigos que já fizeram uso da homeopatia e que indicaram por terem aprovado os resultados obtidos, seguido pela indicação de médicos, dentre estes, médicos homeopatas (11,8%) vinculados ao SUS através de outras especialidades e por fim outras fontes como, livros, terapeuta natural (11,8%). Em relação aos conhecimentos sobre a homeopatia, a maioria dos entrevistados apresentava noções bem superficiais e sempre relacionadas a ser um tratamento natural, mais fraco e com menos efeitos colaterais.

A desinformação sobre os fundamentos da homeopatia, acaba gerando conceitos distorcidos que vão se enraizando e fazendo parte da cultura popular. Dos 50 participantes do estudo, a maioria (74%) confundia os conceitos da homeopatia com os de fitoterápicos, que é um tratamento bem diferente, baseado na alopatia com o uso de plantas medicinais e suas diferentes formas farmacêuticas. Apenas 3 indivíduos apresentavam um conhecimento maior pois já haviam utilizado ou ainda estavam utilizando a homeopatia, enquanto outros não possuíam conhecimento algum chegando a confundir o nome com algum tipo de doença. A maioria dos entrevistados (80%) não sabia do uso da homeopatia pelo SUS, mas apesar do baixo conhecimento e utilização, a maioria dos entrevistados declarou achar importante a implantação da homeopatia no SUS e demonstrou interesse em conhecer e até mesmo se tratar com esta terapia, caso fosse implantada no SUS de seu município. Esta importância foi

justificada por vários motivos, como necessidade de mais alternativas de tratamento no SUS, menor custo dos medicamentos e maior acessibilidade para toda a população.

Segundo o Ministério da Saúde, de 2007 a 2011, no Brasil, a oferta de PICs no SUS aumentou de 505 para 5.565 unidades (VASCONCELOS; ARGENTA; TAVARES, 2013), mas como se pode observar em ambos os estudos citados acima, apesar de existirem normas específicas para a implantação da homeopatia no SUS, a maior parte da população desconhece este fato, indicando que estes documentos normatizadores, como a PNPIC, necessitam de uma maior divulgação (BRASIL, 2006b), tanto para a população quanto para os gestores de saúde pública, para que haja uma oferta maior deste tipo de prática pelo sistema, assim como um aumento da sua procura por parte da população, estimulando cada vez mais a sua implantação.

A falta de uma definição financeira para a implantação das PNPIC, pode ter colaborado para a falta de investimento nesta prática. Alguns gestores de saúde afirmaram que a garantia financeira da atenção homeopática implantada é exclusividade do município, e outros têm perspectivas de conseguirem recursos com a PNPIC, contudo, não foram determinados valores, responsabilidades e fluxos para esses recursos (CAMPOS, 1994; GALHARDI; BARROS; LEIRE-MOR, 2013). Inúmeras outras dificuldades como: os tetos financeiros estaduais, municipais, hospitalares, o pagamento por produção dos procedimentos de média e alta complexidade, a fragmentação dos repasses de verba dentre outros, corroboram para um SUS não equitativo, integral ou resolutivo e de conseqüente baixa qualidade (SANTOS, 2009; GALHARDI; BARROS; LEIRE-MOR, 2013).

Outro fator a ser considerado em relação ao desinteresse pela homeopatia e PNPIC em geral, é que as organizações públicas de saúde podem sofrer influência do contexto político do momento, que pode ser contrário às premissas do SUS, levando os gestores a serem obrigados a seguir normas definidas por outras instâncias, organizações e/ou instituições privadas de saúde, contrárias ao desenvolvimento das PNPIC na saúde (SOUZA, 2008; GALHARDI; BARROS; LEIRE-MOR, 2013). Sendo assim, a total implementação das PNPIC, e conseqüentemente da homeopatia, em nosso sistema de saúde pública ainda está longe de ser alcançada, e terá que percorrer um longo e árduo caminho envolvendo interesses políticos, iniciativas dos gestores de saúde em disponibilizar o tratamento, aumento da procura por terapias alternativas pela população e diversas outras dificuldades, até que estas terapias passem a ser cogitadas como possibilidade de tratamento igualmente importante aos mais utilizados atualmente.

## 1.6 PORQUE OPTAR POR UM TRATAMENTO ALTERNATIVO?

Como já pode ser observado há algumas décadas, as preocupações com temas relacionados à saúde e qualidade de vida da população têm aumentado em proporções cada vez maiores, e atualmente o bem estar de um indivíduo não gira em torno apenas do seu estado de saúde física, abrangendo também os fatores psicológicos e sociais (MIRANDA et al., 2005). Um estudo realizado nos Estados Unidos da América, mostrou que o uso de práticas médicas alternativas sofreu um aumento de 7,4% em um período de 7 anos (1990-97), com um aumento de 427 para 629 milhões de usuários neste mesmo período de tempo, levando à necessidade de maiores investimentos financeiros em pesquisas clínicas destas práticas alternativas (BREUNER, 2002). Sendo assim, a medicina tradicional aplicada isoladamente, não consegue mais suprir as expectativas da população em relação aos tratamentos oferecidos, levando a um aumento da utilização de terapias alternativas, onde se inclui também a homeopatia.

Em 2004, foi realizado um estudo em um hospital especializado em medicina alternativa, na cidade de Goiânia, que mostrou os principais motivos que levam os pacientes a procurarem a homeopatia como forma de tratamento. A maioria explicou sua escolha pois já tinha recorrido a outras formas de tratamento que não foram eficazes, outros relataram que as experiências positivas de conhecidos que obtiveram sucesso com o tratamento homeopático, motivaram sua procura, e uma minoria justificou que a principal razão era a homeopatia primar pela prevenção e busca de equilíbrio entre as diversas áreas da vida do paciente. Já outros entrevistados, afirmaram já ter usado ou estar usando algum tipo de prática alternativa diferente da homeopatia (acupuntura, fitoterápicos, plantas medicinais...), e uma destas pessoas disse só tratar de seus problemas de saúde fazendo uso de medicinas alternativas, usando a alopatria muito esporadicamente. Em relação às vantagens que observaram neste tipo de tratamento, destacou-se o fato de ser uma terapia mais natural, e de terem obtido uma melhora sem efeitos colaterais no organismo (MIRANDA et al., 2005). Em outro estudo, na Escócia, além dos motivos citados acima, para o incentivo à procura de um tratamento alternativo, também foram relatados motivos como a falta de preocupação com o estado do paciente, levando o médico a se preocupar exclusivamente em tratar os sintomas, salientando a importância das consultas homeopáticas serem mais longas, ouvindo mais o paciente (EKINS-DAUKES et al., 2004).

Apesar de todos os grandes avanços incontestáveis da medicina clássica, o foco no tratamento de partes isoladas do nosso organismo, deixam de lado a individualidade dos

pacientes, com uma curta e estritamente profissional relação médico-paciente durante a consulta, resultando em um atendimento quase “mecânico” e desumanizado com consultas cada vez mais curtas que não atendem integralmente às necessidades do paciente. A desaprovação deste modelo de atendimento pela população, pode ser observada com o aumento cada vez maior da procura por métodos alternativos de tratamento, que estejam mais de acordo com a complexidade do paciente, que exige tempo e dedicação, valorizando um atendimento mais humanístico (TEIXEIRA, 2007; TEIXEIRA, 2008b).

Uma pesquisa realizada no Instituto Americano de Homeopatia analisou os padrões das práticas de clínica médica, usando a homeopatia, e concluiu que os médicos homeopatas passam mais tempo em consulta com os pacientes, aproximadamente 30 min contra os 12,5 min do médico convencional (BREUNER, 2002). O médico homeopata busca coletar o máximo de informações sobre sintomas, estilo de vida e estado emocional, por meio de conversa com o paciente, observação do doente, anamnese, exame físico e exames complementares, que levará à elaboração de um diagnóstico mais preciso ao paciente, tendo como objetivo principal o restabelecimento de seu equilíbrio e consequente saúde integral. Isso faz com que as consultas homeopáticas sejam mais completas e explicativas, resultando em maior satisfação do paciente ao sair da consulta (SILVA; BENKO, 1998; MIRANDA et al., 2005). No estudo realizado por Miranda e colaboradores em 2004, alguns pacientes também relataram que durante suas consultas receberam orientações sobre a forma correta de se alimentar, mudando seu estilo de vida, tornando-se até mais calmos, influenciando positivamente na sua qualidade de vida e julgando o tratamento como extremamente benéfico à saúde.

Outros fatores importantes que tornam a homeopatia um modelo de terapia promissor, são o custo reduzido dos medicamentos homeopáticos quando comparados com o alopático, podendo ser usado por grande parte da população de baixa renda, possibilitando inclusive o atendimento homeopático pelo SUS, e a prevenção do uso exagerado e inadequado de diferentes medicamentos para um mesmo diagnóstico, devido a sua formulação em um medicamento único (OLIVEIR; ZANIN; MIGUEL, 2004.)

O uso de práticas alternativas se tornou popular principalmente para o tratamento de crianças e sua procura tem se elevado cada vez mais, devido principalmente ao receio dos efeitos colaterais intensos apresentados pelos tratamentos convencionais. É extremamente atraente aos pais, um tratamento eficiente, mais natural e sem efeitos colaterais (SPIGELBLATT, 1995; SIMPSON; ROMAN, 2001; EKINS-DAUKES et al., 2004).

Uma clínica pediátrica em Montreal realizou uma pesquisa com os responsáveis de várias crianças, onde 11% revelaram que procuram primeiro um ou mais tratamentos alternativos, antes de dar início a terapias convencionais. A homeopatia foi usada por 25% dos participantes do estudo, sendo a segunda mais utilizada em crianças, demonstrando como o uso destas práticas alternativas tem atingido inclusive os cuidados de saúde infantil (SPIGELBLATT, 1995). Um estudo realizado na Inglaterra mostrou que 17,9% das crianças participantes já haviam feito uso de algum tipo de terapia complementar pelo menos uma vez e 8,6% já haviam usado mais de uma vez. Além disso, 46,5% dos pais relataram fazer uso de terapias alternativas em seus filhos, no momento do estudo, apesar de 55% dos pais tentarem algum tratamento convencional antes, e que 85% relatou uma melhora na condição da criança. De todas as práticas alternativas, a mais usada nas crianças foi a homeopatia (61%) (SIMPSON; ROMAN, 2001).

Na Escócia, foi realizado um estudo que mostrou que 22% dos médicos gerais prescreviam medicamentos homeopáticos para crianças (EKINS-DAUKES et al., 2004). No entanto, no estudo de Simpson e Roman (2001) também pode-se constatar que 33% dos pais não avisam seus médicos que estão fazendo uso de medicina alternativa e além disso muitos administram medicamentos homeopáticos a seus filhos sem consultar um médico por achar que o medicamento é natural e não causará nenhuma mal à criança. O fato de os medicamentos terem se tornado um artifício tão comum aos médicos e à população, leva a um aumento no risco de sua utilização não racional. É necessário que haja informações corretas sobre o tratamento realizado e a devida forma de utilização dos medicamentos prescritos, para evitar o uso indevido dos mesmos, evitando reações adversas, ineficácia do tratamento, desenvolvimento de resistência a antibióticos, etc. (MELO; RIBEIRO; STORPIRTIS, 2006).

#### 1.6.1 Usos clínicos da homeopatia.

Em diversos estudos foi possível observar que a condição clínica que mais acarreta em procura por tratamentos alternativos, são as doenças respiratórias em um contexto geral, incluindo a asma (SPIGELBLATT et al., 1994; SIMPSON; ROMAN, 2001; BREUNER, 2002; MADSEN et al., 2003), e os medicamentos homeopáticos vêm sendo cada vez mais procurados e utilizados pelas famílias, com uma prevalência de 10-18%, como automedicação para contusões, cólicas e problemas intestinais e 14,5% entre pacientes com asma (SIMPSON; ROMAN, 2001; SHAW et al., 2008; THOMPSON et al., 2011; ERLEWYN-LAJEUNESSE, 2012). Outro estudo corrobora esses dados, demonstrando que 16% dos

pacientes que fizeram uso de medicamentos homeopáticos no último ano foi devido a doenças respiratórias (MIRANDA et al., 2005).

Porém o uso para tratamento de doenças alérgicas e asma pode ser consideravelmente maior, principalmente em se tratando de crianças abaixo de 12 meses de idade (EKINS-DAUKES et al., 2004; TORRES-LLENZA et al., 2010). Um estudo realizado em Quebec, demonstrou um índice de prevalência de 13% no uso de práticas complementares e alternativas no tratamento da asma, sendo 18% realizado através da homeopatia (TORRES-LLENZA et al., 2010). No Brasil, pode ser encontrada a maior frequência mundial de asma, variando de 4,5 a 20,7% entre crianças de 7 a 16 anos (SOLE et al., 2001; Sociedade Brasileira Pneumologia e Tisiologia, 2002). O uso de medicamentos alternativos para o tratamento de condições pediátricas é uma realidade, principalmente em relação a asma infantil (SPIGELBLATT et al., 1994). O percentual de uso de práticas alternativas no tratamento de crianças e adolescentes foi maior do que 52% na Austrália e entre 65 e 89% nos Estados Unidos (REZNIK et al., 2002; SHENFIELD; LIM; ALLEN, 2002; BRAGANZA; OZUAH; SHARIF, 2003; SIDORA-ARCOLEO et al., 2007; TORRES-LLENZA et al., 2010). Este quadro é observado devido à proposta homeopática de tratar sem os efeitos adversos das drogas alopáticas clássicas, utilizadas para o tratamento da asma, por agir de acordo com a natureza do organismo (LIMA; BEM, 2010). O tratamento alopático da asma baseia-se em um tratamento agressivo utilizando-se de fármacos anti-inflamatórios, anti-histamínicos e bronco-dilatadores, que em muitos casos podem levar a doenças iatrogênicas, devido ao seu uso prolongado (LIMA; BEM, 2010; RANG et al., 2012).

Embora existam poucas evidências científicas que comprovem a eficácia do uso de medicinas alternativas em crianças com asma, algumas pesquisas mostram que 59% dos pais acreditam na eficiência dessas práticas e 44% admitiram ter usado, algum tipo de tratamento alternativo antes dos bronco dilatadores, no tratamento inicial da asma (BRAGANZA; OZUAH; SHARIF, 2003; TORRES-LLENZA, 2010). Esta credibilidade atribuída ao tratamento homeopático da asma, principalmente infantil, é dada pelos resultados insatisfatórios obtidos pelos tratamentos tradicionais e devido também aos resultados de diversos estudos onde se observou a melhora do quadro clínico já no primeiro retorno ao médico (em um período de 60 dias) caracterizando uma terapia rápida, com possibilidade de cura e financeiramente mais viável, levando-se em conta a realidade socioeconômica do país (PEZZUOL et al., 1997; LIMA; BEM, 2010). Um estudo mostra que em 66,2% dos casos de asma, houve uma regressão do quadro já no primeiro retorno ao médico (60 dias), enquanto dados constataam que com a terapia clássica essa melhora é de apenas 50%, sendo assim pelo

menos tão eficaz quanto o tratamento clássico da asma. Além disso, tem uma diminuição de custo de aproximadamente 150 reais fazendo uso de medicamentos homeopáticos, se mostrando muito mais viável financeiramente (PEZZUOL et al., 1997).

#### 1.6.2 Questionamentos com relação à homeopatia.

Apesar da crescente aceitação das medicinas alternativas entre a população, a homeopatia não recebe a devida credibilidade por parte dos profissionais praticantes da medicina tradicional. Muitos médicos e cientistas acreditam que a teoria e a prática homeopáticas não têm espaço na medicina tradicional, e que não existe uma filosofia em comum para a discussão entre as duas (TURNER, 1990). Muitos profissionais consideram o termo “homeopatia”, um sinônimo de placebo, que é uma preparação inativa administrada ao paciente sem que o mesmo saiba da sua inofensividade, levando algumas vezes em um real alívio dos sintomas devido a efeitos psicológicos relacionados a crença de que está recebendo um tratamento que irá deixá-lo melhor (BREUNER, 2002). Porém, um estudo sobre o efeito da homeopatia quando comparada com tratamento placebo, demonstrou que a homeopatia foi significativamente mais eficaz (LINDE; MELCHART, 1998). Além disso, um estudo de 2008 sobre a eficácia de um tipo de antidepressivo prescrito frequentemente na clínica médica tradicional, demonstrou que não há diferença significativa frente ao placebo com pacientes com depressão moderada, e apenas uma pequena e insignificante diferença nos pacientes com depressão severa (KIRSCH, et al., 2008).

Hoje em dia sabemos que diversos fatores influenciam a eficácia de um medicamento, inclusive o estado psicológico do paciente. Ao mesmo tempo em que os desapontamentos com a medicina alopática, insatisfação com os efeitos adversos colaterais, a ineficácia de alguns tipos de tratamento, levam o paciente a formar uma expectativa positiva em relação ao início de um tratamento alternativo como a homeopatia, a banalização e descrédito da homeopatia por profissionais médicos, pela mídia, pelo tratamento demorado, também contribuem para o desenvolvimento de expectativas negativas em relação ao mesmo tratamento. Sendo assim, é impossível julgar qual das expectativas terá predominância no paciente, podendo influenciar nos resultados do tratamento (TEIXEIRA, 2008b). Corroborando ainda mais com a dissociação da homeopatia e placebo, um estudo realizado em um hospital homeopático em Bristol, mostrou que 70% dos pacientes tiveram resultados positivos com o tratamento, sendo esses resultados ainda mais acentuados em crianças (SPENCE; THOMPSON; BARRON, 2005).

O questionamento principal relacionado a eficácia da homeopatia, gira em torno basicamente da falta de plausibilidade biológica e de sua incapacidade de comprovar cientificamente o mecanismo exato pelo qual uma solução diluída infinitesimalmente, de substâncias tóxicas, pode curar uma doença (BREUNER, 2002; ERLEWYN-LAJEUNESSE, 2011). Além disso, alguns estudos favoráveis à eficácia dos homeopáticos, são considerados pouco robustos em relação a metodologia empregada, tendo um número de estudos bem sucedidos muito limitados (STERNE; EGGER; SMITH, 2001; LUDTKE; RUTTEN, 2008). Outros estudos, também são questionados pois levaram a resultados confusos, sendo relacionados à interferência ou má interpretação do autor. Porém, é de extrema importância ressaltar que este tipo de situação também é comum ocorrer com os medicamentos alopáticos, que também não possuem evidências tão robustas, com diversos estudos concluindo que há necessidade de estudos posteriores que comprovem a eficácia de um medicamento, ocorrendo inclusive os mesmos problemas de interferência do autor nos resultados obtidos (KIRKHAM et al., 2010). Mesmo assim, outros dois estudos realizados comparando os medicamentos homeopáticos com tratamentos placebos, demonstraram resultados favoráveis à homeopatia, no que diz respeito também à utilização de uma metodologia satisfatória. Em um deles, foi analisada a qualidade metodológica de 107 ensaios clínicos homeopáticos controlados e 20% tiveram uma metodologia satisfatória sendo que 15% apresentou eficácia clínica frente ao placebo (KLEIJNEN; KNIPSCHILD; RIET, 1991). No segundo estudo foram realizados 89 ensaios, que concluíram que os resultados obtidos pelos medicamentos homeopáticos foram 2,45 vezes maiores que os resultados obtidos com placebo (LINDE et al., 1997).

Uma das principais dificuldades de se padronizar eficientemente um ensaio clínico homeopático é a necessidade de administração do mesmo medicamento para todos os pacientes, fato que por si só já ignora um dos princípios básicos da homeopatia de que seja feita a administração de um medicamento único e individualizado para que o tratamento seja eficaz. Sendo assim, os resultados obtidos destes estudos não são fieis com a realidade que poderia ser observada caso o tratamento homeopático correto com todos os seus princípios, fosse utilizado (KLEIJNEN, 2000; OBERBAUM; VITHOULKAS; VAN HASELEN, 2003). Quando os estudos são realizados com práticas metodológicas que estão de acordo com os princípios da homeopatia, os resultados obtidos são que este tipo de tratamento tem eficácia superior ao placebo. Por isso, é imprescindível o entendimento da importância de um medicamento único e individual para cada paciente levando em consideração a totalidade dos sintomas apresentados, e não simplesmente um sintoma específico como tratam a maioria dos

medicamentos alopáticos. Quando há uma escolha pela terapia homeopática é indispensável esta premissa para que se possa atingir a eficácia clínica desejada (TEIXEIRA, 2008b).

Apesar de toda a descrença da comunidade científica, alguns poucos estudos vêm conseguindo desvendar os mecanismos de ação destes medicamentos. O químico Shui Yin Lo, demonstrou que ao observar moléculas de água em diluições dinamizadas acima do número de Avogadro ( $6,02 \times 10^{23}$  moléculas) por microscopia eletrônica, constatou que onde antes apresentava uma distribuição aleatória de moléculas de água, passou a se formar grupamentos parecidos com “cachos” que aumentam de tamanho a cada nova diluição. Apresentaram também características específicas como: campo elétrico singular e adesão firme a superfícies. Outros estudos também encontraram resultados semelhantes, e um deles corroborou e implementou a descoberta de que a solução com moléculas em formas de cachos é capaz de estimular *in vitro* até 100 vezes mais células do sistema imunológico, do que a água pura. Revelando assim uma atividade biológica que ainda necessita de estudos posteriores para sua compreensão (OLIVEIRA; ZANIN; MIGUEL, 2004; MORAIS, 2015).

As produções científicas sobre o assunto são reduzidas, porém de grande importância, enaltecendo a necessidade de criação de núcleos de ensino e informação nas instituições de todo o País, sobre os princípios básicos teóricos e a prática clínica homeopática. Isto porque, mesmo a homeopatia sendo uma especialidade médica desde a década de 80, sua presença nas faculdades de Medicina ainda é escassa e insuficiente. Isso faz com que os alunos se formem e iniciem sua prática médica sem qualquer conhecimento real dos fundamentos desta outra forma de tratamento. Essa desinformação dos profissionais de saúde sobre o assunto, dificulta a relação com médicos de outras especialidades e é um dos motivos para que apenas poucos profissionais indiquem esta forma de tratamento a seus pacientes (EISENBERG et al., 1993; TEIXEIRA, 2007).

Apesar dos medicamentos homeopáticos serem considerados seguros pela população, por serem extremamente diluídos e fazer uso de substâncias naturais, isso depende da manutenção de altos padrões de produção e também do uso apropriado, principalmente se tratando de populações vulneráveis como crianças, gestantes, idosos e imunocomprometidos. A maioria dos componentes deste medicamento são tóxicos em condições normais, e justamente por serem muitas vezes de origem vegetal, animal e até de origem biológica humana, existe um possível potencial de transmissão de microrganismos que podem levar a quadros infecciosos (WHO, 2009). Já foram reportados diversos casos de intoxicação, como por exemplos: intoxicação por mercúrio em uma criança que usou uma preparação homeopática para assaduras (MONTROYA-CABRERA, 1991), relatos de prurido grave

causado pelo tratamento para gripe, anafilaxia após o tratamento para a febre do feno, e urticária após o uso de um medicamento que auxiliava no emagrecimento (ABERER; STROHAL, 1991). Além disso, muitas preparações homeopáticas são à base de álcool e algumas contêm arsênio, e outros metais pesados utilizados na preparação deste tipo de medicamento (SPIGELBLATT, 1995).

Sendo assim, todos os medicamentos homeopáticos devem ser fabricados utilizando os métodos validados e descritos na Farmacopeia Homeopática Brasileira mais atual disponível (WHO, 2009).

## 1.7 ESCOLHA E COMPOSIÇÃO DO MEDICAMENTO DO ESTUDO

Todos os artigos citados no item 1.6, relacionados à maior procura por tratamentos alternativos para doenças respiratórias, com uma maior prevalência nos tratamentos da asma, sejam eles homeopáticos ou não, influenciaram na escolha do medicamento a ser analisado neste trabalho. Com isso, um medicamento homeopático para o tratamento da asma e bronquite asmática, foi escolhido.

Sua composição contém as seguintes substâncias: *Lobelia inflata* (2CH), *Grindelia robusta* (2CH), *Blatta orientalis* (5CH), *Natrum sulphuricum* (3CH) e *Arsenicum iodatum* (5CH). Todas estas substâncias fazem parte da extensa variedade listada como permitidas para uso homeopático, segundo a Farmacopeia Homeopática Brasileira de 2011.

- *Grindelia robusta*

Conhecida popularmente como Girassol-silvestre ou Mal-me-quer do campo, é uma planta que pertence à família *Asteraceae*, largamente utilizada nas enfermidades da pele, trato respiratório e digestivo. A parte da planta utilizada são as flores, ricas em grindelina e mucilagens que promovem um efeito expectorante que, somado com ações bactericidas, anti-inflamatórias, antitussígenos e espasmolíticas dos ácidos fenólicos e flavonóides, geram bons resultados em casos de bronquites, laringites e asma. Usada também para tratar casos de congestão nasal, resfriados, tosse, tosse seca, tuberculose dentre outros. O uso da *Grindelia* em altas altitudes, ajuda a melhorar a capacidade pulmonar. Quando há quadros com presença de muco, consegue aderir bem a ele, eliminando-o do corpo. Há relatos muito antigos de efeitos colaterais como irritação gástrica e diarreia, e uma superdosagem pode levar a uma intoxicação (SOARES et al. 2006; PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERAPIA, 2015a).

- *Lobelia inflata*

Conhecida popularmente como tabaco-indiano, pertence à família *Campanulaceae* e possui um extenso histórico de uso como erva medicinal, no tratamento de diversas doenças respiratórias como bronquite, pneumonia e asma, sendo inclusive usada como fumo para auxiliar no tratamento da asma. Embora poucos estudos tenham avaliado a segurança e eficácia da *Lobelia*, alguns herbalistas hoje em dia, a utilizam como parte de um plano de tratamento abrangente para a asma (UNIVERSITY OF MARYLAND MEDICAL CENTER, 2015).

Além disso, esta planta possui um alcaloide conhecido como lobelina, e estudos demonstraram sua semelhança aos efeitos produzidos pelo tabaco no corpo humano, sendo muito usado ainda nos dias de hoje como um substituto da nicotina em pessoas que desejam parar de fumar (DAVISON; ROSEN, 1972). Apesar de ser uma erva potencialmente tóxica, quadros já reportados referentes ao seu uso como, náuseas, diarreia, tremores, taquicardia, confusão mental, hipotermia, coma e até a morte, ocorrem em casos de intoxicação por quantidades bem elevadas e não no uso em doses homeopáticas da erva. Na homeopatia, a Lobélia pode ser usada isoladamente ou associada a outros produtos para: o tratamento de tabagismo, relaxamento muscular, náuseas, vômitos, infecções de pele além das já citadas doenças respiratórias. (PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERAPIA, 2015b; UNIVERSITY OF MARYLAND MEDICAL CENTER, 2013.).

- *Blatta orientalis*

Inseto pertencente à família *Blattidae*, é popularmente conhecida como barata nua, apresenta uma cor bem escura e não possui capacidade de voo. Usada a mais de 100 anos como tratamento natural, a descoberta de seu possível uso terapêutico foi totalmente acidental, quando um paciente com forte crise de asma ingeriu um chá em que não percebeu que uma barata havia caído na chaleira onde foi fervida a água para infusão. Como consequência disto a asma cedeu, e a única diferença encontrada no que normalmente fazia foi encontrar uma barata morta na chaleira. Hoje em dia ainda é muito utilizada em medicamentos homeopáticos relacionados à asma crônica, com expectoração mucopurulento e na tosse que acompanha estes casos específicos, e há indicações de sua eficácia em processos de alergias respiratórias ligadas a asma e a bronquite (HOMEOPATAS dos pés descalços, 2015).

Um estudo recente analisou as atividades anti- asmáticas e anti- anafiláticas da tintura homeopática de *Blatta orientalis*, e descobriu que ela gera uma ação anti- anafilática ao estabilizar os mastócitos e suprimindo contagem de células de IgE e eosinófilos. (NIMGULKAR; PATIL ; KUMAR, 2010).

- *Natrium Sulphuricum*

Substância química mais conhecida como sulfeto de sódio, é obtida apenas através de reações químicas em laboratório, tendo como sua composição principal o sódio, que é extremamente abundante na natureza, sendo retirado principalmente do sal marinho e do mineral halita. (PEIXOTO, 1999). É usado como indicação terapêutica para descongestionar o organismo, eliminar toxinas, sendo indicado como tratamento de infecções gripais e febre alta (NOVAES, 2015).

- *Arsenicum iodatum*

Mais conhecido como iodeto de arsênio, composto pelo 20º composto mais abundante da crosta terrestre (arsênio) e pode ser encontrado na forma nativa, principalmente sob forma de sulfeto, e associado a uma série de minerais como ouro, cobre, chumbo, ferro, níquel, cobalto e outros metais. (BAIRD, 2002.) É indicado para tratar sintomas de origem respiratória: tosse leve, obstrução nasal, bronquite crônica, pneumonia, tosse seca com expectoração, etc. (WEBHOMEOPATH, 2015).

## 1.8 QUALIDADE DAS FORMULAÇÕES MANIPULADAS

Apesar de todos os benefícios proporcionados pelo uso de medicamentos homeopáticos, estes são fabricados, em sua grande maioria, em farmácias de manipulação. A confecção de homeopáticos manipulados leva à liberdade de prescrição, devido à formulação magistral do medicamento (medicamento prescrito pelo médico, que estabelece qual a forma apropriada e quantidade necessária de cada componente para um tratamento específico ao paciente). Como o produto será direcionado especificamente para um único indivíduo consumidor, a quantidade de matéria prima adquirida pelas farmácias de manipulação é menor do que nas indústrias. Conseqüentemente, durante o fracionamento da matéria prima para a confecção de uma única unidade do produto, podem ser transmitidas partículas de microrganismos viáveis, aumentando a carga microbiana na matéria prima, elevando

consideravelmente a possibilidade de contaminação do produto final, que na maioria dos casos é administrado a pessoas com alguma enfermidade, que com seu sistema imunológico fragilizado se torna mais susceptível a uma piora do quadro, devido à exposição a algum tipo de contaminação do produto (YAMAMOTO et al., 2004).

Com o intuito de garantir um maior controle de qualidade em farmácias homeopáticas de manipulação, no ano de 1977, foi publicada a primeira edição da Farmacopeia Homeopática Brasileira, visando garantir as boas práticas de manipulação e fabricação (BRASIL, 2011). Além disso, cada vez mais os fabricantes de cosméticos e medicamentos vêm se preocupando com a contaminação microbiana, principalmente após a criação da RDC nº 33 em 2000, que atualmente foi revogada e substituída pela RDC nº 67 (2007), que dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação (BRASIL, 2000; BRASIL 2007a; FIORENTINO et al., 2008), e estabelece os requisitos mínimos exigidos para a manipulação, fracionamento, conservação, transporte, dispensação de preparações magistrais e oficinais, alopáticas e homeopáticas. Porém, os maiores questionamentos quando está em questão a qualidade das formulações manipuladas são: a impossibilidade de uma análise final do produto, visto que ele é produzido exclusivamente na quantidade necessária para o indivíduo e a associação de fármacos sem estudos prévios que comprovem sua estabilidade e eficácia terapêutica, quando combinado com outras substâncias (ALMEIDA; FILHO, 2010).

Em decorrência disso, a ANVISA tem demonstrado uma atuação mais próxima às empresas produtoras, exigindo a implantação e cumprimento das normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF) em empresas produtoras, tanto de medicamentos como de diversos outros produtos como cosméticos, fitoterápicos, etc. em indústrias farmacêuticas e farmácias de manipulação, conforme as normas técnicas oficialmente estabelecidas. Essas técnicas precisam sofrer periodicamente um processo de atualização, que acompanhe o avanço tecnológico utilizado na confecção dos produtos, sempre visando manter o melhor nível de qualidade possível (YAMAMOTO et al., 2004). Todos os processos envolvidos na produção devem ser monitorados pois a qualidade desses produtos precisa ser assegurada por um rígido controle de qualidade, desde as matérias-primas utilizadas, controle do meio ambiente e instalações, equipamentos, recursos humanos, armazenamento, manipulação, conservação, embalagem, transporte, garantindo assim a eficácia, segurança e credibilidade dos produtos finais dispensados à população (ALVES et al., 2009), frente aos limites máximos de microrganismos viáveis (os quais estão listados na 3ª e mais atual edição da Farmacopeia Homeopática Brasileira) por grama ou mililitro do produto, por ser um produto não estéril, bem como a total ausência de determinados microrganismos patogênicos (BRASIL, 2011).

A contaminação cruzada é um ponto crucial a ser considerado para a manutenção da qualidade dos medicamentos manipulados (MARTINELLI et al., 2005). A contaminação microbiana, nas farmácias de manipulação, pode ser proveniente de várias origens devido à complexidade dos processos envolvidos na confecção dos produtos (YAMAMOTO et al., 2004). Para que se atinja um alto nível de qualidade dos produtos finais é fundamental que se conheça e seja capaz de identificar e solucionar as possíveis fontes e mecanismos responsáveis pela contaminação (PINTO; KANEKO, 2003; MARQUES; MOREIRA, 2009). A matéria-prima pode ser considerada como uma das principais fontes de contaminação, pois os contaminantes microbianos serão invariavelmente transferidos ao produto, além dos que já foram ou podem ser obtidos de outras fontes (MARQUES; MOREIRA, 2009). Levando-se em consideração seu prazo de validade e origem, as matérias-primas de origem natural, que são as principais presentes no medicamento do presente estudo, favorecem ainda mais o desenvolvimento de microrganismos, devido à sua capacidade de reter água (SILVA; SILVA, 2012).

A manipulação do operador é considerada por alguns pesquisadores como a principal fonte de contaminação do produto final, pois até a contaminação do ambiente pode ser causada por microrganismos transportados pelo manipulador, assim como outros tipos de contaminação relacionados aos seus hábitos de higiene (PARKER; HODGES, 2005). Independente do produto a ser confeccionado, a água é a principal matéria-prima das indústrias farmacêuticas e farmácias magistrais, alopática ou homeopática (SILVA; SILVA, 2012). É usada a todo momento na diluição das matérias primas utilizadas, na limpeza do ambiente de trabalho e utensílios utilizados durante o processo, e até mesmo na higienização, do manipulador (PINTO; KANEKO; OHARA, 2000; ANDRADE et al., 2005). Portanto, é de extrema importância que seja realizado um controle de qualidade da água utilizada nesses processos, seja do ponto de vista físico-químico como microbiológico (SILVA; SILVA, 2012), necessitando de um acompanhamento periódico e sistemático, tanto da água potável quanto purificada. A água potável não possui uma determinação de prazos específicos onde estes testes devem ser realizados, mas a água purificada deve ser submetida trimestralmente aos testes, seja pela própria empresa, se tiver suporte para tal, ou por empresas terceirizadas especializadas neste tipo de serviço (MARTINELLI et al., 2005). Mesmo havendo periodicidade nos testes de verificação de qualidade da água, é necessária que seja realizada a manutenção dos equipamentos utilizados para obtenção de água purificada, como por exemplo o deionizador.

No estudo realizado por Andrade e colaboradores em 2005 em farmácias de manipulação, foi demonstrado que a saturação da resina no deionizador e manutenção inadequada do equipamento e da caixa d'água, podem maximizar os problemas relacionados com a qualidade microbiológica da água deionizada. No estudo foi verificado que 65 % da água deionizada foi reprovada, frente aos limites máximos exigidos de contagem de microrganismos viáveis e pela presença de patógenos bastonetes gram-positivos não fermentadores e de uma amostra com presença de *E. coli*, sendo assim um ponto crítico no controle de qualidade do produto final, podendo inclusive acarretar no desenvolvimento de biofilmes no sistema de tratamento (ANDRADE et al., 2005).

Outras fontes de contaminação, sejam indiretamente relacionadas as já mencionadas ou não, são: qualidade da embalagem, limpeza do local de armazenamento das matérias-primas e dos produtos finais, contaminação microbiana dos produtos de limpeza, utilização de equipamentos e vidrarias mal higienizadas, temperatura elevada do ambiente auxiliando na proliferação de microrganismos, ar ambiente contaminado devido à falta de limpeza nos filtros de ar, etc. (VENERANDA, 2003; ALVES et al., 2009; MARQUES; MOREIRA, 2009; WEBER; FRASSON, 2009; SILVA; SILVA, 2012; AMARAL, 2010). Sendo assim, o conhecimento, qualificação pessoal, disciplina, cumprimento dos procedimentos padrão do estabelecimento, execução das boas práticas de manipulação (BPM), uso de ferramentas tecnológicas disponíveis, atenção na limpeza e higienização são medidas preventivas necessárias para se reduzir ao máximo a incidência de contaminação cruzada (DEAN, 2000; AMARAL, 2015).

Apesar da exigência da implantação das BPM, segundo a RDC nº 67, um estudo demonstrou que a legislação em vigor impõe às farmácias de manipulação um sistema de garantia de qualidade baseado em uma extensa documentação que dificilmente refletirá em melhoria na qualidade das produções, pois aborda superficialmente os processos, deixando de focar nas principais fontes de contaminação como as já mencionadas. Sendo assim acaba não garantindo em sua totalidade a qualidade dos produtos manipulados, que tem sua qualidade final e credibilidade afetada junto aos prescritores e usuários (BRASIL, 2007a; ALMEIDA; FILHO, 2010).

Agravando ainda mais a questão do gerenciamento da qualidade, pequenas empresas produtoras e farmácias de manipulação apresentam dificuldades na implementação das BPM devido aos seguintes fatores: alto custo de infraestrutura, necessidade de investimento inicial para adequação de área física e aquisição de equipamentos básicos para a realização dos testes mínimos exigidos, necessidade de treinamento contínuo de profissionais qualificados,

complexidade de algumas análises, entre outros, impossibilitando muitas vezes a implantação de um laboratório de controle de qualidade microbiológico próprio. Assim, a realização das análises exigidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária fica a cargo de laboratórios de prestação de serviços, que precisam ser contratados, levando também a um custo elevado, o que dificulta a adequação das farmácias magistrais nos padrões de qualidade. Porém, em um estudo realizado no Mato Grosso, já pode ser observado que a maioria das farmácias de manipulação já estão conseguindo se adequar às BPM estabelecidas pela ANVISA através da RDC nº67 (BARBOSA, 2001; YAMAMOTO et al., 2004; ALVES et al., 2009).

Um estudo realizado em indústrias farmacêuticas, cosméticas, fitoterápicas e farmácias de manipulação da Zona da Mata-MG (25 empresas ao todo), demonstrou que 7,7% das 240 amostras analisadas estavam fora dos padrões aceitáveis para contagem de microrganismos viáveis. No mesmo estudo, do total das empresas participantes, 40% não atendiam as especificações referentes à presença de contaminantes, pois estavam acima dos limites especificados pela legislação vigente (YAMAMOTO et al., 2004). Em outro estudo realizado em farmácias de manipulação de Campina Grande - PB, foi constatado que 55,5% das amostras utilizadas no estudo apresentavam valores para contagem de microrganismos viáveis que estavam acima dos limites especificados pela 4ª edição da Farmacopeia Brasileira (MEDEIROS et al., 2007).

Com isso, pode-se observar que apesar das estipulações da RDC nº 67, referente às BPM, grande parte das farmácias de manipulação alopáticas e homeopáticas ainda não implantaram o controle de qualidade microbiológico dos produtos não estéreis em seus estabelecimentos (BRASIL, 2007a; MEDEIROS *et al.*, 2004). Isto ocorre, pois o alto custo, a necessidade de investimento inicial para adequação da infraestrutura necessária e aquisição de equipamentos básicos para a realização dos testes mínimos exigidos, a necessidade de treinamento contínuo de pessoal, a complexidade de algumas análises, etc., dificultam a prática do controle de qualidade pelas farmácias de manipulação e homeopáticas (YAMAMOTO *et al.*, 2004; MARTINELLI *et al.*, 2005).

## 1.9 PATÓGENOS PESQUISADOS

Um dos objetivos deste estudo foi realizar a pesquisa de determinados patógenos no medicamento escolhido, para verificar se o mesmo está inserido dentro do limite máximo permitido pela Farmacopeia Homeopática Brasileira de 2011.

Os microrganismos pesquisados para este tipo de medicamento são: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e Bacilos Gram-negativos. Todos os patógenos pesquisados são de extrema importância clínica pois levam ao desenvolvimento de diversas doenças, das mais brandas até as fatais. Sendo assim a contaminação de um medicamento oral por estes microrganismos, em indivíduos com sistema imunológico comprometido, é extremamente preocupante.

Para um melhor esclarecimento sobre estes patógenos e suas características, formas de transmissão, doenças causadas, possibilidade de tratamento, etc., a seguir encontra-se um breve resumo de cada um deles.

- *Staphylococcus aureus*

Pertencente à Família *Staphylococcaceae*, o *S. aureus* é um coco Gram-positivo que pode ser encontrado com frequência na microbiota de indivíduos saudáveis (principalmente nas fossas nasais, com um percentual de até 50%, que aumenta ainda mais entre pessoas que trabalham em hospitais). É uma das bactérias mais importantes, pois além da sua importância clínica, principalmente devido ao aumento de quadros graves de infecções hospitalares por cepas multirresistentes (MRSA) aos antibióticos disponíveis no mercado, quase sempre estão associadas à sua grande capacidade de formação de biofilme, podem causar também diversos quadros de infecções, tanto superficiais (localizada) quanto quadros graves de infecção disseminada (McCARTHY et al., 2015). A transmissão ocorre por contato direto ou indireto, tendo uma extensa gama de infecções passíveis de serem causadas por este microrganismo devido aos inúmeros fatores de virulências associados ao patógeno (BLANCHARD; QUACH; AUTMIZGUINE, 2015).

Na superfície celular possui cápsula bacteriana, que tem como função principal a proteção contra fagocitose pelo sistema imunológico do hospedeiro; presença de peptidoglicanos e ácidos teicóicos que ativam a via alternativa do sistema complemento estimulando a produção de citocinas; Proteína A, que é uma das mais estudadas e encontradas na maiorias das amostras de *S. aureus*, que tem como atividades principal a de se ligar a

porção Fc das IgG impedindo que estes anticorpos se liguem a células fagocitárias protegendo a bactéria da fagocitose e também de atuar como adesina que se ligam a proteínas do endotélio lesionado em infecções extravasculares; presença de proteínas que se ligam à fibronectina, colágeno e fibrinogênio, que também funcionam como adesinas, promovendo a colonização de tecidos pelo patógeno. Entre as principais toxinas produzidas pelo *S. aureus* tem-se a  $\alpha$ -toxina e a leucocidina, que causam poros na membrana celular dos leucócitos levando à sua morte (mecanismo de evasão do sistema imunológico) além de que a lesão causada por elas pode promover a liberação de citocinas que venham a contribuir para o choque séptico; produção da toxina TSST-1, responsável pela síndrome do choque tóxico estafilocócico; liberação de enterotoxinas que levam aos quadros de intoxicação alimentar e produção de toxinas esfoliativas, que degradam as moléculas de adesão do epitélio cutâneo causando a síndrome da pele escaldada (separação da epiderme da derme). Diversas enzimas extracelulares também são produzidas por este microrganismo e a maioria tem participação na patogênese das infecções, dentre elas a coagulase, catalase, desoxiribonuclease, hialuronidase, lipase, protease e fibrolisina (TEIXEIRA, 2008a; ANDERSEN et al, 2015).

Além de todos estes fatores de virulência o *S. aureus* também possui a capacidade de formação de biofilme, agregados bacterianos envoltos por uma película extrapoli-sacarídica, produzida pela própria bactéria, que se aderem em diversos tipos de superfícies (biótica ou abiótica) servindo como uma barreira de proteção contra as defesas do organismo e ação de antibióticos. Dentre as superfícies de formação de biofilme, a de maior importância hospitalar são as superfícies de polímeros que são introduzidos no paciente (cateter, tubos de respiração, dispositivos e válvulas, próteses, etc.) e que podem servir como uma fonte de bactérias que podem se espalhar para diferentes tecidos e órgãos do corpo (McCARTHY et al., 2015).

Algumas doenças causadas pelo *S. aureus* já foram mencionadas anteriormente, mas se resumem em: infecções superficiais como os abscessos cutâneos, infecções de feridas, impetigo, foliculite, etc. e infecções sistêmicas como bacteremia, endocardite, pneumonia, osteomielite, artrite e também quadros tóxicos como a síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada, e a intoxicação alimentar. O tratamento dessas doenças envolve sempre a antibioticoterapia, porém o desenvolvimento de resistência vem se tornando cada vez mais comum, principalmente dentre as cepas hospitalares, necessitando que seja realizado um teste de susceptibilidade posterior ao tratamento (BLANCHARD; QUACH; AUTMIZGUINE, 2015).

- *Escherichia coli*

Pertencente à família *Enterobacteriaceae*, este bacilo Gram-negativo é o microrganismo mais conhecido e estudado além de ser um dos maiores causadores de infecções hospitalares e a principal causa de infecção intestinal em diversos países. São anaeróbios facultativos possuindo: flagelos (antígeno H – extremamente importante para locomoção do patógeno e também como um fator de virulência que favorece a adesão e penetração da bactéria nas células hospedeiras), cápsula (antígeno K – protegem dos fagócitos e anticorpos), lipopolissacarídeos (LPS) - Endotoxina/Antígeno O: principal responsável pelas manifestações tóxicas nas infecções e lipídeo A que estimula a produção de citocinas, e antígenos fimbriais F (adesinas, pili ou fímbrias – fundamentais para a aderência e colonização dos tecidos hospedeiros), que são todas estruturas antigênicas do patógeno além de fatores de virulência (LAVERTY; GORMAN; GILMORE, 2014).

Faz parte da microbiota normal do intestino de indivíduos saudáveis, sendo eliminada pelas fezes em grandes quantidades tanto no homem quanto em outros animais que tem uma temperatura constante (mamíferos e pássaros), e raramente causa infecções em indivíduos saudáveis. Devido à presença de *E. coli* nas fezes, este microrganismo é considerado como um indicador de contaminação por coliformes fecais em água e alimentos. A quantidade de *E. coli* em mililitro de água é umas das principais medidas limitantes no controle de pureza da água potável. A maioria dos problemas relacionados à *E. coli* ocorre por cepas oriundas de fontes externas ao nosso organismo sendo, portanto, uma cepa diferente da que coloniza nossa microbiota e por isso não é reconhecida por nosso sistema imunológico levando aos diversos problemas de saúde, que variam de acordo com a cepa adquirida (SILVA; DOMINGUES, 2015).

Devido a sua enorme diversidade patogênica, são divididas em diversas categorias de acordo com o mecanismo de patogenicidade envolvido na infecção. As cepas que causam infecções intestinais são chamadas de *E. coli* diarreio gênicas e as associadas a infecções extra-intestinais são as ExPEC (*Extraintestinal Pathogenic E. coli*). São diferenciadas umas das outras por testes fenotípicos, moleculares e sorológicos, neste último utilizando as estruturas antigênicas mencionadas anteriormente como um meio de diferencia-las e sua transmissão ocorre geralmente através de contato íntimo e ingestão de água, alimento e contato da mucosa oral com superfícies contaminadas (mão e objetos sujos levados à boca) (TEIXEIRA, 2008a).

Fazem parte da categoria de *E. coli* diarreio gênicas:

*E. coli* Enteropatogênica (EPEC) – A primeira da categoria a ser identificada após estudos epidemiológicos relacionando-a com a diarreia humana. Não produzem a toxina Shiga (Stx) e tem como característica se aderir ao intestino delgado e/ou grosso determinando alterações nas estruturas das vilosidades e microvilosidades por lesões do tipo A/E (*attaching/effacing*), que levam ao desaparecimento das microvilosidades e em infecções graves, até a completa destruição do epitélio absorptivo e acentuada atrofia das vilosidades acarretando em má absorção de nutrientes, afinamento da camada mucosa, diarreia osmótica não sanguinolenta, febre, náuseas e vômito. Acomete geralmente crianças e o tratamento é a base de antimicrobianos e hidratação (CROXEN et al, 2013).

*E. coli* Enterohemorrágica (EHEC) – São encontradas nas fezes de diversos animais domésticos e selvagens, mas são ruminantes que representam seu reservatório natural. O início da infecção se dá pela ingestão de alimentos ou água contaminados e causam um vasto espectro de doenças no homem desde diarreias brandas até casos graves de colite hemorrágica, que podem evoluir para complicações extra-intestinais como púrpura trombocitopênica trombótica (PTT – presença de trombocitopenia e anemia hemorrágica, sintomas neurológicos e febre), apendicite, cistite hemorrágica, problemas neurológicos e o quadro mais grave da síndrome hemolítica urêmica (SHU – definida pela tríade anemia hemolítica, plaquetopenia ou trombocitopenia, e insuficiência renal aguda). Sua patogênese envolve a produção da Stx após a adesão na mucosa do intestino grosso, a ligação da toxina ao seu receptor celular resulta em uma cascata de sinalizações que culminam na SHU e a endocitose dessa toxina leva a inibição de síntese proteica ou apoptose da célula. O tratamento com antimicrobiano não é recomendado a não ser em casos de diarreia branda, pois em casos mais grave acaba piorando o quadro do paciente pois alguns antimicrobianos aumentam a produção/liberação da Stx. Sendo assim as terapias mais utilizadas são a hidratação com monitoração hospitalar, utilização de probióticos que competem com a EHEC na mucosa intestinal além dos tratamentos específicos dos problemas gerados em outros órgãos (CROXEN et al, 2013).

*E. coli* Enterotoxigênica (ETEC) - Caracterizada pela sua capacidade de produzir as enterotoxinas termolábil (LT) e termoestável (ST) e é considerada uma das principais causas de diarreia aguda em crianças menores de 5 anos. É também o principal agente da “diarreia do viajante” em adultos. As enterotoxinas produzidas provocam alterações nos níveis intracelulares de nucleotídeos cíclicos, levando à alteração do equilíbrio hidrossalino no lúmen intestinal, resultando na secreção de eletrólitos e redução da absorção de água que é

eliminada na diarreia aquosa sem sangue. Pode causar desde uma diarreia branda a casos mais graves levando à desidratação crítica que em casos extremos pode levar ao choque. A infecção é autolimitante, geralmente com duração de no máximo 2 dias e por isso dispensa o uso de antimicrobianos tendo a reposição de água e eletrólitos como a principal forma de tratamento (CROXEN et al, 2013).

*E. coli* Enteroagregativa (EAEC) – Tem como característica principal a capacidade de se apresentar com um padrão específico denominado de adesão agregativa (AA) onde as bactérias se aderem à superfície da célula e umas às outras, formando uma estrutura de biofilme que lembra tijolos empilhados. Produz uma toxina termoestável (EAST-1) semelhante a ST produzida pela ETEC, que altera as correntes iônicas das células intestinais. A doença é manifestada como uma diarreia secretora, mucoide e aquosa, com pouca febre. É capaz de colonizar diversas regiões do trato intestinal e podem evoluir para quadros persistentes e até hemorrágicos da doença. O tratamento de reidratação é o mais indicado e apenas em casos de diarreia persistente (CROXEN et al, 2013).

*E. coli* Enteroinvasiva (EIEC) – Interage preferencialmente com a mucosa do cólon do hospedeiro, onde faz a sua invasão levando a invasão e destruição da mucosa intestinal causando inflamações e em casos mais graves até úlceras. Muito pouco se sabe sobre a patogênese deste tipo de *E. coli* mas a doença geralmente é acompanhada de febre, mal-estar, cólicas abdominais, diarreia aquosa seguida de disenteria com poucas fezes, sangue e muco e o tratamento consiste em hidratação e antibióticoterapia em casos de inflamações mais graves (CROXEN et al, 2013).

Já na categoria das ExPEC encontram-se cepas de grande diversidade relacionada tanto à faixa etária quanto ao sítio de infecção e dentre elas podemos destacar as causadoras de infecção no trato urinário (UPEC) que podem alcançar a uretra, a bexiga e os rins, meningite, infecções intra-abdominais (intraperitoneal), pneumonia, osteomielite, septicemia e infecções em tecidos moles. O tratamento se resume em antibioticoterapia e no tratamento dos sintomas específicos de cada tipo de infecção extra-intestinal (TEIXEIRA, 2008a)

- *Salmonella* sp.

Assim como a *E. coli*, pertencem à família da *Enterobacteriaceae* sendo assim bacilos Gram-negativos. Não produzem esporos e geralmente não fermentam lactose, o que contribui na sua identificação em meios de cultura nos quais este açúcar esteja presente. Infectam o homem e animais (até mesmo répteis e inseto) e são encontradas em água potável e alimentos

quando há uma contaminação fecal por algum indivíduo portador do microrganismo. Sendo assim sua transmissão ocorre na maioria dos casos pela ingestão de alimentos e água contaminada. Os alimentos como carne, leite e ovo (origem animal) são os maiores veículos de transmissão deste patógeno para o homem onde são capazes de levar a vários tipos de infecções autolimitantes, tendo como as mais comuns a febre tifóide e a gastroenterite (TEIXEIRA, 2008a).

Esse gênero é dividido em três espécies: *Salmonella subterranea*, *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*. A *S. enterica* é a que tem a maior importância clínica para o homem, possui diversos sorogrupos, sorotipos e subespécies, e as duas subespécies de maior importância para o homem são, *Salmonella typhi* e *Salmonella typhimurium*. A *S. typhi* é responsável pelo quadro de febre tifoide, que se trata de uma infecção sistêmica que se inicia na mucosa intestinal e que posteriormente se dissemina pelo sangue causando uma bacteremia primária assintomática, indo parar em órgãos do sistema retículo endotelial, fígado, baço e medula óssea, onde se replicam e retornam a corrente sanguínea levando a uma bacteremia secundária resultando no início dos sintomas como: febre prolongada (até 15 dias), dor de cabeça, desconforto abdominal e letargia generalizada, dor muscular, anorexia, tontura, etc. e a antibióticoterapia é primordial nesses casos. Já a *S. typhimurium* leva a quadros de gastroenterite, uma infecção aguda da mucosa intestinal e é frequentemente chamada de intoxicação alimentar pois ocorre devido a transmissão pela ingestão de alimentos de origem animal contaminados. Essa infecção é limitada ao intestino, podendo levar a complicações como perfurações intestinais e choque hipovolêmico, mas são raros (geralmente em idosos, recém-nascido ou imunossuprimidos) e geralmente os sintomas mais comuns são diarreia, desidratação e desequilíbrio eletrolítico. Raramente o tratamento antimicrobiano é recomendado e a contaminação pode ser evitada pelo manuseio e preparação correta dos alimentos de origem animal (HURLEY et al, 2014; NARAYANAN; EDELMANN, 2014; PATEL; McCORMICK, 2014).

- *Pseudomonas aeruginosa*

Este bacilo Gram-negativo é um dos microrganismos mais ubiqüitários, podendo ser encontrado no solo, água, vegetais, animais, alimentos e em diversos ambientes e objetos hospitalares. Essa versatilidade enorme, está relacionada a suas poucas necessidades nutricionais e à sua capacidade de adaptação e tolerância às mais diversas condições ambientais, tendo uma preferência maior por ambientes úmidos (SOUSA; PEREIRA, 2014).

É um patógeno oportunista extremamente importante quando se trata de infecções hospitalares. Raramente causa infecções em indivíduos imunocompetentes, mas caso haja um rompimento da barreira cutânea e mucosa devido a traumas, cirurgias, queimaduras, diálises, transplantes, uso prolongado de cateteres, uso prolongado de corticoide, neonatos, imunodeficientes, etc., podem causar infecções em diversos tecidos e órgãos devido a seus diversos fatores de virulência (fímbrias, flagelo, LPS, alginato, exotoxinas, exoenzimas, proteases, sideróforos, fosfolipases, produção de pigmentos e capacidade de produção de biofilmes, dentre outros) que permitem uma maior facilidade na colonização, invasão local e infecção sistêmica disseminada do patógeno (TEIXEIRA, 2008a; MASÁK et al, 2014; TOLKER-NIELSEN, 2014).

Um dos principais causadores de infecção hospitalar, principalmente em pacientes com queimaduras, pneumonia, bacteremias, infecção urinária, infecção de ferimentos cirúrgicos, têm sua importância clínica acentuada devido a sua capacidade de resistência natural e/ou adquirida aos diversos antimicrobianos disponíveis no mercado, caracterizando uma difícil erradicação da infecção e constantes falhas terapêuticas devido à sua multirresistência. Os principais quadros de infecções observados são no trato respiratório superior e inferior, sistema nervoso central (levando à meningites e septicemia), trato urinário, gastrointestinais, infecções superficiais, ósseas e em articulações. A variedade de quadros possíveis é assustadora e o difícil tratamento torna este patógeno uma preocupação constante principalmente em ambientes hospitalares. Devida à essa resistência natural e ao fácil desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos, é recomendado em quadros mais graves o uso sinérgico de duas drogas para tentar eliminar o patógeno (TEIXEIRA, 2008a; SOUSA; PEREIRA, 2014).

- *Candida albicans*

Esta espécie de fungo da família *Cryptococcaceae*, pode ser encontrada como parte da microbiota humana e pode ser isolada da boca, tubo digestivo, intestino, vagina e até na pele de indivíduos saudáveis. Sendo assim, um patógeno oportunista cujas infecções são majoritariamente de origem endógena, apesar de poucos casos de transmissão exógena em ambientes hospitalares serem relatados. Geralmente se torna invasivo em pessoas com algum tipo de quadro debilitante como doenças crônicas, uso prolongado de drogas imunossupressoras e antibióticos, sendo frequentemente associada também a pacientes

portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (CRISEO; SCORDINO; ROMEO, 2015).

Na mucosa oral, é mais conhecida popularmente como “sapinho” e acomete principalmente neonatos após a passagem pela mucosa vaginal da mãe contaminada. Em grupos de maior risco como portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) a infecção pode se propagar para a faringe, laringe, esôfago e mais raramente pode se disseminar por via hematogênica e, além disso, também é comum o aparecimento de candidíase cutânea generalizada neste tipo de paciente. Na mucosa vaginal as lesões com aparecimento de placas brancas com aspecto membranoso, são semelhantes às da mucosa oral e é mais comum em pacientes grávidas que possuem corrimento, diabetes ou uso de antibioticoterapia prolongada. A candidíase pode virar sistêmica, e apesar de ser rara é um quadro grave e de difícil diagnóstico podendo se disseminar rapidamente para os rins, cérebro, coração, trato digestivo, pulmão, sangue, etc. O tratamento é realizado com o uso de antifúngicos (nistatina, anfotericina B, etc) por via oral e em casos sistêmicos é comum o uso de caspofungina por via intravenosa (TEIXEIRA, 2008a; OLSEN, 2014).

- Bacilos Gram-negativos bile tolerantes (GNBT)

A família *Enterobacteriaceae* constitui o maior e mais heterogêneo conjunto de bastonetes gram-negativos clinicamente importantes. *Escherichia coli* e *Salmonella* sp., já mencionados anteriormente, fazem parte deste grupo assim como diversos outros patógenos clinicamente importantes como, *Shigella*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella*, etc (TEIXEIRA, 2008a).

São anaeróbios facultativos e podem causar tanto infecções intestinais quanto extra-intestinais e possuem diversos fatores de virulência importantes para sua adesão, colonização e disseminação como cápsula, flagelo, fímbrias, endo e exotoxinas, LPS, porinas, etc. que tem sua expressão regulada por sistemas complexos, sensíveis a diferentes condições ambientais o que permite a sua adaptação a diferentes nichos ecológicos (TEIXEIRA, 2008a).

Diversos testes bioquímicos podem ser utilizados para a identificação das espécies de BGN como degradação de açúcares, produção de gás, produção de H<sub>2</sub>S, produção de urease, motilidade, indol, lisina, arginina e ornitina dentre muitos outros, até que se consiga chegar a um conjunto de características que definem a espécie que podem ser confirmados por testes fenotípicos como susceptibilidade a antimicrobianos e identificação molecular através da reação em cadeia da polimerase (PCR) (TEIXEIRA, 2008a).

O tratamento mais indicado é a antibioticoterapia que deve ser utilizada cuidadosamente, pois diversas espécies vêm desenvolvendo resistência múltipla aos antibióticos de mercado, sendo recomendada quando possível a identificação prévia do patógeno causador da infecção, para direcionar o médico a um antibiótico mais específico cujo microrganismo não apresente resistência, facilitando o tratamento e evitando o desenvolvimento de novas resistências (TEIXEIRA, 2008a).

## **2 JUSTIFICATIVA**

Os medicamentos homeopáticos vêm sendo cada vez mais utilizados como tratamento alternativo aos medicamentos alopáticos mais agressivos, e com muitos efeitos adversos, principalmente para o uso infantil. A maioria destes medicamentos são produzidos por farmácias de manipulação. Estudos recentes mostraram que estas farmácias encontram dificuldades, como recursos financeiros e humanos, para realizar o controle de qualidade microbiológico mínimo necessário, frente às normas estabelecidas pela Farmacopeia Homeopática Brasileira e pela RDC nº 67, para a manutenção da eficácia, estabilidade e segurança microbiológica dos medicamentos manipulados e matérias primas utilizadas neste tipo de estabelecimento. Desta forma, é de extrema importância que se mantenha um controle de qualidade microbiológico rígido destes produtos, onde os limites máximos de microrganismos permitidos, definidos pela Farmacopeia homeopática Brasileira para medicamentos não estéreis, devem ser respeitados, devido ao possível potencial de contaminação microbiana em um produto que entrará diretamente em contato com um paciente que pode estar imunologicamente debilitado, podendo levar a quadros infecciosos graves.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a qualidade microbiológica de medicamentos homeopáticos oriundos de uma indústria farmacêutica e farmácias de manipulação utilizados no tratamento para asma, no município do Rio de Janeiro, com a finalidade de avaliar o enquadramento destes produtos nas diretrizes designadas pela Farmacopeia Homeopática Brasileira de 2011.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar qualitativamente e quantitativamente a presença de bactérias aeróbias, bolores e leveduras, nas amostras do medicamento homeopático de escolha, obtidas tanto de indústrias farmacêuticas, quanto de farmácias de manipulação.
- Pesquisar a presença dos microrganismos patogênicos (contagem total de bactérias aeróbias, bactérias Gram negativas bile tolerantes, bolores, leveduras, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Clostridium* sp. e *Candida albicans*) relacionados na Farmacopeia Homeopática Brasileira de 2011 para medicamentos não estéreis.
- Avaliar a qualidade microbiológica dos produtos analisados, tanto das indústrias farmacêuticas quanto das farmácias de manipulação, a fim de comparar os resultados obtidos em ambas.

## 4 METODOLOGIA

Os medicamentos analisados no presente estudo foram obtidos de 5 estabelecimentos farmacêuticos diferentes, sendo um deles, uma indústria homeopática reconhecida comercialmente e 4 farmácias de manipulação de um bairro da Zona Oeste do Rio de Janeiro. A amostragem utilizada foi de 10 frascos, de lotes diferentes do mesmo fabricante, de um medicamento homeopático utilizado para o tratamento da asma e bronquite asmática, obtidos da indústria farmacêutica e 40 frascos de medicamento homeopático contendo a mesma formulação, obtidos das quatro farmácias de manipulação, coletadas em dias diferentes.

A formulação utilizada nas farmácias de manipulação foi exatamente a mesma da fórmula do medicamento homeopático industrial, mantendo-se as mesmas substâncias e suas respectivas Centesimais Hahnemannianas (CHs), visando padronizar ao máximo as amostras do estudo.

As metodologias dos ensaios microbiológicos realizados neste trabalho foram baseadas nos métodos preconizados pela Farmacopeia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011), que remete à Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010) no que diz respeito aos testes microbiológicos para verificação da qualidade de medicamentos não estéreis. Além disso, como em ambas as farmacopeias utilizadas não contém informações sobre os testes bioquímicos necessários para a identificação das espécies de microrganismos encontradas, foi utilizado para tal a revisão 14 e mais atual do Procedimento Operacional Padronizado (POP) número 65.3210.008, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) (MANUAL DA QUALIDADE, 2014), assim como a preparação dos meios de cultura utilizados, que foram fornecidos pelo INCQS.

### 4.1 MANIPULAÇÃO E PREPARO DA AMOSTRA

Todas as amostras vieram em frascos de vidro fumê com tampa plástica de rolha lacrada, acondicionado em temperatura ambiente. Todos os medicamentos testados foram em forma de tabletes de lactose na cor branca. O armazenamento da amostra foi realizado, de acordo com a orientação do fabricante, até o início da análise. Seu processamento teve início dentro do menor tempo possível após sua chegada ao laboratório. Antes de iniciar o processamento, foi realizada uma inspeção cuidadosa para detectar qualquer possível irregularidade em relação às embalagens e aspectos do medicamento, verificando se havia algum motivo que impossibilitaria a realização da análise. Nenhuma irregularidade visível foi

detectada, dando continuidade à análise. A embalagem foi desinfetada com solução de álcool etílico 70% (v/v).

A análise microbiológica requer a utilização de alíquotas representativas do conteúdo da amostra. Sendo assim, foram utilizados 10g do produto para cada um dos ensaios. Foram utilizadas técnicas assépticas em todo o processo de manipulação da amostra e na execução das análises, realizando-as em cabine de segurança biológica.

O tratamento das amostras foi apropriado às suas características físicas de forma a obter uma solução uniforme. Como no presente estudo foram utilizados tabletes, o procedimento utilizado foi:

A amostra foi triturada até a obtenção de um pó fino. Foram pesadas 10g das amostras trituradas, que foram adicionados em um erlenmeyer contendo 90ml de caldo de caseína-soja (diluição 1:10) e misturadas até a obtenção de uma solução homogênea. Para fins didáticos essa diluição inicial será denominada D1. A partir desta diluição, foram realizadas diluições decimais sucessivas até 1:10.000 em tubos contendo caldo caseína-soja, que foram utilizados para os testes em até 20 minutos após o preparo. Por fim, foram transferidos 10ml do frasco D1 para um segundo erlenmeyer (o qual será chamado D2), que foi incubado a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  por 24h para posteriormente servir para pesquisa de patógenos.

#### 4.2 VERIFICAÇÃO DA CAPACIDADE INIBITÓRIA

Realizada paralelamente aos testes de contagem e pesquisa de patógeno, teve como objetivo determinar a presença de substâncias inibidoras do crescimento microbiano, que pudessem interferir na avaliação microbiológica dos produtos, gerando resultados falso negativos.

A partir da criopreservação dos microrganismos de referência, listados na **Tabela 1**, foram realizadas subcultivos individuais (utilizando alça de níquel-cromo de 3mm) dos mesmos, em tubos contendo 5 mL de caldo caseína-soja, que foram incubados por 18-24h a  $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ , com exceção da *Candida albicans* e *Aspergillus brasiliensis*, onde o primeiro foi incubado a  $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  por 2 a 3 dias, e o segundo foi incubado a  $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  de 5 a 7 dias. O inóculo utilizado de cada microrganismo, foi preparado realizando 10 diluições decimais de cada uma dessas culturas utilizando tampão cloreto de sódio-peptona pH 7,0, de modo a se obter uma suspensão com não mais de 100 células viáveis por ml.

Após a incubação, foi inoculado 1mL da suspensão em tampão, de cada microrganismo separadamente, em dois tubos contendo 8mL de ágar caseína-soja. Em um

desses tubos, foi adicionado 1ml da diluição D1 das amostras em ágar caseína-soja, e no segundo tubo contendo o mesmo meio não houve adição da amostra, servindo como controle do ensaio. Ambos os tubos utilizados para cada microrganismo foram incubados a  $32,5 \pm 2,5$  °C por 18 a 24 horas, exceto *Candida albicans* e o *Aspergillus brasiliensis*, onde o primeiro foi incubado a  $22,5^\circ\text{C} \pm 2,5^\circ\text{C}$  por 2 a 3 dias, e o segundo foi incubado a  $22,5^\circ\text{C} \pm 2,5^\circ\text{C}$  de 5 a 7 dias..

**Tabela 1.** Microrganismos de referência utilizados

<b>Microrganismo</b>	<b>Cepa ATCC</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028
<i>Escherichia coli</i>	8739
<i>Clostridium sporogenes</i>	11437
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404
<i>Candida albicans</i>	10231

Fonte: POP 65.3210.008 – Rev.14 – fl.4

- **Avaliação dos resultados**

No produto utilizado neste estudo, houve crescimento dos microrganismos de referência empregados frente à amostra, indicando assim a ausência de substâncias inibidoras. Assim, foi dado prosseguimento às análises microbiológicas da amostra.

Caso não fosse observado crescimento dos microrganismos de referência nos tubos contendo a amostra, consideraríamos que o produto exerceu uma atividade inibitória que seria eliminada antes das análises microbiológicas, conforme os procedimentos descritos abaixo.

- **Procedimentos para eliminar a atividade inibitória**

Os procedimentos abaixo seriam usados de forma eliminatória. Caso o primeiro procedimento já conseguisse eliminar a atividade inibitória do produto, não haveria necessidade de realizar os outros. Se o primeiro não fosse capaz de eliminar a atividade inibitória, seria dada continuidade nos procedimentos até que algum deles conseguisse tal resultado.

Se ao final de todos os procedimentos descritos abaixo, não fosse possível eliminar a atividade inibitória do produto, atribuiríamos ao produto uma atividade antimicrobiana intrínseca frente aos microrganismos de referência utilizados.

– **Método de diluição**

Aumento do volume do meio de cultura utilizado, mantendo-se a mesma quantidade da amostra. O ensaio seria repetido até determinar a relação ideal entre a concentração da amostra e o volume do meio, suficiente para eliminar a atividade inibitória.

– **Método de inativação**

Adição de substâncias inativadoras, como o caldo neutralizante DEY-ENGLEY por exemplo, ao meio de cultura, de acordo com a substância presente na amostra.

– **Associação dos métodos da diluição e inativação**

Uso combinado dos dois métodos citados anteriormente, até que a atividade inibitória fosse eliminada.

– **Método de filtração por membrana**

Através de lavagens sucessivas, as substâncias inibitórias presentes na amostra que poderiam dificultar ou inibir o crescimento de microrganismos contaminantes, seriam eliminadas.

#### 4.3 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS VIÁVEIS TOTAIS

Realizado para determinar o número total de bactérias mesófilas e fungos, em produtos não estéreis, determinando se o produto satisfaz às exigências microbiológicas farmacopeicas.

• **Método Pour-Plate de contagem em placa**

A partir da diluição D1, foram feitas diluições decimais seriadas até 1:10.000 ( $10^{-4}$ ), transferindo 1ml da diluição inicial para tubos contendo 9 ml de caldo caseína-soja.

– **Contagem de bactérias aeróbias**

Foram transferidas alíquotas contendo 1ml (em duplicata) de cada diluição da amostra, para 2 placas de Petri e adicionados 15 a 20ml de ágar de caseína-soja, resfriado a aproximadamente 45°C em banho-maria. As alíquotas e o ágar foram homogeneizadas por movimentos rotatórios suaves. Após a solidificação do meio, as placas foram invertidas e incubadas a  $32,5 \pm 2,5$  °C por até 5 dias.

– **Contagem de bolores e leveduras**

Foram transferidas alíquotas contendo 1 ml (em duplicata), apenas das diluições de 1:10 até 1:1000 da amostra, para placas de Petri e adicionados 15 a 20ml de ágar Sabouraud-dextrose resfriado a aproximadamente  $47,5 \pm 2,5$  °C. As alíquotas e o ágar foram homogeneizadas por movimentos rotatórios suaves, e após solidificadas, foram invertidas e incubadas de  $22,5 \pm 2,5$  °C por até 7 dias.

– **Contagem de Colônias:**

Após o período de incubação necessário, foi realizada a contagem do número de colônias. Nas placas de ágar caseína-soja a contagem foi realizada na diluição que apresentou até 300 colônias de bactérias e nas placas de ágar Sabouraud-dextrose, a contagem foi realizada na diluição que apresentou até 100 colônias de fungos, sempre calculando a média aritmética das duas placas da diluição escolhida. A contagem foi realizada com o auxílio de um contador de colônias.

Para calcular o número aproximado de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g) do produto, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$N = \frac{(\sum Pi)}{(\sum Vi)} D$$

Onde:

N = Número de UFC/g do produto.

D = Inverso do fator de diluição utilizado.

$\sum Pi$  = Somatório do número de colônias observadas nas duas placas da diluição escolhida para contagem.

$\sum Vi$  = Somatório do volume de amostra utilizado no teste, para cada placa (1ml em cada placa, 2ml no total).

Quando as placas de todas as diluições não apresentaram colônias, a contagem foi registrada como sendo menor que uma vez a menor diluição (<10UFC/g).

– **Leitura e avaliação dos resultados:**

Os limites utilizados para a avaliação dos resultados, foram os estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira 5ª Edição de 2010 e que constam na **Tabela 2** de Limites microbianos para produtos não estéreis.

Os limites de aceitação, descritos na **Tabela 2**, são interpretados do seguinte modo:

- $-10^1$  UFC: valor máximo aceitável = 20 colônias
- $-10^2$  UFC: valor máximo aceitável = 200 colônias e assim por diante, sucessivamente.

Assim, como o medicamento do estudo se enquadra na categoria de *preparação oral contendo produtos de origem vegetal, mineral e/ou animal* os limites considerados foram:

- Contagem total de bactérias aeróbias: Máximo de  $2 \times 10^4$  UFC/g.
- Contagem de bolores e leveduras: Máximo de  $2 \times 10^2$  UFC/g.

**Tabela 2.** Limites microbianos para produtos não estéreis.

Via de administração	Contagem total de bactérias aeróbias UFC/g ou mL	Contagem total de Fungos e leveduras UFC/g ou mL	Pesquisa de Patógenos
Produtos de origem vegetal, mineral e/ou animal <sup>a</sup>			Ausência de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em 1g ou mL. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10g ou 10 mL. Limite máximo de $10^2$ bactérias Gram-negativas bile tolerantes em 1g ou mL
Preparação para uso oral contendo matéria-prima de origem natural	$10^4$	$10^2$	

(a) para produtos que se enquadram em mais de uma situação, prevalecerão os limites mais restritivos.

Fonte: Adaptado da Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (2010)

#### 4.4 PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE PATÓGENOS

Os testes para a identificação e os controles positivos e negativos utilizados foram executados conforme a metodologia da Revisão 14 e mais atual do Procedimento Operacional Padronizado (POP) número 65.3210.008, do INCQS (MANUAL DA QUALIDADE, 2014)

##### 4.4.1 Bactérias Gram-negativas bile tolerantes (GNBT)

Após diluição D1 em caldo caseína-soja e suas sucessivas diluições decimais, a diluição foi incubada por 2 a 5 horas (tempo necessário para reativar a bactéria, mas não o suficiente para estimular sua multiplicação) a  $22,5 \pm 2,5$  °C. Após o período de incubação, foram preparadas diluições decimais seriadas transferindo 1ml da diluição D1 para tubos contendo 9ml de Caldo de Enriquecimento de Enterobactérias segundo Mossel, de modo a obter diluições contendo 0,1 ( $10^{-1}$ ); 0,01( $10^{-2}$ ) e 0,001( $10^{-3}$ ) g do produto. Os tubos foram incubados a  $32,5 \pm 2,5$  °C 24 por 24 a 48 horas. Para cada tubo que apresentou resultado positivo (virada do meio de verde para amarelo), foram realizadas subculturas em Ágar Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose que foram incubadas a  $32,5 \pm 2,5$  °C por 18 a 24 horas.

O crescimento de colônias bem desenvolvidas de bactérias Gram-negativas, geralmente vermelhas ou avermelhadas, indicou contaminação (resultado positivo). Tanto os resultados positivos quanto os negativos foram anotados para que o número mais provável (NMP) de bactérias por grama do produto pudesse ser determinado, segundo a **Tabela 3** abaixo:

**Tabela 3.** Interpretação dos resultados do teste quantitativo para bactérias Gram-negativas bile tolerantes

Resultados para quantidade de produto de:			Número provável de bactérias por mL do produto
0,1 mL	0,01 mL	0,001 mL	
+	+	+	Mais de $10^3$
+	+	-	Menos de $10^3$ e mais de $10^2$
+	-	-	Menos de $10^2$ e mais de 10
-	-	-	Menos de 10

Fonte: Adaptado da Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (2010)

Para o produto escolhido, o limite aceitável para Gram-negativos Bile Tolerantes, segundo a Farmacopeia Brasileira, é de no máximo  $10^2$ .

#### 4.4.2 *Pseudomonas aeruginosa*

A partir da diluição D2 (enriquecimento em caldo caseína-soja), foi transferida uma alçada para placas de Petri contendo ágar Cetrimide, onde foi semeada por esgotamento. As placas foram incubadas a  $32,5 \pm 2,5$  °C por 18 - 72 horas. Levando-se em consideração que as colônias de *P. aeruginosa* apresentam aspectos variados, cada colônia com morfologia diferenciada e/ou que apresentou uma coloração esverdeada no meio, foi transferida para ágar tripticaseína soja (TSA) inclinado e incubadas de  $32,5 \pm 2,5$  °C durante 18 - 24 horas, para posteriores testes de identificação bioquímica. O produto cumpriu o teste quando não houve crescimento microbiano ou quando as provas de identificação bioquímica foram negativas para *P. aeruginosa*.

- **Identificação bioquímica:**

Após o período de incubação, as culturas bacterianas que cresceram em TSA inclinado, foram submetidas aos seguintes ensaios:

- **Coloração de Gram**

Os esfregaços das culturas fixadas em lâmina foram submetidos ao método de coloração de Gram. As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentam-se como bastonetes Gram negativos (KONEMAN, 2008).

- **Citocromo oxidase**

Após o crescimento em TSA foi transferida uma colônia, com alça bacteriológica de platina ou bastão de madeira estéril, para uma tira de papel de filtro impregnada com solução de N,N dimetil-p-fenilenodiamino:

- Teste positivo: Desenvolvimento de coloração rosa à púrpura em 10 a 30 segundos.
- Teste negativo: Ausência de coloração.

A maioria das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* são positivas para este ensaio (KONEMAN, 2008). Os controles positivos e negativos utilizados para este teste foram, ATCC9027 de *P. aeruginosa* e ATCC 8739 de *E. coli*, respectivamente.

**Nota:** Não foi utilizada alça bacteriológica de níquel-cromo, pois esta poderia interferir no ensaio, gerando um resultado falso-positivo.

#### – Detecção de fluoresceína

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, foi transferida uma alçada das culturas para um tubo contendo ágar para detecção de fluoresceína que foi incubado de  $32,5 \pm 2,5$  °C por 18-24 horas. A fluorescência do ágar foi examinada sob luz ultravioleta, no comprimento de onda de 254 nm.

A maioria das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* produz fluoresceína (KONEMAN, 2008). Os controles positivos e negativos utilizados para este teste foram, ATCC9027 de *P. aeruginosa* e ATCC 6538 de *S. aureus*, respectivamente.

#### – Detecção de piocianina

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, foi transferido 1ml de clorofórmio para a superfície de uma placa de ágar Cetrimide contendo a cultura suspeita (previamente incubada durante 24 horas) de *Pseudomonas aeruginosa*. O clorofórmio foi removido para um tubo de ensaio (13 x 100 mm) e foi observada se houve a coloração do mesmo, onde:

- Coloração azul - Presença de piocianina.
- Incolor - Ausência de piocianina.

A maioria das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* são positivas para esta prova (KONEMAN, 2008). Os controles positivo e negativo utilizados para este teste foram, ATCC9027 de *P. aeruginosa* e ATCC 6538 de *S. aureus*, respectivamente.

#### – Crescimento a $42 \pm 1$ °C

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, foi transferida uma alçada das culturas para tubos contendo caldo BHI (Brain Heart Infusion). Os tubos foram incubados a  $42 \pm 1$ °C em banho termostático durante  $48 \pm 3$  horas.

As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentam crescimento à 42°C (KONEMAN, 2008). Os controles positivos e negativos utilizados para este teste foram, ATCC9027 de *P. aeruginosa* e ATCC 6538 de *S. aureus*, respectivamente.

#### 4.4.3 *Staphylococcus aureus*

A partir da diluição D2 (enriquecimento em caldo caseína-soja) foi transferida uma alçada para placas de Petri contendo ágar Sal Manitol, onde foi semeada por esgotamento e posteriormente incubada a  $32,5 \pm 2,5$  °C durante aproximadamente 48 horas. Após a incubação, foi verificado se houve o crescimento de colônias sugestivas de *Staphylococcus aureus*, caracterizadas por colônias amarelas ou brancas rodeadas por uma zona amarela, que indicará a presença provável de *S. aureus* (KONEMAN, 2008). Nas placas que apresentaram estas características, a colônia sugestiva foi transferida para ágar tripticaseína soja (TSA) inclinado e incubadas de  $32,5 \pm 2,5$  °C durante 18 - 24 horas, para posteriores testes de identificação bioquímica. O produto cumpriu o teste quando não houve crescimento microbiano ou quando as provas de identificação bioquímica foram negativas para *S. aureus*.

- **Identificação Bioquímica**

Após o período de incubação, as culturas bacterianas que cresceram em TSA inclinado, foram submetidas aos seguintes ensaios:

- **Coloração de Gram**

Os esfregaços das culturas fixadas em lâmina foram submetidos ao método de coloração de Gram. As cepas de *Staphylococcus aureus* apresentam-se como cocos Gram positivos isolados ou em agrupamentos semelhantes a cachos de uvas (KONEMAN, 2008).

- **Utilização anaeróbica da glicose**

Foi inoculada, em profundidade, uma alçada do crescimento em TSA, em um tubo (13x100 mm) contendo 3ml de caldo para fermentação de glicose. O meio foi coberto com 0,3ml de óleo mineral estéril e incubado  $32,5 \pm 2,5$  °C por 24 a 48 horas.

A modificação da cor do meio de verde para amarelo, significou a degradação da glicose em anaerobiose. A maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* são positivas para esta prova (KONEMAN, 2008). Os controles positivo e negativo utilizados para este teste foram, ATCC 6538 de *S. aureus* e ATCC 11568 de *B. diminuta*, respectivamente.

#### – Prova da Catalase

Com o auxílio de uma alça de níquel-cromo, foi transferida uma colônia do crescimento das culturas em TSA inclinado, para uma lâmina de vidro limpa e desengordurada, onde foi adicionada uma gota de peróxido de hidrogênio a 30%.

A avaliação dos resultados foi realizada utilizando-se os seguintes critérios:

- Positivo – Ocorreu formação de bolhas, indicando a presença da enzima.
- Negativo – Não ocorreu formação de bolhas, indicando a ausência da enzima.

As cepas de *Staphylococcus aureus* possuem a enzima catalase (KONEMAN, 2008). Os controles positivos e negativos utilizados para este teste foram, ATCC9027 de *P. aeruginosa* e INCQS 00198 de *S. epidermidis*, respectivamente.

#### – Teste da Coagulase

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, uma colônia escolhida foi inoculada em tubo contendo caldo infusão de cérebro e coração (BHI) e incubados de  $32,5 \pm 2,5$  °C por 18 a 24 horas. Foi transferido 0,3 mL da cultura em caldo BHI para um tubo (13 X 100 mm) contendo igual volume de plasma de coelho com EDTA, que foi homogeneizado e posteriormente incubado em banho termostático regulado entre 45-50°C.

A avaliação dos resultados foi realizada utilizando-se os seguintes critérios:

- Positivo - Presença de coágulo rígido que não será deslocado quando o tubo for invertido.
- Negativo - Ausência de coágulo após 24 horas de incubação.

As cepas de *S. aureus* são coagulase positivas. Os controles positivos e negativos utilizados para este teste foram, ATCC6538 de *S. aureus* e INCQS 001998 de *S. epidermidis*, respectivamente.

#### – Desoxirribonuclease

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, foi escolhida uma colônia que foi semeada pontualmente em placa de Petri contendo ágar Desoxirribonuclease, paralelamente com os respectivos controles positivo e negativo, ATCC 6538 de *S.aureus* e ATCC 8739 de *E.coli*, e incubadas de  $32,5 \pm 2,5$  °C por 18 a 24 horas. Após a incubação, foi adicionada uma solução de ácido clorídrico 1N;

A formação de zona incolor ao redor do crescimento indicou reação positiva (presença da enzima Desoxirribonuclease na cepa testada). A maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* são positivas para este ensaio (KONEMAN, 2008).

#### 4.4.4 *Salmonella* sp.

A partir da diluição D2 (enriquecimento em caldo caseína-soja), foi transferido 0,1ml para tubo contendo 10ml de Caldo Enriquecimento *Salmonella* Rappaport Vassiliadis, que foi incubado a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 18 a 24 horas. Após o período de incubação foram realizadas subculturas em placas de Petri contendo meio seletivo e indicador de Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) que foram incubadas a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 18 a 48 horas. O crescimento de colônias bem desenvolvidas, vermelhas com ou sem centro negro indicou presença provável de *Salmonella* sp (KONEMAN, 2008).

Nas placas que apresentaram estas características, a colônia sugestiva foi transferida para ágar tripticaseína soja (TSA) inclinado e incubadas de  $32,5 \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 18 - 24 horas, para posteriores testes de identificação bioquímica. O produto cumpriu o teste quando não houve crescimento microbiano em nenhum dos meios utilizados ou quando as provas de identificação bioquímica foram negativas para *Salmonella* sp.

- **Identificação Bioquímica**

Após o período de incubação, algumas colônias isoladas em TSA inclinado, foram submetidas aos seguintes ensaios:

- **Coloração de Gram**

Os esfregaços das culturas fixadas em lâmina foram submetidos ao método de coloração de Gram. As cepas de *Salmonella* sp apresentam-se como bastonetes Gram negativos (KONEMAN, 2008).

- **Utilização de açúcares, produção de gás e produção de H<sub>2</sub>S**

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, uma colônia suspeita foi semeada no meio de ágar tríplex açúcar ferro (TSI) em profundidade e foram feitas estrias na superfície inclinada utilizando uma agulha bacteriológica, seguido por um período de incubação de 18 - 24 horas a  $32,5 \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

As cepas de *Salmonella* sp desenvolvem-se neste meio tornando a superfície alcalina (vermelha) e a base ácida (amarela) com ou sem produção de gás e/ou escurecimento do meio (produção de H<sub>2</sub>S) (KONEMAN, 2008). Os controles positivos e negativos utilizados foram respectivamente, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 e *P. aeruginosa* e ATCC 6538.

#### – Descarboxilação da lisina, arginina e ornitina

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, uma alçada da cultura suspeita foi inoculada em caldo lisina, arginina e ornitina, separadamente. Os tubos foram cobertos, inclusive os controles, com 0,3 mL de óleo mineral estéril e posteriormente incubados de 32,5 ± 2,5 °C por 24-96 horas.

As cepas de *Salmonella* sp apresentam reação alcalina (cor púrpura) em todo o meio, com ou sem produção de gás ou H<sub>2</sub>S (KONEMAN, 2008). Os controles positivos utilizados para lisina, arginina e ornitina foram, *S. marseellus* ATCC 13637, *P. aeruginosa* ATCC00230 e *P. mirabilis* ATCC29906, respectivamente. Já os controles negativos para o mesmo meio foram, *E. cloacae* ATCC 13047, *Morganella morganii* ATCC8019 e *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, respectivamente.

#### – Produção de urease

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, uma cultura suspeita foi semeada no meio de ágar uréia, onde foram realizadas estrias na superfície inclinada. O tubo foi incubado de 32,5 ± 2,5 °C por 24 - 48 horas.

As cepas de *Salmonella* sp não alteram a cor do meio porque são urease negativas (KONEMAN, 2008). Os controles positivos e negativos utilizados foram respectivamente, *S. aureus* ATCC6538 e *E. coli* ATCC8739.

#### 4.4.5 *Escherichia coli*

A partir da diluição D2 (enriquecimento em caldo caseína-soja), foi transferido 1ml do enriquecimento, para 100ml de Caldo Mac Conkey que foi incubado a 43 °C ± 1 °C por 24 - 48 horas. Após o período de incubação, foi transferida uma alçada para placa de Petri contendo ágar MacConkey, onde foi semeada por esgotamento. As placas foram incubadas a 32,5 °C ± 2,5 °C por 24 - 48 horas. As colônias de *E. coli* neste meio devem se apresentar vermelhas e circundadas por um halo de precipitação (KONEMAN, 2008). O produto

cumpriu o teste quando não foi observado o crescimento de colônias ou quando os testes de identificação bioquímica foram negativos para *Escherichia coli*. As colônias sugestivas foram selecionadas e semeadas em tubo contendo ágar TSA inclinado que foram incubados a  $32,5\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$  por 18 - 24 horas.

- **Identificação bioquímica**

Após o período de incubação, algumas colônias isoladas em TSA inclinado, foram submetidas aos seguintes ensaios:

- **Coloração de Gram**

Os esfregaços das culturas fixadas em lâmina foram submetidos ao método de coloração de Gram. As cepas de *E. coli* apresentam-se como bastonetes Gram negativos (KONEMAN, 2008).

- **Morfologia colonial em ágar eosina azul de metileno (EMB)**

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, as culturas suspeitas foram semeadas, por esgotamento, em placas contendo ágar EMB e posteriormente incubadas a  $32,5 \pm 2,5\text{ °C}$  por 18 - 24 horas.

As cepas de *E.coli* desenvolvem colônias escuras com ou sem brilho metálico (KONEMAN, 2008). Os controles positivo e negativo utilizados foram, *E. coli* ATCC8739 e *E. cloacae* ATCC 13047, respectivamente.

- **Prova do indol**

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, foi semeado uma colônia suspeita em um tubo contendo caldo triptona que foi incubado a  $32,5 \pm 2,5\text{ °C}$  por 18 - 24 horas. Foi adicionado 0,5 mL de reagente de Kovacs.

O desenvolvimento de coloração vermelha na superfície do meio irá indicar reação positiva. A maioria das cepas de *E. coli* são indol positiva (KONEMAN, 2008). Os controles positivo e negativo utilizados foram, *E. coli* ATCC8739 e *S. typhimurium* ATCC 14028, respectivamente.

– **Prova de Voges-Proskauer**

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, um tubo contendo caldo vermelho de metila-Voges Proskauer foi semeado e incubado a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  por  $48 \pm 3$  horas. Foi transferido 1ml da cultura para um tubo (13 X 100 mm) e o restante das culturas foi reservado. Foram adicionados 0,6 mL de solução de Alfa-naftol a 5% e 0,2 mL de Hidróxido de Potássio (KOH) a 40% e em seguida foi realizada a agitação do tubo. A leitura foi feita após 2 horas.

O desenvolvimento de coloração rósea indicará reação positiva. As cepas de *E. coli* são negativas para esta prova (KONEMAN, 2008). Os controles positivo e negativo utilizados foram, *E. cloacae* ATCC13047 e *E. coli* ATCC8739, respectivamente.

– **Prova do vermelho de metila**

O restante das culturas obtidas em caldo vermelho de metila-Voges Proskauer foi incubado por mais  $48 \pm 3$  horas a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Foi adicionado 5 gotas de solução de vermelho de metila.

O desenvolvimento de cor vermelha indicou reação positiva. As cepas de *E. coli* são positivas para esta prova (KONEMAN, 2008). Os controles positivo e negativo utilizados foram, *E. coli* ATCC8739 e *P. aeruginosa* ATCC 9027, respectivamente.

– **Utilização do citrato como única fonte de carbono**

Do crescimento das culturas em TSA inclinado, com o auxílio de uma agulha bacteriológica, um leve inóculo das culturas suspeitas foi semeado no meio ágar citrato de Simmons, estriando levemente a superfície inclinada do meio. O tubo foi incubado a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  por até 96 horas.

O crescimento com mudança da cor do meio para azul indicará reação positiva. As cepas de *E. coli* são negativas para esta prova (KONEMAN, 2008). Os controles positivo e negativo utilizados foram, *E. cloacae* ATCC13047 e *E. coli* ATCC8739, respectivamente.

– **Prova da redução de nitrato**

Uma alçada das culturas suspeitas foi inoculada em Caldo Nitrato que foi incubado a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 18 a 24 horas. Após período de incubação foi adicionado 1 mL dos reagentes de Gris A ( $\alpha$ -Naftilamina 0,5% ou Dimetil-L-Naftilamina 0,6%) e B (Ácido Sulfanídrico 0,8%). O desenvolvimento de uma coloração vermelha dentro de 1 a 2 minutos

indicou a presença de nitrito. Não ocorrendo a coloração vermelha pode ter ocorrido duas situações: O nitrato não foi reduzido ou o nitrato foi reduzido a nitrito e este, reduzido a gás nitrogênio livre. Nestes casos, foi adicionado aproximadamente 20mg de pó de Zinco. Quando o nitrato ainda estava presente, foi reduzido pelo zinco e uma coloração vermelha apareceu dentro de 5 a 10 minutos, indicando que não houve a redução de nitrato a nitrito, confirmando o resultado negativo para o teste. Se ocorrer a redução de nitrato a nitrito e este a nitrogênio livre, a cor não se altera, indicando que o teste foi positivo.

As cepas de *E. coli* são positivas para esta prova (KONEMAN, 2008). Os controles positivo e negativo utilizados foram, *E. coli* ATCC8739 e *S. typhimurium* ATCC 14028, respectivamente.

#### 4.4.6 *Candida albicans*

A partir da diluição D1 em caldo caseína-soja, foi transferido 10 mL deste material para 90mL de Caldo Sabouraud Dextrose, que foi incubado a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  por 3 a 5 dias. Após o período de incubação foi transferida uma alçada para placa de Petri contendo Ágar Sabouraud Dextrose, que foi incubada a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 – 48 horas.

O crescimento de colônias brancas em Agar Sabouraud indicou presença provável de *Candida albicans* que foi confirmada por testes de identificação microbiana. O produto cumpriu o teste quando não foi observado o crescimento das colônias ou quando as provas bioquímicas foram negativas para *Candida albicans*.

- **Identificação Bioquímica**

- **Coloração de Gram**

Os esfregaços das culturas fixadas em lâmina foram submetidos ao método de coloração de Gram. Ao observar ao microscópio, a presença de células Gram positivas ovaladas e com brotamento indicou resultado positivo (KONEMAN, 2008).

- **Observação de clamidósporo**

São realizadas 3 estrias paralelas da cultura sobre a superfície do meio de ágar milho com 1% de tween 80 em placas de Petri. Sobre estas estrias são colocadas lamínulas para microscopia estéreis. As placas são incubadas à temperatura de  $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  por 48h. Após isso, realiza-se a observação das lamínulas ao microscópio. As amostras que

apresentam hifas com formação de um ou dois clamidósporos terminais são consideradas *Candida albicans*.

Os controles positivo e negativo utilizados foram, *C. albicans* ATCC10231 e *B. subtilis* ATCC6633, respectivamente.

## 5 RESULTADOS

Através dos resultados obtidos neste estudo, foi possível observar um panorama de grande importância para a saúde, no que diz respeito à qualidade dos medicamentos homeopáticos obtidos de farmácias de manipulação e de uma indústria farmacêutica, em um bairro do município do Rio de Janeiro. A escolha de apenas uma indústria farmacêutica homeopática se deve ao fato desta ser a única indústria disponível para venda em lojas físicas e de fácil acesso à população. Além disso, havia a necessidade de padronizar o medicamento escolhido a fim de obter uma comparação mais precisa entre eles.

No teste de verificação da capacidade inibitória dos medicamentos, realizado concomitantemente à contagem dos microrganismos viáveis totais, pesquisa de patógenos e GNBT, nenhum medicamento apresentou capacidade de inibir o crescimento dos microrganismos padrões utilizados, quando colocados em contato com a amostra testada. Sendo assim, não houve necessidade de utilizar nenhum método para a remoção da capacidade inibitória.

Do total de amostras analisadas foi observado um índice de reprovação de 50% (25 amostras), sendo 34% reprovadas apenas no teste de contagem (30% por presença de bactérias aeróbias e 26% para bolores e leveduras), 38% reprovadas por presença de algum patógeno e 48% pela presença de bactérias GNBT acima do limite permitido.

Como é possível observar no **Gráfico 1** e também nas **Tabelas 4, 5 e 6**, três amostras (30%), do total das dez amostras oriundas da **indústria farmacêutica homeopática A**, estavam acima do limite máximo estabelecido pela Farmacopeia, tanto para bactérias aeróbias com duas amostras (20%), quanto para bolores e leveduras com três amostras (30%). Dentre estas, duas (20%) apresentaram resultados positivos para presença de patógenos que neste tipo de medicamento deveria ser nula. Foram encontrados nas duas amostras os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e em uma destas foi encontrada presença de *Candida albicans*, além da presença de bactérias Gram negativas bile tolerantes nas três (30%) amostras reprovadas.

A **farmácia de manipulação B** já obteve uma quantidade mais elevada de reprovação geral das amostras, com um total de cinco amostras (50%). Destas, apenas três (30%) foram acima do limite na contagem de bactérias aeróbias, e apenas uma (10%) foi acima na contagem de bolores e leveduras. Com relação aos patógenos, duas amostras (20%) apresentaram contaminação, uma por *Salmonella* sp. e outra por *Staphylococcus aureus* sendo esta última uma amostra que tinha sido aprovada na contagem de microrganismos viáveis

totais. Foi encontrado também, quatro amostras (40%) acima do limite para bactérias GNBT, sendo uma delas uma amostra que também tinha sido aprovada na contagem de microrganismos viáveis totais.

Na **farmácia de manipulação C**, foi possível observar o mesmo percentual de reprovação total das amostras (50%). Duas amostras (20%) foram reprovadas na contagem de bactérias aeróbias e duas foram reprovadas na contagem de bolores e leveduras, sendo uma destas uma amostra que tinha sido aprovada na contagem de bactérias aeróbias. Quatro amostras (40%) apresentaram presença de patógenos sendo três com *Escherichia coli* e uma com *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, e dentre estas, três amostras tinham sido aprovadas na contagem de microrganismos viáveis totais. Foram encontradas cinco amostras acima do limite de bactérias GNBT, com duas delas previamente aprovadas da contagem total de microrganismos viáveis.

Houve um aumento de 10% no total de reprovação nas amostras da **farmácia de manipulação D** em relação a farmácia C, com seis amostras reprovadas (60%). Quatro amostras (40%) apresentaram uma contagem acima do permitido para bactérias aeróbias e dentre estas, três (30%) apresentaram também contagem acima do permitido para bolores e leveduras. Em relação aos patógenos, seis amostras (60%) apresentaram presença de microrganismos não permitidos para este tipo de produto, tendo a *Pseudomonas aeruginosa* presente em cinco amostras. Dentre estas cinco amostras, apenas uma possuía apenas *P. aeruginosa*, três delas tiveram concomitantemente a presença de *S. aureus* e uma amostra estava associada com a presença de *C. albicans*. Em umas das amostras apenas o patógeno *E. coli* foi encontrado e em todas as seis amostras também foi observada presença de GNBT acima do limite máximo permitido. Duas amostras que foram reprovadas por presença de patógeno foram aprovadas considerando somente a contagem de microrganismos viáveis totais.

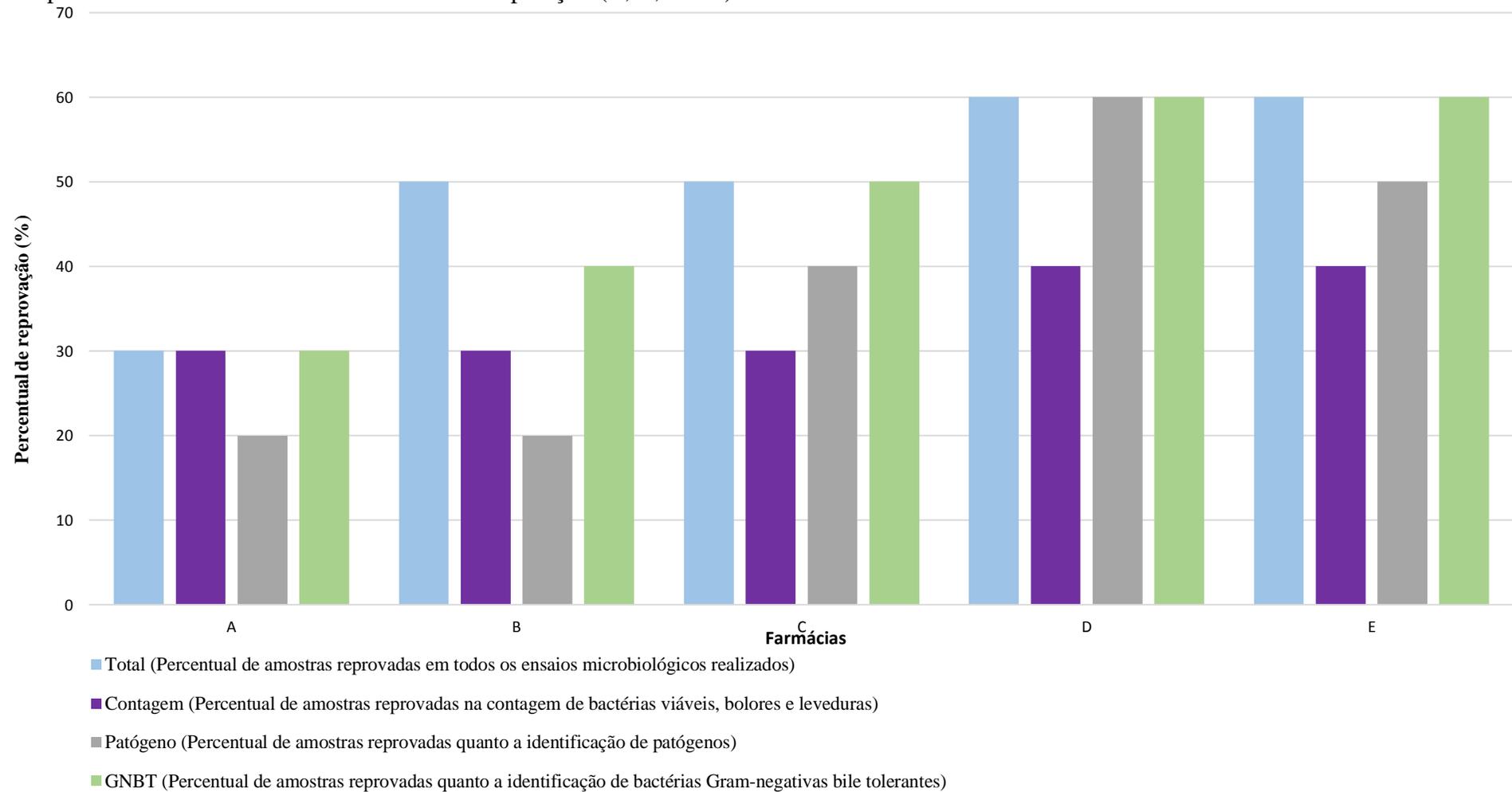
Na **farmácia de manipulação E**, foi encontrado o mesmo percentual de reprovação da farmácia D, com seis amostras (60%) reprovadas no total. Um total de quatro amostras (40%) estavam acima do limite permitido nas contagens tanto de bactérias aeróbias, quanto de bolores e leveduras. A presença de patógenos foi observada em cinco amostras (50%), três com presença de *S. aureus*, nas quais duas apresentaram concomitância com *P. aeruginosa* e duas com *E. coli* (uma delas apresentava os três patógenos). Das outras duas amostras reprovadas, uma apresentava somente *E. coli* e outra apenas *Salmonella* sp. Todas as seis amostras reprovadas estavam acima do limite permitido para GNBT. Duas amostras que

foram aprovadas previamente na contagem de microrganismos viáveis totais, foram posteriormente reprovadas por presença de patógenos e/ou GNBT.

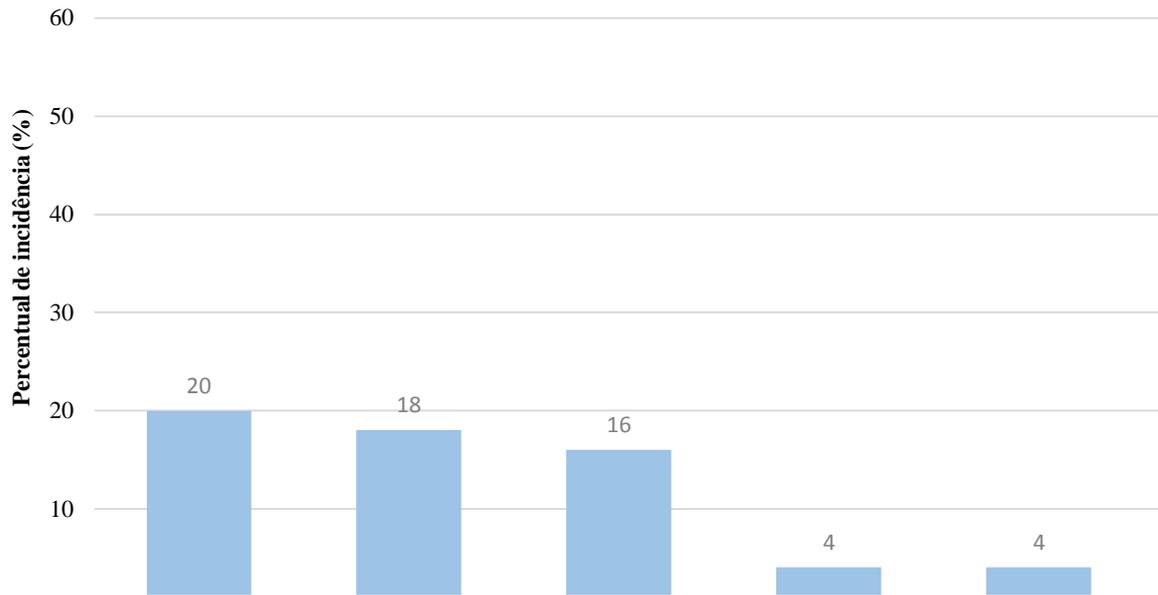
Podemos observar no **Gráfico 2**, o percentual de incidência de cada microrganismo pesquisado, no total das cinquenta amostras que fizeram parte deste estudo. As bactérias Gram negativa Bile Tolerantes tiveram a maior prevalência nas amostras (48%), seguida por *S. aureus* (20%), *E. coli* (18%), *P. aeruginosa* (14%), *Salmonella* sp. e *C. albicans* (4% cada).

Não foram utilizados métodos estatísticos nas comparações das amostras, pois não houve possibilidade de obtenção de lotes diferentes, nas farmácias de manipulação, para que fosse possível uma comparação estatisticamente comprovada. Apesar disso, é notável a diferença no percentual de reprovação total e em cada teste, entre os medicamentos homeopáticos industriais e manipulados, frente aos testes preconizados pela Farmacopeia Brasileira de 2010. Como é possível ser observado no **Gráfico 3** e **Tabela 6** encontramos um índice de reprovação 25% maior nos medicamentos manipulados, quando comparado com os industriais, levando em consideração a reprovação total em todos os testes realizados. Na contagem de microrganismos viáveis totais a diferença entre os dois tipos de medicamento foi bem menor, com 5% a mais de reprovação dos medicamentos manipulados. Em relação a presença de patógenos e GNBT, houve novamente um aumento no índice de reprovação em ambos os casos, com uma diferença de 22,5% a mais nos medicamentos manipulados. Sendo assim, em todos os testes foi possível observar um percentual de reprovação mais elevado nos medicamentos homeopáticos oriundos de farmácias de manipulação.

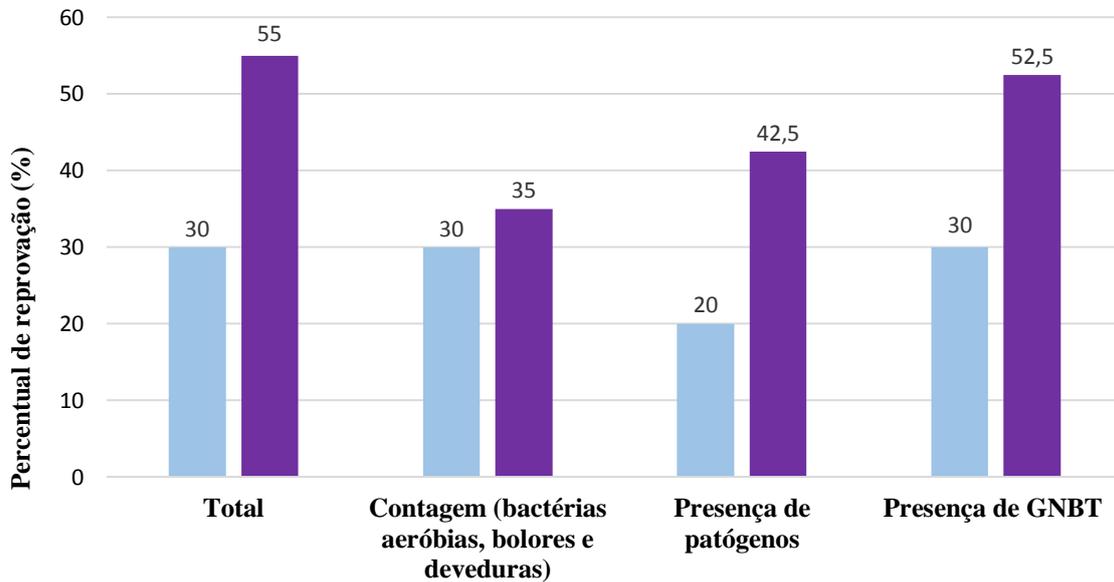
**Gráfico 1.** Percentual de reprovação em todos os testes realizados para as 10 amostras do laboratório farmacêutico (A) e para as 10 amostras de cada farmácia de manipulação (B, C, D e E).



**Gráfico 2.** Incidência dos patógenos e GNBT no total de amostras



**Gráfico 3.** Comparação do percentual de reprovação total e em cada teste, entre as 10 amostras do medicamento industrial e a média aritmética das 40 amostras referentes às 4 farmácias de manipulação.



- Industrial (Percentual de reprovação nas 10 amostras do medicamento industrial)
- Manipulado (Percentual referente à média aritmética do total de reprovação em cada uma das 4 farmácias de manipulação)

**Tabela 4.** Resultados apresentados na contagem de bactérias aeróbias, bolores e leveduras, patógenos identificados e presença de GNBT, nas 50 amostras testadas, oriundas de um laboratório farmacêutico (10 amostras) e 4 farmácias de manipulação (10 amostras de cada).

Amostras	UFC/g do produto			GNBT		
	Bactérias Aeróbias	Bolores e Leveduras	Patógenos Identificados	x10 <sup>1</sup>	x10 <sup>2</sup>	x10 <sup>3</sup>
A01	<10	<10	-	-	-	-
A02	<10	<10	-	-	-	-
A03	3,2 x10 <sup>5</sup>	>10 <sup>3</sup>	<i>S. aureus, C. albicans, E.coli</i>	+	+	+
A04	5 x10 <sup>3</sup>	2,2 x10 <sup>2</sup>	-	+	+	+
A05	<10	<10	-	-	-	-
A06	<10	<10	-	-	-	-
A07	3,5 x10 <sup>4</sup>	3 x10 <sup>2</sup>	<i>S. aureus, E. coli</i>	+	+	+
A08	<10	<10	-	-	-	-
A09	<10	<10	-	-	-	-
A10	<10	<10	-	-	-	-
B01	6,7 x10 <sup>5</sup>	5x10 <sup>2</sup>	-	+	+	+
B02	<10	<10	-	-	-	-
B03	1,6 x10 <sup>5</sup>	3,5 x10 <sup>1</sup>	-	-	-	-
B04	8,5 x10 <sup>5</sup>	1,5 x10 <sup>1</sup>	<i>Salmonella sp.</i>	+	+	+
B05	2,5x10 <sup>3</sup>	<10	<i>S. aureus</i>	+	+	+
B06	6,5 x10 <sup>3</sup>	<10	-	-	-	-
B07	<10	<10	-	-	-	-
B08	<10	<10	-	-	-	-
B09	1,5 x10 <sup>3</sup>	<10	-	+	+	+

Amostras	UFC/g do produto						
	Bactérias Aeróbias	Bolores e Leveduras	Patógenos Identificados	GNBT			
				x10 <sup>1</sup>	x10 <sup>2</sup>	x10 <sup>3</sup>	
B10	<10	<10	-	-	-	-	
C01	1,5 x10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>2</sup>	-	+	+	+	
C02	5 x10 <sup>2</sup>	<10	-	-	-	-	
C03	<10	<10	-	-	-	-	
C04	<10	<10	-	-	-	-	
C05	9 x10 <sup>4</sup>	5 x10 <sup>3</sup>	<i>E. coli</i>	+	+	+	
C06	<10	<10	-	-	-	-	
C07	6 x10 <sup>3</sup>	<10	<i>E. coli</i>	+	+	+	
C08	8,5 x10 <sup>3</sup>	<10	<i>E. coli</i>	+	+	+	
C09	<10	<10	-	-	-	-	
C10	>10 <sup>5</sup>	<10	<i>S. aureus, P. aeruginosa</i>	+	+	+	
D01	>10 <sup>5</sup>	<10	<i>E. coli</i>	+	+	+	
D02	<10	<10	-	-	-	-	
D03	5 x10 <sup>2</sup>	<10	-	-	-	-	
D04	<10	<10	-	-	-	-	
D05	5,5 x10 <sup>4</sup>	1,5 x10 <sup>3</sup>	<i>S. aureus, P. aeruginosa</i>	+	+	+	
D06	<10	<10	-	-	-	-	
D07	1,1 x10 <sup>4</sup>	<10	<i>S. aureus, P. aeruginosa</i>	+	+	+	
D08	4,7 x10 <sup>5</sup>	>10 <sup>3</sup>	<i>P. aeruginosa, C. albicans</i>	+	+	+	
D09	1,7 x10 <sup>4</sup>	<10	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	
D10	5 x10 <sup>5</sup>	2 x10 <sup>3</sup>	<i>S. aureus, P. aeruginosa</i>	+	+	+	
E01	>10 <sup>5</sup>	5x10 <sup>3</sup>	<i>E. coli</i>	+	+	+	
E02	5 x10 <sup>1</sup>	<10	-	-	-	-	

Amostras	UFC/g do produto					
	Bactérias Aeróbias	Bolores e Leveduras	Patógenos Identificados	GNBT		
				x10 <sup>1</sup>	x10 <sup>2</sup>	x10 <sup>3</sup>
E03	7 x10 <sup>3</sup>	<10	<i>Salmonella sp.</i>	+	+	+
E04	1,5 x10 <sup>4</sup>	<10	<i>S. aureus, E. coli</i>	+	+	+
E05	9 x10 <sup>3</sup>	3x10 <sup>1</sup>	-	-	-	-
E06	2 x10 <sup>2</sup>	<10	-	-	-	-
E07	1,1 x10 <sup>5</sup>	3,5x10 <sup>3</sup>	-	+	+	+
E08	>10 <sup>5</sup>	1,5 x10 <sup>3</sup>	<i>S. aureus, P. aeruginosa</i>	+	+	+
E09	>10 <sup>5</sup>	3 x10 <sup>3</sup>	<i>S. aureus, P. aeruginosa, E. coli</i>	+	+	+
E10	3,5 x10 <sup>1</sup>	<10	-	-	-	-

Fonte: Próprio autor

Legenda: GNBT – Gram Negativos Bile Tolerantes; UFC – Unidades Formadoras de Colônias

**Tabela 5.** Conclusão dos resultados de cada teste realizado nas 50 amostras testadas oriundas de um laboratório farmacêutico (10 amostras) e 4 farmácias de manipulação (10 amostras de cada).

Amostras	UFC/g do produto			
	Bactérias Aeróbias	Bolores e Leveduras	Patógenos Identificados	GNBT
A01	A	A	A	A
A02	A	A	A	A
A03	R	R	R	R
A04	A	R	A	R
A05	A	A	A	A
A06	A	A	A	A
A07	R	R	R	R
A08	A	A	A	A
A09	A	A	A	A
A10	A	A	A	A
B01	R	R	A	R
B02	A	A	A	A
B03	R	A	A	A
B04	R	A	R	R
B05	A	A	R	R
B06	A	A	A	A
B07	A	A	A	A
B08	A	A	A	A
B09	A	A	A	R
B10	A	A	A	A
C01	A	R	A	R
C02	A	A	A	A
C03	A	A	A	A
C04	A	A	A	A
C05	R	R	R	R
C06	A	A	A	A
C07	A	A	R	R
C08	A	A	R	R

Amostras	UFC/g do produto			
	Bactérias Aeróbias	Bolores e Leveduras	Patógenos Identificados	GNBT
C09	A	A	A	A
C10	R	A	R	R
D01	R	A	R	R
D02	A	A	A	A
D03	A	A	A	A
D04	A	A	A	A
D05	R	R	R	R
D06	A	A	A	A
D07	A	A	R	R
D08	R	R	R	R
D09	A	A	R	R
D10	R	R	R	R
E01	R	R	R	R
E02	A	A	A	A
E03	A	A	R	R
E04	A	A	R	R
E05	A	A	A	A
E06	A	A	A	A
E07	R	R	A	R
E08	R	R	R	R
E09	R	R	R	R
E10	A	A	A	A

Legenda: A - Aprovado; R - Reprovado; GNBT - Gram Negativas Bile Tolerantes; UFC – Unidades Formadoras de Colônias.

**Tabela 6.** Percentual de reprovações em cada teste, reprovação geral em cada estabelecimento e reprovação total das cinquenta amostras testadas dos cinco estabelecimentos.

<b>Percentual de reprovação em cada teste</b>				
<b>Farmácias</b>	<b>Bactérias Aeróbias</b>	<b>Bolores e Leveduras</b>	<b>Patógenos Identificados</b>	<b>GNBT</b>
A	20%	30%	20%	30%
B	30%	10%	20%	40%
C	20%	20%	40%	50%
D	40%	30%	60%	60%
E	40%	40%	50%	60%

<b>Farmácias</b>	<b>Percentual de reprovação por farmácia</b>
A	30%
B	50%
C	50%
D	60%
E	60%

<b>Percentual de reprovação total</b>
50%

Legenda: GNBT - Gram Negativas Bile Tolerantes

## 6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho foram baseados nos limites estipulados pela 3ª edição da Farmacopeia Homeopática Brasileira de 2011, que no item relacionado à avaliação do controle microbiológico de produtos não estéreis, remete à última versão da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010). Na metodologia descrita pela mesma para contagem total de bactérias aeróbias, fungos e leveduras e pesquisa de patógenos, é possível observar uma tabela que especifica os limites máximos tanto para contagem quanto para presença de patógenos. Os limites são diferentes dependendo do tipo de produto (tipos substâncias que compõem o produto) e da via de sua administração, cabendo ao analista encontrar onde o seu produto se enquadra e saber os limites para seu tipo de produto.

Segundo a tabela da Farmacopeia Brasileira, os microrganismos com ausência obrigatória em 1g do produto estudado são *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, ausência em 10g para *Salmonella* e limite máximo de  $10^2$  para GNBT. Porém, na parte onde é descrito o procedimento metodológico para pesquisa de patógenos encontra-se mais microrganismos do que a tabela estabelece. Os patógenos *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* estão incluídos na metodologia de pesquisa de patógeno para medicamentos (drágeas, comprimidos, tabletes, etc.) não estéreis, porém não tem seus limites máximos descritos na tabela. Apesar da pesquisa de *Clostridium botulinum* ser realizada apenas para produtos comercializados na forma de pós, o que não é o caso dos produtos testados neste estudo, o limite máximo para presença deste microrganismo também não é descrito na tabela da Farmacopeia Brasileira. Contudo, no final da metodologia de pesquisa, para cada microrganismo, é possível observar a seguinte frase no item de interpretação dos resultados: “O produto cumpre o teste se não for observado o crescimento de tais colônias ou se as provas de identificação forem negativas”. Sendo assim, apesar de não ter os limites especificados na tabela de limites microbianos, a pesquisa de *P. aeruginosa* e *C. albicans* foi realizada e a interpretação de seus resultados foi feita segundo a descrição da metodologia de ambos. Mesmo assim é possível que haja erros de interpretação na metodologia que se apresenta sempre muito confusa e algumas vezes contraditória, podendo levar a pessoa que a consulta a realizar testes incompletos devido à falta de clareza nas instruções oferecidas.

Outro problema observado em relação à metodologia da Farmacopeia foi o fato de que é descrito na mesma que após o crescimento de uma alíquota da diluição determinada nos meios de cultura seletivos para pesquisa dos respectivos patógenos, é necessária a realização

de provas bioquímicas confirmatórias para todos os patógenos pesquisados. Contudo, quando observa-se a metodologia de *Candida albicans*, em vez de conter a mesma frase utilizada para todos os outros patógenos no item de interpretação de resultados, observamos apenas a frase: “O produto cumpre o teste se não for observado o crescimento das colônias.”, levando novamente a possíveis interpretações duvidosas quanto à metodologia, pois não haveria necessidade de testes de confirmação bioquímica da espécie já que apenas o crescimento de colônias na placa de Ágar Sabouraud Dextrose faz com que o produto não cumpra o estabelecido pela Farmacopeia. Além disso, não havia descrição ou citação das provas bioquímicas necessárias para identificação de cada patógeno pesquisado, sendo necessário utilizar o POP N° 65.3210.008 de 2014 do INCQS, que dispõe sobre a metodologia completa para “Pesquisa de patógenos em produtos não estéreis e matérias primas de uso em sua fabricação e água para diálise”, a fim de complementar a metodologia encontrada na Farmacopeia Brasileira.

Visando a qualidade final dos produtos farmacêuticos, a ANVISA exige que as empresas tenham implantadas as boas práticas de fabricação conforme as normas técnicas oficialmente estabelecidas no país, sendo os ensaios de controle de qualidade microbiológicos um deles (YAMAMOTO et al., 2004). A Farmacopeia Brasileira é considerada uma destas normas oficiais, assim como a RDC nº 67 que dispõe sobre “Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias”, havendo a necessidade de que estas estejam sempre claras, explicativas, coerentes e sempre atualizadas de acordo com os avanços tecnológicos, como um primeiro passo para garantia da qualidade na confecção de produtos e isso infelizmente não pode ser observado na Farmacopeia Brasileira quando utilizada como parâmetro para a realização dos testes deste estudo.

Devido a impossibilidade de obtenção de amostras do mesmo lote nas farmácias de manipulação, não foi possível realizar uma análise estatística dos resultados. Ao todo foram analisadas 50 amostras diferentes de um mesmo medicamento homeopático para asma/bronquite asmática, oriundo de 5 estabelecimentos diferentes: uma indústria farmacêutica (10 amostras) e quatro farmácias de manipulação (40 amostras).

Do total de amostras analisadas foi observado um índice de reprovação de 50% (25 amostras) levando-se em consideração para a reprovação as amostras que se apresentaram acima dos limites máximos estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira nos testes de contagem total de microrganismos viáveis (bactérias aeróbias e bolores/leveduras), presença de patógenos e presença de GNBT. Quando observamos a reprovação isolada de cada teste,

temos uma percepção ainda maior da importância de utilizar vários tipos de testes até que o produto seja aprovado e liberado para o consumidor, pois o número de produtos reprovados, nos testes isolados, foi menor do que o observado quando se considera todos os testes. Um total de 34% de amostras foram reprovadas apenas no teste de contagem (30% por presença de bactérias aeróbias e 26% para bolores e leveduras), 38% reprovadas por presença de algum contaminante patogênico. Os patógenos encontrados foram: *Staphylococcus aureus* (20%), *Escherichia coli* (18%), *Pseudomonas aeruginosa* (16%), *Salmonella* sp. (4%) e *Candida albicans* (4%). Além disso, 48% das amostras foram reprovadas por presença de GNBT acima do limite máximo estabelecido pela farmacopeia.

Quando comparamos o índice de reprovação entre os medicamentos homeopáticos provenientes da indústria farmacêutica com os de farmácia de manipulação, pudemos observar que em todos os testes o índice de reprovação foi bem maior nas farmácias do que na indústria. O percentual de reprovação em todos os testes, levando em consideração apenas os medicamentos da indústria farmacêutica homeopática, foi de 30% enquanto que considerando apenas os produtos de farmácias de manipulação este percentual sofreu um aumento de 25%, indo para um total de 55% de amostras reprovadas. Este resultado pode ser elucidado por diversas possibilidades tendo como base comum o fato de que a indústria farmacêutica dispõe de um investimento financeiro muito maior que o das farmácias de manipulação.

Sendo assim, é possível que a matéria prima obtida pela indústria seja de melhor qualidade, a quantidade obtida dessa matéria prima é maior na indústria, fato que diminui a possibilidade de uma carga microbiana transmitida por contaminação do operador. Provavelmente, a maior automatização da indústria farmacêutica tendo cada vez menos processos que tenham a necessidade de uma manipulação direta do produto por algum operador, diminui a possibilidade desse tipo de contaminação. Além disso, a melhor infraestrutura de laboratórios, estocagem e transporte da indústria, o investimento em novas técnicas de otimização e qualidade da produção, a possibilidade de contratação de mão de obra qualificada e de treinamentos frequentes de BPM oferecida aos funcionários, equipes de limpeza qualificada, capacidade de realizar todos os testes especificados na RDC nº 67 de BPM, E uma maior fiscalização da ANVISA e etc., são fatores que possivelmente tiveram uma influência direta na qualidade final dos produtos obtidos pela indústria, justificando a discrepância observada entre seu índice de reprovação quando comparado com o da farmácia de manipulação (BARBOSA, 2001; YAMAMOTO et al., 2004; ANDRADE et al., 2005;

MARTINELLI et al., 2005; FIORENTINO et al., 2008; ALVES et al., 2009; WEBER; FRASSON, 2009; ALMEIRA; FILHO, 2010).

Do total das 50 amostras estudadas, das 19 reprovadas pela presença de algum tipo de patógeno, apenas 8 apresentavam somente uma única espécie de microrganismo contaminante. A maioria apresentava concomitantemente dois (8 amostras) ou três (2 amostras) patógenos diferentes. O fato de uma amostra apresentar mais de um patógeno é ainda mais preocupante, levando-se em consideração o potencial risco de aquisição de um quadro de infecção ou intoxicação por transferência de toxinas produzidas pelos microrganismos, em um medicamento que será administrado a pessoas debilitadas incluindo crianças, idosos e imunodeprimidos, que não possuem o sistema imunológico tão eficiente, (PINTO; KANEKO; OHARA, 2000). Mesmo que a contaminação do produto não leve a um quadro infeccioso no paciente, pode resultar no comprometimento do produto final pela degradação, inativação e oxidação de alguns componentes da fórmula, fazendo com que o produto não tenha mais sua função original, não levando à melhora do paciente (SILVA; SILVA, 2012).

O microrganismo que foi isolado com uma frequência mais elevada neste estudo foi o *Staphylococcus aureus*, com uma prevalência de 52,6% (10 amostras) entre as amostras reprovadas pela presença de algum tipo de patógeno. A maior probabilidade é de que a presença deste microrganismo tenha se originado a partir de portadores assintomáticos na hora da manipulação (MEDEIROS et al., 2007). Isto pode ter ocorrido através da perda de escamas do corpo, visto que em atividades normais essa perda é da ordem de 104 por minuto (PINTO; KANEKO; OHARA, 2000). Como *Staphylococcus aureus* faz parte da microbiota normal de adultos saudáveis, pode ser encontrado em várias partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e na pele (MARQUES; MOREIRA, 2009). Segundo Amaral (2010), *S. aureus* é encontrado entre 10 e 40% das superfícies corporais dos seres humanos testados, sendo encontrado com maior frequência nas fossas nasais (AMARAL, 2010). Outros estudos relacionados a qualidade dos produtos de farmácias de manipulação, também encontraram a presença deste patógeno, inclusive como o mais prevalente em alguns casos (YAMAMOTO et al., 2004; MEDEIROS et al., 2007; MARQUES; MOREIRA, 2009; FARIA et al., 2012).

*Staphylococcus aureus* é uma das bactérias mais importantes, pois além da sua importância clínica com o aumento de quadros graves de infecções hospitalares por cepas multirresistentes (MRSA) aos antibióticos existentes, também podem causar diversos quadros

de infecções desde localizadas até disseminadas, como por exemplo: bacteremia, intoxicação alimentar, síndrome do choque tóxico e etc. (McCARTHY et al., 2015)

Os outros dois patógenos mais prevalentes, entre as amostras reprovadas apenas neste quesito, foram *Escherichia coli* (47,1%) e *Pseudomonas aeruginosa* (42,1%). Principal causa de infecção intestinal em diversos países, *E. coli* faz parte da microbiota normal do intestino de indivíduos saudáveis, sendo eliminada pelas fezes em grandes quantidades e raramente causa infecções em indivíduos saudáveis. Sua transmissão ocorre sempre de maneira fecal-oral, seja através da ingestão de alimentos ou água contaminados ou em situações como levar a mão e objetos contaminados à boca (TEIXEIRA, 2008a). Com isso, possivelmente esta contaminação teve origem na falta de assiduidade dos hábitos de higiene do operador, que quando não é realizada eficientemente pode transmitir uma carga microbiana elevada ao produto (PINTO; KANEKO, 2003; MARQUES; MOREIRA, 2009).

Já *P. aeruginosa* pode ser encontrado nos mais diversos ambientes como: solo, água, vegetais, animais, alimentos e em diversos ambientes e objetos hospitalares, devido a sua enorme capacidade de adaptação à condição do meio, tendo uma preferência maior por ambientes úmidos (TEIXEIRA, 2008a). Sendo assim, durante o processo de produção do medicamento manipulado, a fonte mais provável de contaminação por este patógeno é a água, seja a utilizada para realizar as diluições das matérias-primas ou utilizada para lavagem de vidrarias e equipamentos utilizados, onde este microrganismo cresce e consegue se manter relativamente bem.

Vários estudos relatam a contaminação da água como uma das principais fontes de contaminação sendo necessário que se tenha um controle da qualidade da mesma, visto que os valores determinados para a água utilizada em processos farmacêuticos é de 100 UFC/g para microrganismos viáveis totais com ausência de *P. aeruginosa*, coliformes fecais e totais (MARQUES; MOREIRA, 2009; SILVA; SILVA, 2012). Porém, como se trata de um medicamento composto tendo diversas matérias-primas como origem, e este microrganismo possui uma alta capacidade de adaptação a ambientes diversificados, é possível que a contaminação também tenha se originado de uma baixa qualidade das matérias-primas utilizadas na confecção do medicamento (AMARAL, 2010).

Assim como *E. coli*, também faz parte dos principais causadores de infecção hospitalar, têm sua importância clínica elevada devido a sua capacidade de resistência natural e/ou adquirida a diversos antimicrobianos, levando a um tratamento difícil da infecção com frequentes falhas terapêuticas. Os principais quadros de infecções observados são no trato

respiratório superior e inferior, meningites, septicemia, gastrointestinais, etc. (TEIXEIRA, 2008a).

Os dois patógenos menos prevalentes encontrados neste estudo foram: *Salmonella* sp. e *Candida albicans*, tendo cada um deles um índice de 10,5% entre as amostras reprovadas apenas por presença de algum contaminante microbiológico. *Salmonella* sp. pode ser encontrada em água potável e alimentos quando há uma contaminação fecal-oral por um portador (assintomático ou não) do microrganismo, tendo como principais veículos de transmissão a ingestão de alimentos (principalmente de origem animal) e água contaminados (HURLEY et al., 2014). Sendo assim, as possíveis vias de contaminação do medicamento por este patógeno podem ser a água utilizada nos processos, bem como as condições de higiene do manipulador (PINTO; KANEKO; OHARA, 2000; MEDEIROS et al., 2007). Este gênero possui vários subgrupos, e os de maior relevância clínica podem causar quadros de: intoxicação alimentar, gastroenterite, infecção aguda da mucosa intestinal, febre tifoide e etc. (TEIXEIRA, 2008a).

Fungo que pode ser encontrado como parte da microbiota humana, a *Candida albicans* pode ser isolada da boca, tubo digestivo, intestino, vagina e até na pele de indivíduos saudáveis, sendo possivelmente transmitida ao medicamento neste estudo, por alguma falha de manipulação do operador (ALVES et al., 2009; CRISEO; SCORDINO; ROMEO, 2015). Em indivíduos que apresentam algum quadro debilitante, pode causar infecções como a candidíase, que pode aparecer na boca, na pele e nos órgãos genitais, podendo inclusive se tornar invasiva (CRIS; SCORDINO; ROMEO, 2015).

Apesar dos numerosos avanços na área científica, raras são as publicações que tenham como foco a avaliação microbiológica de produtos comercializados em farmácias de manipulação (MEDEIROS et al., 2007). Em todo o período de pesquisa bibliográfica deste trabalho, não foi encontrado nenhum estudo relacionado especificamente à avaliação microbiológica de medicamentos homeopáticos sólidos. Isto ressalta ainda mais a relevância e importância deste trabalho, pois além da escassez de informação e conhecimento da qualidade microbiológica desses medicamentos, os poucos trabalhos encontrados que avaliaram produtos diversos oriundos de farmácias de manipulação encontraram um índice de contaminação elevado e relativamente semelhante ao encontrado neste trabalho.

O estudo cujo tema mais se assemelha ao abordado neste trabalho, foi realizado por Sá e colaboradores em Goiânia no ano de 2007, onde foi feita a análise microbiológica de medicamentos homeopáticos hidroalcoólicos. Foram utilizadas duas concentrações de álcool

nos medicamentos, 30% e 70%. Todas as amostras que tiveram sua dinamização realizada com solução de 70% de álcool estavam de acordo com as especificações da farmacopeia, porém as amostras que utilizaram uma solução de 30% de álcool apresentaram um índice de reprovação de 28,57%, sendo que uma dessas amostras reprovadas possuía matéria prima de origem animal, o que pode ter contribuído para a elevada carga microbiana.

Um estudo realizado em farmácias de manipulação na Paraíba sobre a análise de contaminantes microbiológicos em amostras de medicamentos e cosméticos, 44,5% das amostras apresentaram contagem de microrganismos viáveis acima do limite especificado pela farmacopeia, e 22,2% apresentaram presença de patógeno, sendo eles *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. (MEDEIROS et al., 2007). Outro estudo que visava determinar os microrganismos mais predominantes em protetor solar produzidos em farmácias de manipulação em um município de Minas Gerais, tiveram 38% das amostras fora de conformidade segundo os parâmetros da legislação vigente na contagem de microrganismos viáveis totais. Em relação a presença de patógenos, 53,84% das amostras estavam contaminadas por *Staphylococcus aureus* e dentre estas, 7,69% também estavam contaminadas por *Pseudomonas aeruginosa* (MARQUES; MOREIRA, 2009). Já em um trabalho realizado em um município de São Paulo sobre o mesmo tema, obteve um resultado significativamente inferior com um índice de reprovação total de apenas 14,28%, sendo encontrada na mesma amostra limites acima da contagem de microrganismos totais superior ao limite permitido e por presença de *Salmonella* sp (SÁ et al., 2015).

Yamamoto e colaboradores (2004) desenvolveram um trabalho sobre o controle microbiológico de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos produzidos na Zona da Mata, tanto por indústrias farmacêuticas quanto por farmácias de manipulação. Do total das 25 empresas produtoras, cujos produtos foram analisados, 40% (10) apresentaram falhas no atendimento às especificações quanto à presença de contaminantes acima do limite especificado. Porém, do total das 240 amostras analisadas, apenas 7,7% estavam fora dos limites aceitáveis na contagem de microrganismos viáveis e 1,2% de reprovação por presença de patógeno, sendo eles *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Em Curitiba, foi realizada outra análise microbiológica, de três formulações magistrais, que apresentaram um índice de contaminação de patógeno de 33,3%, sendo *Salmonella* sp. o gênero identificado. Apesar desta contaminação, todas as amostras estavam dentro da conformidade para contagem total de microrganismos viáveis com placas apresentando pouco crescimento de colônias (SILVA; SILVA, 2012).

Apesar dos produtos homeopáticos serem muito distintos dos fitoterápicos, como a avaliação microbiológica independe do processo de produção, é válida uma comparação dos índices de contaminação encontrados, visto que ambos os produtos utilizam matéria-prima de origem vegetal em sua composição. Um estudo realizado no Rio de Janeiro onde foram analisadas 30 amostras de produtos fitoterápicos, encontrou 22 amostras (73,33%) com contagem de microrganismos viáveis acima dos limites permitidos e 17 (56,67%) amostras apresentaram presença de patógeno sendo 16 com *Escherichia coli* e 2 com *Staphylococcus aureus*. A avaliação de presença de GNBT mostrou-se insatisfatória em 63,3% das amostras, sendo encontradas outras 19 espécies de microrganismos diferentes dos que a farmacopeia exige a ausência total, porém a maioria deles foram identificados como patógenos oportunistas que poderiam apresentar riscos à saúde dos consumidores (FARIA et al., 2012).

Este foi o único estudo de análise microbiológica encontrado sobre o assunto, que também analisou a presença de GNBT em suas amostras tendo um resultado, inclusive, superior ao encontrado no presente estudo. Com exceção de uma única amostra, todas as outras analisadas que estavam acima do limite permitido pela farmacopeia para GNBT, também foram reprovadas na contagem de microrganismos viáveis totais e/ou por presença de algum patógeno. Isto mostra que os resultados encontrados para GNBT foram condizentes com os outros testes realizados neste trabalho.

Tanto no presente estudo, como nos outros aqui discutidos, três patógenos principais se destacaram como os contaminantes mais recorrentes em produtos oriundos de farmácias de manipulação: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Diversos fatores já citados anteriormente nos fazem conjecturar sobre as possíveis formas de transmissão desses patógenos ao produto final. Levando em consideração o tipo de medicamento do estudo, o fato de que eles são produzidos, geralmente, em farmácias de manipulação, e as características dos microrganismos encontrados, as vias de contaminação mais prováveis são: contaminação das matérias primas e da água utilizada em alguma etapa do processo de produção e as condições de higiene dos operadores.

A grande dificuldade encontrada no controle de qualidade do produto final confeccionado em farmácias de manipulação, pelo fato de ser produzido em uma única unidade para o consumidor (ALMEIDA; FILHO, 2010), é um fator que torna ainda mais essencial a utilização obrigatória das legislações vigentes (Farmacopeia Brasileira e RDC nº67) como uma maneira de prevenção de contaminação em todas as etapas de confecção do produto. Essa obrigatoriedade de implementação das normas de boas práticas de manipulação

é fundamental, devido a necessidade de identificação e avaliação dos pontos críticos de contaminação, visando a correção do problema a fim de se obter produtos de excelente qualidade, estabilidade e confiança (SILVA; SILVA, 2012). Esta qualidade do produto final é diretamente influenciada por diversos fatores, inclusive, pela carga microbiana original presente na matéria-prima utilizada ou adquirida durante alguma das etapas do processo de desenvolvimento do produto, e pela concentração de resíduos químicos presentes nas superfícies onde o produto teve contato direto. Sendo assim, a sanitização e até mesmo esterilização no caso de alguns equipamentos, são fundamentais nos processos produtivos, pois a credibilidade de uma empresa é proporcional a qualidade observada em seu produto final (AMARAL, 2010).

Por isso, todos os procedimentos envolvidos na confecção de um produto manipulado devem ser monitorados, pois a qualidade dos mesmos precisa ser assegurada por um rígido controle de qualidade, desde as matérias-primas utilizadas, controle do meio ambiente e instalações, equipamentos, recursos humanos, manipulação, até o armazenamento, conservação, embalagem e transporte, garantindo assim a eficácia, segurança e credibilidade dos produtos finais dispensados à população (ALVES et al., 2009).

A contaminação microbiana nas farmácias de manipulação, pode ser proveniente de várias origens, tendo como principais a qualidade da matéria-prima, qualidade da água utilizada em todas as etapas e a manipulação do operador (YAMAMOTO et al., 2004; PARKER; HODGES, 2005; MARQUE; MOREIRA, 2009; SILVA; SILVA, 2012). Além das principais fontes, diversas outras situações decorrentes de falha no controle de qualidade dos procedimentos pode ser observado, como: qualidade da embalagem, limpeza do local de armazenamento das matérias-primas e dos produtos finais, contaminação microbiana dos produtos de limpeza, utilização de equipamentos e vidrarias mal higienizadas, temperatura elevada do ambiente, auxiliando na proliferação de microrganismos, ar ambiente contaminado devido à falta de limpeza nos filtros de ar, etc. (VENERANDA, 2003; ALVES et al., 2009; MARQUES; MOREIRA, 2009; WEBER; FRASSON, 2009; AMARAL, 2010; SILVA; SILVA, 2012).

Apesar da necessidade primordial da implantação das BPM em todas as farmácias de manipulação, estas ainda encontram dificuldades financeiras para aquisição de equipamentos básicos para melhoria das técnicas utilizadas, contratação de mão de obra qualificada, treinamento contínuo desses profissionais, adaptação do ambiente laboratorial para os padrões necessários e etc. (BARBOSA, 2001), mas que aos poucos vem conseguindo se adequar e

inserir todas as exigências estabelecidas pela ANVISA, com a RDC nº67, nos seus estabelecimentos (ALVES et al., 2009). Mesmo com todos os aspectos que favorecem as indústrias farmacêuticas a desenvolver um produto final com uma qualidade diferenciada e melhorada, o resultado deste estudo mostrou que nesta indústria homeopática o índice de reprovação ainda foi muito elevado para o tipo de produto produzido, necessitando ainda de uma análise interna para verificação dos pontos críticos de contaminação no estabelecimento.

Contudo, ainda é extremamente necessário que um controle mais rigoroso seja realizado por parte dos órgãos reguladores, baseado em um sistema de garantia de qualidade mais refinado, sendo abordadas estratégias para a sustentabilidade dos estabelecimentos (ALMEIDA; FILHO, 2010) como: disponibilização de cursos de atualização, oferecidos pela ANVISA, das técnicas e normas mais recentes utilizadas, disponibilidade de profissionais qualificados em controle de qualidade de matérias primas que possam abordar sobre o assunto aos fornecedores possibilitando sua adequação ao padrão de qualidade, maior periodicidade de inspeções nos estabelecimentos e etc. Tornando-se assim mais focado em abordar questões do processo produtivo como os principais riscos e causas dos desvios de qualidade e a imprecisão dos equipamentos e das técnicas utilizadas, e menos baseado em uma extensa documentação que muitas vezes não se traduz em uma melhoria na qualidade do produto (ALMEIDA; FILHO, 2010).

Ainda são muito escassos os trabalhos referentes à qualidade microbiológica de produtos manipulados, principalmente os que abordem especificamente aos medicamentos homeopáticos (MEDEIROS et al., 2007). Este tipo de medicamento está sendo cada vez mais procurado pelos consumidores (BREUNER, 2002), e as pesquisas sobre a qualidade desses produtos devem acompanhar este aumento, a fim de garantir a qualidade, eficácia e segurança de produtos que serão administrados a pessoas que possuem algum quadro debilitante.

## 7 CONCLUSÃO

A Farmacopeia Brasileira é confusa e muitas vezes contraditória e pouco explicativa, podendo levar o leitor a cometer erros nos testes necessários para que se tenha um controle de qualidade eficiente, evidenciando a necessidade de uma nova atualização

As amostras de medicamento homeopático, produzidos e comercializados tanto na indústria farmacêutica, quanto nas 4 farmácias de manipulação do município do Rio de Janeiro, apresentaram desvios de qualidade quanto ao controle de produção, visto que o produto final apresentou altos índices de contaminação e presença de patógenos. Quando comparado com o mesmo produto oriundo da indústria farmacêutica homeopática, houve uma pequena diferença no percentual de reprovação dos medicamentos industrializados, indicando que a indústria consegue manter um controle um pouco mais eficiente que o das farmácias de manipulação.

Do total de 50 amostras analisadas, oriundas de uma indústria farmacêutica (10 amostras) e 4 farmácias de manipulação (10 amostras de cada), foi observado um índice de reprovação de 50%, dentre os quais foi observada contagem de UFC acima do permitido pela legislação vigente para bactérias aeróbias, bolores e leveduras, identificação da presença dos patógenos *S. aureus*, *E.coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *C. albicans* e presença de GNBT acima dos limites permitidos. Acarretando assim, um potencial risco de contaminação para o consumidor imunocomprometido que pode estar ingerindo um medicamento com presença de patógenos oportunistas, que podem causar quadros de infecção.

Devido ao alto índice de contaminação encontrado nas amostras deste estudo, ainda é necessário que se tenha uma melhor implementação das BPM e BPF nestes estabelecimentos, além de uma maior fiscalização da ANVISA, visando melhorar a qualidade do produto final.

Mais estudos sobre a qualidade de produtos oriundos de farmácias de manipulação são necessários, visto que a homeopatia é uma especialidade médica em crescimento e a qualidade dos produtos utilizados nesta prática necessita aumentar proporcionalmente a sua procura.

## 8 REFERÊNCIAS

- ABERER, W.; STROHAL, R. Homeopathic preparations: Severe adverse effects, unproven benefits. **Dermatologica**, n.182, p.253, 1991.
- ALMEIDA, M. L. C.; FILHO, A. P. N. Análise das cápsulas manipuladas segundo a RDC 67/2007 da ANVISA/MS para a garantia da qualidade. **Brazilian Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 91, p. 119-125, 2010.
- ALVES, A. P. *et al.* Avaliação das boas práticas de manipulação nas farmácias com manipulação de Cuiabá e Várzea Grande, Estado de Mato Grosso. **Brazilian Journal of Pharmacy**, v. 1, n. 90, p. 75-80, 2009.
- AMARAL, F. D. Análise de riscos e pontos críticos de contaminação microbiana na manipulação de produtos e insumos farmacêuticos. **LUCAPE**, 2010. Disponível em: <[http://lucapeconsultores.com/artigos/analise\\_de\\_risco.pdf](http://lucapeconsultores.com/artigos/analise_de_risco.pdf)>. Acesso em: 08 mar. 2015.
- ANDERSEN, J. L. *et al.* Multidrug Efflux Pumps from Enterobacteriaceae, Vibrio cholerae and Staphylococcus aureus Bacterial Food Pathogens. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 12, p. 1487-1547, 2015.
- ANDRADE, F. R. O. *et al.* Análise microbiológica de matérias primas e formulações farmacêuticas magistrais. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 38-44, 2005. Disponível em: <<https://revistas.ufg.br/index.php/REF/article/download/1948/1882>>. Acesso em: 08 mar. 2015
- BAIRD, C. **Química Ambiental**, 2ª Ed., Porto Alegre, Editora Bookman, Página 435, 2002.
- BARBOSA, E. RDC 33 sob fogo cruzado. **Pharm. Bras.**, v. 24, n. 1, p. 13-16, 2001.
- BARROS, N. F. A construção de novos paradigmas na medicina: a medicina alternativa e a medicina complementar. In: CANESQUI, A. M. (Org.). **Ciências Sociais e Saúde para o Ensino Médico**. São Paulo: Ed. Hucitec; p. 201-216, 2000.
- BLANCHARD, A. C.; QUACH, C.; AUTMIZGUINE, J. Staphylococcal Infections in Infants Updates and Current Challenges. **Clin. Perinatol.**, n. 42, p. 119-132, 2015.
- BRAGANZA, S.; OZUAH, P.O.; SHARIF I. The use of complementary therapies in inner-city asthmatic children. **Journal of Asthma**, v. 40, n. 7, p. 823-827, 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 31, de 15 de abril de 2005. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em farmácias. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 abr. 2005, Seção 1, p. 1-85.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, 5ª Ed., vol. 1. Brasília: ANVISA, 2010.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Homeopática Brasileira**, 3ª Ed., vol. 1. Brasília: ANVISA, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 67, de 08 out. 2007a. Dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em Farmácias e seus anexos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 09 out. 2007a, Seção 1, p. 1-58.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 354, de 18 de dez. 2003a. Dispõe sobre os critérios adicionais de Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos em farmácias. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 dez. 2003a, Anexo I.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 214, de 12 dez. 2006a. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre boas práticas de manipulação de medicamentos para uso Humano em farmácias. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 dez. 2006a, Seção 1, p. 1-33.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 33, de 19 abr. 2000. Regulamento Técnico Que Institui As Boas Práticas De Manipulação Em Farmácias. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 19 ago. 2000, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. A homeopatia que queremos implantar no SUS. **Relatório do 1º Fórum Nacional de Homeopatia**. Brasília: Ed MS, DF, p. 12-14, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 26, de 30 mar. 2007b. Dispõe sobre o registro de medicamentos dinamizados industrializados homeopáticos, antroposóficos e anti-homotóxicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2 abr. 2007b, Seção 1, p. 57-62.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29 mai. 2003b. Determina a publicação do guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2 jun. 2003b, Seção 1, p. 56-59.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 37, de 6 jul. 2009a. Trata da admissibilidade das farmacopeias estrangeiras. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 jul. 2009a, Seção 1, p. 40.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº5, de 11 abr. 2007c. Dispõe sobre os limites de potências para registro e notificação de medicamentos dinamizados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 13 abr. 2007c, Seção 1, p. 72.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº71, de 22 dez. 2009b. Estabelece regras para rotulagem de medicamentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 dez. 2009b, Seção 1, p. 75-80.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº47, de 8 set. 2009c. Estabelece regras para elaboração, harmonização, atualização, publicação e disponibilização de bulas de medicamentos para pacientes e para profissionais de saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 set. 2009c, Seção 1, p. 31-36.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS**. Brasília, DF, Série B. Textos Básicos de Saúde, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. ABC do SUS: Doutrinas e Princípios. Brasília, DF, p. 1-10, dez. 1990.

BREUNER, C.C. Complementary Medicine in Pediatrics: A Review of Acupuncture, Homeopathy, Massage and Chiropractic Therapies. **Current Issue Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**, v. 32, p. 353-384, 2002.

CAMPOS, G. W. S. Considerações sobre a arte e a ciência da mudança: revolução das coisas e reforma das pessoas o caso da saúde. In: CECÍLIO, L. C. O. (org). **Inventado a mudança na saúde**. São Paulo: Ed. Hucitec, p. 333, 1994.

CÉSAR, A.T. As Maneiras de Dinamizar os Medicamentos Homeopáticos: Semelhanças e Diferenças. **Revista Cultura Homeopática**, n. 5, p. 25-41, 2003.

CONSELHO REGIONAL DE MINAS GERAIS. Preconceito reduz aceitação de remédio manipulado. Disponível em <<http://www.crfmg.org.br>> Acesso em: 08 mar. 2015.

CORRÊA, A.D. Samuel Hahnemann. **Sci. Med.**, n. 1, p. 68-70, 1995.

CORREA, A.D.; QUINTAS, L.E.M. Princípios e conceitos atuais da medicina homeopática. **Revista da Associação Médica Brasileira**, n. 51, p. 914-920, 1994.

CORREA, A.D. *et al.* *Similia Similibus Curentur*: revisitando aspectos históricos da homeopatia nove anos depois. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, v. 13, n. 1, p. 13-31, 2006.

CORREA, A.D.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; QUINTAS, L.E.M. *Similia Similibus Curentur*: notação histórica da medicina homeopática. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 4, p. 347-351, 1997.

CRISEO, G.; SCORDINO, F.; ROMEO, O. Current methods for identifying clinically important cryptic *Candida* species. **J. Microbiol. Methods.**, v. 111, p. 50-56, 2015

CROXEN, M. A. *et al.* Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 26, n. 4, p. 822-880, 2013.

DEAN, M.E. More trials, fewer placebos, please. **British Homoeopathic Journal**, v. 89, p. 191–194, 2000.

DIAS, J. S.; MELO, A.C.; SILVA, E.S. Homeopatia: percepção da população sobre significado, acesso, utilização e implantação no SUS. **Revista Espaço Para A Saúde**, Londrina, v. 15, n. 2, p. 58-67, 2014.

EISENBERG, D.M. *et al.* Unconventional medicine in the United States: prevalence, costs and pattern of use. **The New England Journal of Medicine**, v. 328, n. 4, p. 246-252, 1993.

EKINS-DAUKES, S. *et al.* Paediatric homeopathy in general practice: where, when and why? **The British Journal of Clinical Pharmacology**, Aberdeen, v. 6, n. 59, p. 743-749, 2004.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. Fitoterapia na atenção primária à saúde. São Paulo: Manole, 2001.

ERLEWYN-LAJEUNESSE, M. Homeopathic medicines for children. **Archives of Disease in Childhood**, Southampton, v. 97, n. 2, p. 135-138, 2011.

FARIA, S. M. *et al.* Avaliação da contaminação microbiana em fitoterápicos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 549-556, 2012.

FAVERO, M.S. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* growth in distilled water from hospitals. **Science**, New York, v. 173 p. 836-838, 1971.

FIORENTINO, F. A. M. *et al.* Análise Microbiológica de Embalagens para o Acondicionamento de Medicamentos e Cosméticos. **Latin American Journal of Pharmacy**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 757-761, 2008.

FREITAS, F. J. A homeopatia no tratamento da asma. **Rev. Inst. Hahnemanniano do Brasil**, v. 1, n. 1, p. 22-29, 1992.

GALHARDI, W. M. P.; BARROS, N. F.; LEITE-MOR, A. C. M. B. O conhecimento de gestores municipais de saúde sobre a Política Nacional de Prática Integrativa e Complementar e sua influência para a oferta de homeopatia no Sistema Único de Saúde local. **Ciência & Saúde Coletiva**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 213-220, 2013.

GALHARDI, W.M.P.; BARROS, N.F. The teaching of homeopathy and practices within Brazilian Public Health System (SUS). **Interface - Comunic., Saúde, Educ.**, Jundiaí, v. 12, n. 25, p. 247-266, 2008.

DAVISON, G. C.; ROSEN, R. C. Lobeline and reduction of cigarette smoking. **Psychological Reporter**, v. 31, n. 2, p. 443-456, 1972.

HOMEOPATAS dos pés descalços. **Blatta Orientalis e Blatta Americana**. Disponível em: <<http://homeopatiaparamulheres.blogspot.com.br/2011/08/blatta-orientalis-e-blatta-americana.html>>. Acesso em: 01 mar. 2015.

HURLEY, D. *et al.* Salmonella–host interactions – modulation of the host innate immune system. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. 481, p. 1-11, 2014.

KIRKHAM, J. J. *et al.* The impact of outcome reporting bias in randomised controlled trials on a cohort of systematic reviews. **British Medical Journal**, Liverpool, v. 15, p. 340-365, 2010.

KIRSCH, I. *et al.* Initial severity and antidepressant benefits: a meta-analysis of data submitted to the Food and Drug Administration. **PLoS Med.**, United Kingdom, v.5, n. 2, p. 260-268, 2008.

KLEIJNEN, J. What research is needed to show the effectiveness of homeopathy? **British Homoeopathic Journal**, University of York, v. 89, p. S1-S2, 2000.

KLEIJNEN, J.; KNIPSCHILD, P.; TER RIET, G. Clinical trials of homeopathy. **British Medical Journal**, The Netherlands, v.9 , n. 302, p. 316-323, 1991.

LAVERTY, G.; GORMAN, S. P.; GILMORE, B. F. Biomolecular Mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* Biofilm Formation. **Pathogens**, v. 3, p. 596-632, 2014.

LIMA, A. C.; BEM, P. N. I. Tratamento Homeopático da Asma Infantil. **Rev. Pesq. Inov. Farm.**, São Paulo, v.2, n.1, p. 62-71, 2010.

LINDE, K.; MELCHART, D. Randomized controlled trials of individualized homeopathy: a state-of-the-art review. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, Germany, v. 4, n. 4, p. 371-388, 1998.

LINDE, K. *et al.* Are the clinical effects of homeopathy placebo effects? A meta-analysis of placebocontrolled trials. **Lancet**, Germany, v. 20, n. 350, p. 834-843, 1997.

LUDTKE, R.; RUTTEN, A.L. The conclusions on the effectiveness of homeopathy highly depend on the set of analyzed trials. **The Journal of Clinical Epidemiology**, Germany, v. 61, p. 1197-1204, 2008.

MADSEN, H. *et al.* Use of complementary/alternative medicine among paediatric patients. **European Journal of Pediatrics**, USA, v. 162, p. 334-341, 2003.

MANUAL DA QUALIDADE. Pesquisa de patógenos em produtos não estéreis e matérias-primas de uso em sua fabricação e água para diálise. Rev. 14. In: **MANUAL da Qualidade**. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, nº 65.3210.008, 2014.

MARQUES, M. F.; MOREIRA, M. L. Análises microbiológicas de protetor solar manipulado nas farmácias magistrais do município de Ipatinga/MG. **Revista Brasileira de Farmacologia**, Minas Gerais, v. 90, n. 2, p. 137-143, 2009.

MARTINELLI, H. K. *et al.* Avaliação do controle de qualidade realizado nas farmácias de manipulação e homeopáticas de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Sci. Health Sci.**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 137-143, 2005.

MASÁK, J. *et al.* *Pseudomonas* biofilms: possibilities of their control. **FEMS Microbiol Ecol.**, v. 89, n. 1, p. 1-14, 2014.

MATTOS, R. A. Princípios do Sistema Único de Saúde (SUS) e a humanização das práticas de saúde. **Interface, Comunicação, Saúde e Educação**, v. 13, supl. I, p. 771-780, 2009.

McCARTHY, H. *et al.* Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *Staphylococcus aureus*. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, Irlanda, v. 5, n.1, p. 1-9, 2015.

MEDEIROS, A. C. D. *et al.* Análise de contaminantes microbiológicos em produtos comercializados em farmácia de manipulação. **Rev. Biol. Farm.**, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2007.

MELO, D.O.; RIBEIRO, E.; STORPIRTIS, S. A importância e a história dos estudos de utilização de medicamentos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, p. 475-485, 2006.

MIRANDA, S. C. *et al.* Influência da homeopatia na qualidade de vida de seus usuários. **Revista de Enfermagem**, Rio de Janeiro, n. 13, p. 313-318, 2005.

MONTOYA-CABRERA, M.A. *et al.* Mercury poisoning caused by a homeopathic drug. **Gac. Med. Mex.**, n.127, p. 267-270, 1991.

MORAIS, J. O Poder das Bolinhas. **Revista Superinteressante**, n. 172, jan. 2002. São Paulo : Ed. Abril; 2002. Disponível em : <<http://super.abril.com.br/ciencia/poder-bolinhas-442591.shtml>>. Acesso em : 09 mar. 2015.

MOREIRA, M.C.; MARQUES, R.F.O; ARAUJO, A.C.M.M. Registro e notificação de medicamentos dinamizados. In: VIEIRA, F.P.; REDIGUIERI, C.F & REDIGUIERI, C.F. (Orgs). **A Regulação de Medicamento no Brasil**. Porto Alegre: Ed. Artmed, p.120-130, 2013.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Medica**. 4a. Ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara-Koogan S.A., p.193, 2006.

NARAYANAN, L. A.; EDELMANN, M. J. Ubiquitination as an efficient molecular strategy employed in *Salmonella* infection. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. 558, p. 1-7, 2014.

NIMGULKAR, C. C.; PATIL,; KUMAR, B. D. Anti-asthmatic and anti-anaphylactic activities of *Blatta orientalis* mother tincture. **Homeopathy**, Índia, v. 100, n. 3, p. 138-143, 2010.

NOBRE, A. M. A homeopatia no Brasil: sua evolução e a contribuição de Joaquim Murtinho. São Paulo: Ed. Farmácia Murtinho, 1942.

NOVAES, J. Matéria Médica dos Sais de Schussler. **Disponível em:** <<http://materiamedicahomeopatica.blogspot.com.br/2010/03/sais-de-schussler.html>>. Acesso em: 09 mar. 2015.

OBERBAUM, M.; VITHOULKAS, G.; VAN HASELEN, R. Clinical trials of classical homeopathy: reflections on appropriate research designs. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, Jerusalem, v. 9, n. 1, p. 105-111, 2003.

OHARA, M.T.; SAITO, T. Contaminação Microbiana em Soluções para Uso Oral. **Revista Brasileira de Farmácia e Bioquímica**, João Pessoa, v. 20, n. 1, p. 17-27, 1984.

OLIVEIRA, A. B.; ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D. A utilização de medicamentos homeopáticos na região metropolitana de Curitiba. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 151-158, 2004.

OLSEN, I. Attenuation of *Candida albicans* virulence with focus on disruption of its vacuole functions. **J. Oral Microbiol.**, v. 6, p. 1-6, 2014.

PARKER, M.; HODGES, N. Contaminação microbiológica e conservação de produtos farmacêuticos. In: AULTON, M. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª Ed. Porto Alegre: Ed. Artmed, p. 659-668, 2005.

PATEL, S.; McCORMICK, B. A. Mucosal inflammatory response to Salmonella typhimurium infection. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. 311, p. 1-10, 2014.

PEIXOTO, E. M. A. Elemento Químico: Sódio. **Química nova na escola**; v. 10, 1999.

PEZZUOL, I. D. *et al.* Estudo comparativo de eficácia e custo entre tratamento homeopático e clássico em casos de enxaqueca, rinite e asma. **Homeopatia Brasileira**, São Paulo, v. 3, n. 3, p. 430-433, 1997.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. Controle Biológico da Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 53- 95, 2005.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2ª Ed. São Paulo: Ed. Atheneu, p. 325, 2003.

PINTO, T.J.A; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. São Paulo: Ed. Atheneu, p. 75-96, 2000.

PLANTAS medicinais e fitoterapia. **Grindelia robusta**. Disponível em: <<http://www.plantasmedicinaisefitoterapia.com/plantas-medicinais-grindelia.html>>. Acesso em: 08 mar. 2015a.  
 PLANTAS medicinais e fitoterapia. **Lobelia: Benefícios e propriedades medicinais**. Disponível em: <<http://www.plantasmedicinaisefitoterapia.com/lobelia-inflata.html>>. Acesso em: 09 mai. 2015b.

RANG, H.P. *et al.* Sistema Respiratório. In: **Farmacologia**. 7ª Ed., Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, cap. 27, p. 336-345, 2012.

REZNIK, M. *et al.* Use of complementary therapy by adolescents with asthma. Arch. Pediatr. Adolesc. Med., v. 156, p. 1042-1044, 2002.

SÁ, F. A. S. *et al.* Análise microbiológica de medicamentos homeopáticos hidroalcoólicos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 89-91, 2007. Disponível em: <<https://revistas.ufg.br/index.php/REF/article/viewFile/12503/8222>>. Acesso em: 09 mar. 2015.

SANTOS, A. P. O.; LIMA, L. S.; WANDERLEY, A. G. Comparação entre o tratamento farmacológico aplicado em crianças de zero a cinco anos atendidas em uma unidade de emergência e as diretrizes do III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma. **J. Bras. Pneumol.**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 7-14, 2007.

SANTOS, N. R. Política Pública de Saúde no Brasil; encruzilhada, buscas e escolhas de rumos. **Cienc. Saude Colet.**, v. 13, supl. 2, p. 911-918, 2009.

SANTOS, P. R. V.; OLIVEIRA, A. C. X.; TOMASSINI, T. C. B. Controle Microbiológico de produtos Fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmácia e Bioquímica**, v. 3, n. 1, p. 35 - 38, 1995.

SHAW, A. *et al.* Predictors of complementary therapy use among asthmas patients: results of a primary care survey. **Health Soc. Care Community**, Bristol, v. 16, n. 2, p. 155-164, 2008.

SHENFIELD, G.; LIM, E.; ALLEN, H. Survey of the use of complementary medicines and therapies in children with asthma. **J. Paediatr. Child Health**, v. 38, p. 252-257, 2002.

SIDORA-ARCOLEO, K. *et al.* Complementary and alternative medicine use in children with asthma: Prevalence and sociodemographic profile of users. **J. Asthma**, v. 44, p. 169-175, 2007.

SILVA, D. M.; DOMINGUES, L. On the track for an efficient detection of *Escherichia coli* in water: A review on PCR-based methods. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 113, p. 400-411, 2015.

SILVA, M. F. & SILVA, L. L. Análise microbiológica de três formulações magistrais. **Cadernos da Escola de Saúde**, Curitiba, v. 2, n. 6, p. 117-130, 2012.

SILVA, M. J. P.; BENKO, M. A. O uso das terapias alternativas por enfermeiros docentes. **Ver. Bras. Enferm.**, v. 51, n. 3, p. 457-468, 1998.

SIMPSON, N.; ROMAN, K. Complementary medicine use in children: extent and reasons. A population-based study. **Br. J. Gen. Pract.**, Bath, v. 51, n.472, p. 914-916, 2001.

SIQUEIRA-BATISTA, R. O espírito helênico: o poeta, o filósofo e o médico na Grécia Antiga. **Revista Brasileira de Filosofia**, v. 52, n. 212, p. 465-484, 2003.

SIQUEIRA-BATISTA, R. O nascimento da clínica: a doutrina e o método na medicina hipocrática. **Revista da Faculdade de Medicina de Teresópolis**, v. 6, n. 1, p. 16-18, 2004.

SOARES, A. K. A. *et al.* Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. **Rev. Bras. Farmac.**, v. 16, n. 4, p. 447-454, 2006.

SOCIEDADE Brasileira Pneumologia e Tisiologia. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma 2002. **J. Pneumol.**, v. 28, n. 1, p. S1-S28, 2002

SOLÉ, D. *et al.* International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC):prevalence of asthma and asthma-related symptoms among Brazilian schoolchildren. **J. Investig Allergol. Clin. Immunol.**, v. 11, n. 2, p. 123-128, 2001.

SOUSA, A. M.; PEREIRA, M. O. *Pseudomonas aeruginosa* diversification during infection development in cystic fibrosis lungs - A review. **Pathogens**, v. 3, p. 680-703, 2014.

SOUZA, L. E. P. F. O SUS necessário e o SUS possível: estratégias de gestão. Uma reflexão a partir de uma experiência concreta. **Cien. Saude Colet.**, n. 14, supl. 3, p. 2009-2018, 2008.

SPENCE, D. S.; THOMPSON, E. A. & BARRON, S. J. Homeopathic treatment for chronic disease: a 6 year, university-hospital outpatient observational study. **J. Altern. Complement. Med.**, v. 11, p. 793-798, 2005.

SPIGELBLATT, L. S. *et al.* The use of alternative medicine by children. **Pediatrics**, v. 94, p. 811-814, 1994.

SPIGELBLATT, L.S. Alternative Medicine: Should It Be Used by Children? **Curr. Probl. Pediatr.**, v. 25, p. 180-188, 1995.

STERNE, J.A.; EGGER, M.; SMITH, G.D. Systematic reviews in health care: investigating and dealing with publication and other biases in meta-analysis. **BMJ**, v. 323, p. 101-105, 2001.

TEIXEIRA, C. Os Princípios do Sistema Único de Saúde. Disponível em: <[http://www.saude.ba.gov.br/pdf/OS\\_PRINCIPIOS\\_DO\\_SUS.pdf](http://www.saude.ba.gov.br/pdf/OS_PRINCIPIOS_DO_SUS.pdf)>. Acesso em: 09 mar. 2015.

TEIXEIRA, L. M. *et al.* *Staphylococcus aureus*. In: TRABULSI, L. R. & ALTERTHUM, F. (Ed.). **Microbiologia**. São Paulo: Ed. Atheneu, 5ª Ed., p. 175-182, 2008.

TEIXEIRA, M. Z. Pesquisa clínica em homeopatia: evidências, limitações e projetos. **Pediatria**, São Paulo, v. 1, n. 30, p. 27-40, 2008.

TEIXEIRA, M. Z. Homeopatia: desinformação e preconceito no ensino médico. **Rev. Bras. Educ. Med.**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 15-20, 2007.

THOMPSON, E. A. *et al.* The feasibility of a pragmatic randomized controlled trial to compare usual care with usual care plus individualized homeopathy, in children requiring secondary care for asthma. **Homeopathy**, Bristol, v. 100, p. 122-130, 2011.

TOLKER-NIELSEN, T. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: From molecular biofilm biology to new treatment possibilities. **APMIS**, v. 122, Supl. 138, p. 1-51, 2014.

TORRES-LLENZA, V. *et al.* Use of complementary and alternative medicine in children with asthma. **Can. Respir. J.**, Montreal, v. 17, n. 4, p. 183-187, 2010.

TRABULSI, L.R.; TOLEDO, M.R.F. **Microbiologia**. 2a Ed. Rio de Janeiro: Ed. Atheneu, 720p, 1991.

TURNER P. Existe uma ponte entre homeopatia e a medicina convencional? **Rev. Homeopatia**, v. 55, n. 2, p. 33-36, 1990.

UNIVERSITY of Maryland Medical Center, 2013. Lobelia. Disponível em: <<http://umm.edu/health/medical/altmed/herb/lobelia>>. Acesso em: 09 mai. 2015.

VASCONCELOS, R; ARGENTA, S.; TAVARES, F. Práticas integrativas: Estudo revela que o perfil das atividades no país é desconhecido. **Informe Fiocruz Pernambuco**, Anexo 13, n. 52, p. 4-5, 2013.

VENERANDA, N. Controle de Contaminação é prioridade para Indústrias de Cosméticos. **Controle de Contaminação**, São Paulo, v. 6, n. 53, p. 12-17, 2003.

WEBER, L. Z.; FRASSON, A. P. Z. Controle microbiológico do ambiente interno de farmácias de manipulação. **Revista Contexto & Saúde**, v. 9, n. 17, p. 39-44, 2009.

WEBHOMEOPATH, *Arsenicum iodatum*. Disponível em: <  
[http://www.webhomeopath.com/homeopathy/homeopathic-remedies/homeopathy-remedy-Arsenicum\\_iodatum.html](http://www.webhomeopath.com/homeopathy/homeopathic-remedies/homeopathy-remedy-Arsenicum_iodatum.html)> Acesso em: 09 mar. 2015.

WHO. World Health Organization. Safety Issues in the Preparation of Homeopathic Medicines. Geneva: WHO, 2009.

YAMAMOTO, D. C. H. *et al.* Controle de Qualidade Microbiológica de Produtos Farmacêuticos, Cosméticos e Fitoterápicos Produzidos na Zona da Mata, MG. In: **Congresso Brasileiro De Extensão Universitária**, 2. 2004, Belo Horizonte. Anais do 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária, Belo Horizonte, 12-15 de setembro de 2004.