
Artigo de Revisão**Testes microbiológicos no setor farmacêutico**

Microbiological testing in the pharmaceutical industry

Pruebas microbiológicas en el sector farmacéutico

 <http://dx.doi.org/10.18316/sdh.v7i12.5330>

Daniel Delgado Queissada¹, Fábio Kovacevic Pacheco², Brunno Andrade Santana³, Gércica Matias Santos³, Jocimária Lima Freitas³, Maria Ilda Sousa Fraga³, Natalia Daniela Santos de Jesus³.

RESUMO

Os testes de caráter microbiológico na área farmacêutica são realizados para quantificar os microrganismos em uma determinada amostra, assim como para identificá-los. Foi empregada a metodologia de revisão bibliográfica utilizando bases de dados como os Periódicos Capes, Scielo e Elsevier. A adoção de procedimentos corretos na realização dos testes microbiológicos, assim como o monitoramento dessas amostragens, contribuem para a produção e a manipulação de medicamentos em exercício com um rigoroso controle de qualidade. É uma atividade que pode ser empreendida por um profissional farmacêutico legalmente habilitado. Assim, o objetivo principal

¹ Doutor em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo - USP. Docente do curso de Farmácia do Centro Universitário AGES - UNIAGES.

² Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Sergipe-UFS. Docente do curso de Farmácia do Centro Universitário AGES - UNIAGES.

³ Discente do curso de Farmácia do Centro Universitário AGES - UNIAGES.

***Autor correspondente:** Avenida Universitária, 23 - Parque das Palmeiras Paripiranga/BA - CEP 48430-000.

E-mail: queissada@gmail.com

Submetido: 19/12/2018

Aceito: 24/03/2019

deste trabalho foi descrever em detalhes os principais métodos utilizados na detecção e identificação de microrganismos relacionados ao setor farmacêutico.

Palavras-chaves: Setor Farmacêutico; Testes Microbiológicos; Detecção Microbiana; Identificação Microbiana.

ABSTRACT

Microbiological character tests in the pharmaceutical area is conducted to quantify the micro-organisms in a given sample, as well as identify the same. Was employed the methodology of literature review using databases like Capes, Scielo journals and Elsevier. The adoption of correct procedures in realization of microbiological testing, as well as the monitoring of them contribute to the production and handling of medicines in exercise with a strict quality control. Is an activity that can be undertaken by a professional pharmacist legally enabled. Thus, the main objective of this work was to describe in detail the main methods used in detection and identification of microorganisms related to the pharmaceutical industry.

Keywords: Pharmaceutical Sector; Microbiological Tests; Microbial Detection; Microbial Identification.

INTRODUÇÃO

Um das principais atividades da área farmacêutica é a produção de medicamentos. Eles representam uma parcela importante, juntamente com outros cuidados, na manutenção dos níveis de saúde da população. Para tanto, é imprescindível

um controle rigoroso durante sua preparação, o qual é importante para detectar a presença de microrganismos durante os processos de produção de medicamentos, nos quais desde as matérias-primas até o produto final devem estar livres de patógenos. O diagnóstico de doenças também pode ser realizado por alguns dos testes descritos e devem possuir rigoroso controle para evitar diagnósticos falso-positivos, bem como outras alterações, passíveis de comprometimento da saúde ou até mesmo de transtornos para o paciente¹.

Este controle pode ser realizado mediante a utilização de testes microbiológicos. Estes estão classificados de acordo com características específicas e servem para detectar a presença e a quantidade de microrganismos, bem como a identificação deles. Entre os testes microbiológicos existentes, estão a Contagem Microbiana Aeróbica Total, Contagem Total de Fungos e Leveduras, Antibiograma, Métodos Eletroquímicos, Bioluminescência, utilização de Substratos Cromogênicos, Salina, exames em Campo Escuro, Tinta da China (nanquim), coloração de Gram, coloração de flagelos e coloração de Zhiel-Neelsen^{2,3}.

Partindo desse pressuposto, a quantificação e a identificação de microrganismos são de suma importância para avaliar a qualidade e a eficácia de farmacêuticos. Tais avaliações são possíveis através dos testes microbiológicos, que também são utilizados como métodos diagnósticos de várias patologias. Durante a realização dos testes, são considerados aspectos microbianos como características macroscópicas, microscópicas e bioquímicas como, por exemplo, a bioluminescência, as quais irão especificar a tipologia do teste a ser realizado de acordo com o objetivo dele^{4,5}.

O conhecimento do profissional farmacêutico nessa área é de grande importância tanto para as atividades realizadas na indústria farmacêutica de grande porte quanto para as empresas de pequeno e médio porte, como as farmácias de manipulação. Isso porque, para se obter medicamentos com qualidade satisfatória, é de extrema valia que todo o processo produtivo seja monitorado, evitando assim contaminações como a cruzada^{6,7}.

Portanto, o principal objetivo desse trabalho é apontar, de forma direta e descritiva, os principais testes microbiológicos que podem ser úteis

para todas as atividades do setor farmacêutico, perpassando desde o setor de manipulação até o diagnóstico de doenças, ambos amparados por um rigoroso controle de qualidade e segurança estipulados pelos devidos compêndios.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi baseado em revisão de literatura principalmente de artigos científicos. Dentre as bases de dados pesquisadas, encontram-se os Periódicos Capes, Scielo e Elsevier, com fontes tanto em português como em inglês e espanhol. Os materiais encontrados foram selecionados de acordo com sua pertinência ao tema abordado, ou seja, os testes microbiológicos e as colorações microbianas mais utilizados no setor farmacêutico, principalmente nas áreas de identificação microbiana e diagnósticos microbiológicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Testes microbiológicos e colorações microbianas na área farmacêutica

Os medicamentos são utilizados pela sua ação benéfica no organismo, sendo tidos como finalidade de cura para os males que acometem os seres vivos. Nesse sentido, os medicamentos podem sofrer algumas alterações negativas na sua qualidade, na qual tais consequências podem ser causadas por microrganismos. Sendo assim, deve-se haver um controle rigoroso da presença desses em medicamentos, pois a contaminação microbiana em medicamentos pode levar à degradação ou alteração das substâncias ativas, como ocasionar a produção de substâncias tóxicas, gerando a inviabilização do medicamento⁸. Assim, é necessário um controle microbiológico rígido, que ocorre através de testes capazes de detectar e identificar os microrganismos. Dessa forma, na área farmacêutica, eles são bastante utilizados no controle de medicamentos, principalmente em sua manipulação, além de serem utilizados nos processos diagnósticos das mais diversas patologias causadas por microrganismos¹.

A comercialização de produtos farmacêuticos, dentre eles os medicamentos, envolve a necessidade de um controle microbiológico rigoroso. Isto porque ele é responsável pela

garantia de qualidade do produto, essencial para a utilização com segurança⁹. Assim, os testes microbiológicos devem ser passíveis de análise de bactérias, fungos, materiais desconhecidos, plantas contaminantes (em caso de fitoterápicos), entre outros⁴. Portanto, eles são de extrema importância no meio farmacêutico e garantem a segurança da população usuária.

A tabela abaixo destaca os principais testes e os usos mais empregados dentro da área farmacêutica de diagnóstico, identificação microbiana e controle microbiológico.

Tabela 1. Principais testes microbiológicos e seus usos na área farmacêutica.

TESTES	UTILIDADES	AUTORES
Testes microbiológicos e colorações microbianas na área farmacêutica	Controle microbiológico rígido em medicamentos manipulados e detecção de patologias.	(1); (8)
Contagem microbiana aeróbica total (TAMC)	Contagem microbiana em placas de petri, a fim de manter o controle de crescimento na faixa desejada.	(3); (10)
Contagem total de fungos e leveduras (TYMC)	Contagem total de fungos e leveduras, utilizando a técnica do Pour Plate ou Semeadura Profunda.	(2); (11)
Antibiograma	o antibiograma é uma prova de sensibilidade aos antimicrobianos.	(12); (13); (14); (15); (16); (17); (18)
Características macro e microscópicas de colônias	Identificação microbiana, utilizando características macro e microscópicas.	(5); (19); (36)
Salina	Trata-se de uma metodologia para identificação de microrganismos extremófilos.	(20)
Exames em Campo Escuro	Tal método é eficaz na detecção de microrganismos em que não tenha sido aplicado nenhum tipo de coloração	(21)
Tinta da China (nanquim)	O teste da Tinta da China serve para a identificação de criptococos em liquor ou outros materiais.	(22); (35)

Coloração de Gram	É uma técnica de coloração que permite diferenciar bactérias Gram positivas e negativas	(23); (24); (25);
Coloração de flagelos	Coloração para aumentar o diâmetro dos flagelos.	(22); (27)
Coloração de Zhiel-Neelsen	É uma técnica rápida de coloração com ácido utilizada para Bacilos Ácido Resistentes (BAAR).	(28); (35)
Métodos Eletroquímicos	Técnicas eletroquímicas apresentam grande potencial para caracterização detalhada de fitoantioxidantes.	(29); (30); (31)
Bioluminescência	Técnica é baseada no princípio da medição da quantidade de adenosina trifosfato (ATP).	(32); (35)
Utilização de substratos cromogênicos	O uso de métodos com substratos cromogênicos permite determinar simultaneamente os coliformes totais bacterianos em uma amostra	(33)

Contagem microbiana aeróbica total (TAMC)

O grau de patogenicidade de um produto é medido através da contagem microbiana dele. Segundo Nascimento e Furlanetto¹⁰, o estabelecimento de padrões de qualidade e de especificações quanto aos limites de tolerância depende do conhecimento prévio da microbiota desses produtos, bem como dos tipos de microrganismos encontrados.

Assim, os microrganismos existentes em um determinado produto são responsáveis por sua qualidade. Nesse contexto, a contagem microbiana fornece informações acerca da quantidade. Isto ocorre por meio do cultivo em placas de Petri com meio nutriente. Para a obtenção de resultados, ocorre a contagem do número de microrganismos, levando em consideração as unidades formadoras de colônias (UFC)³. Portanto, a contagem microbiana aeróbica total (TAMC) é responsável pela quantificação de microrganismos por meio das placas de Petri, utilizando a diluição seriada, a fim de manter o crescimento na faixa desejada.

Contagem total de fungos e leveduras (TYMC)

Para a contagem total de fungos e leveduras, pode ser empregada a técnica do Pour Plate ou Semeadura Profunda. Consiste na diluição de uma suspensão microbiana; posteriormente, ela é condicionada em placa de Petri estéril; em seguida há a aplicação de ágar a aproximadamente 50 °C. Ao ocorrer a solidificação, inicia-se o crescimento na temperatura ideal da bactéria em incubação².

Nessa perspectiva, o cultivo ocorre no interior e na superfície do meio nutritivo. Após o tempo determinado de incubação, é realizada a contagem de UFC¹¹.

Antibiograma

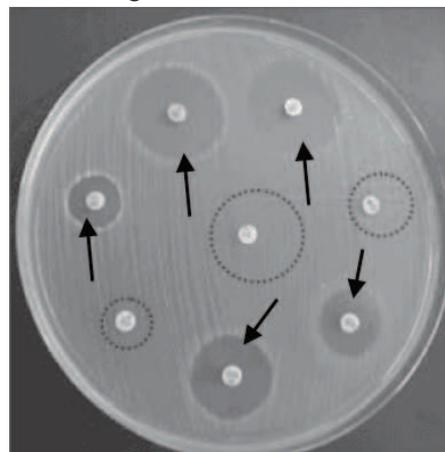
Segundo Ribeiro e Soares¹², o antibiograma é uma prova de sensibilidade aos antimicrobianos utilizado para alguns tipos de bactérias, principalmente para as que adquirem resistência facilmente. O antibiograma é indicado para qualquer microrganismo estreitamente relacionado ao processo infeccioso, cuja sensibilidade a drogas normalmente empregadas na terapia não seja previsível.

A efetivação da experiência de sensibilidade antimicrobiana encaminha-se pelas técnicas determinadas e constantemente avaliadas da CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*), pois se sabe que, por modificações naturais ou genéticas, as bactérias tendem a desenvolver características mais resistentes. Ainda, alguns agentes antimicrobianos estão associados com o surgimento de resistência durante períodos prolongados de tratamento. Assim, os isolados inicialmente sensíveis podem se tornar resistentes após o início do tratamento. Isso acontece nos três ou quatro primeiros dias, com mais frequência em *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Serratia* spp., com as cefalosporinas de terceira geração; em *P.aeruginosa* com todos os agentes antimicrobianos; e nos estafilococos com as quinolonas¹³.

As realizações dos procedimentos estruturais norteiam-se na base de discos de antimicrobianos e são observados por 16 a 24 h em ar ambiente ou a 5% de CO₂ a 35 ± 2°C (dependendo do gênero bacteriano e do antimicrobiano testado). A observação do resultado dá-se pela inibição

em volta dos halos de desenvolvimento ao redor de cada disco (Figura 1), relacionando também a sensibilidade da amostra à velocidade de disseminação¹⁴. Assim, testes baseados apenas na presença ou ausência de um halo de inibição, sem considerar o tamanho, não são aceitáveis. Só podem ser obtidos resultados confiáveis com testes que usam o princípio de metodologia padronizada e medidas do diâmetro do halo de inibição correlacionadas às concentrações inibitórias mínimas (CIMs) com cepas reconhecidamente sensíveis e resistentes a diversos agentes antimicrobianos. Após o teste, os resultados são interpretados como cepas sensíveis, resistentes ou intermediárias¹³.

Figura 1. Antibiograma com halos de inibição



Fonte: (34).

A partir dos dados obtidos por meio do laboratório e das amostras analisadas (que pode ser sangue, urina ou tecido contaminado), serão prescritos determinados antibióticos de acordo com o nível de evolução das bactérias. Vale ressaltar que, para execução do antibiograma pela técnica de difusão em disco de Kirby & Bauer, as amostras mantêm-se viáveis até cerca de 24 h de cultivo em meio não seletivo. Além desse prazo, deve-se fazer novo repique da cepa, cultivar por mais 24 h em meio não seletivo para depois proceder ao exame. As amostras que já ultrapassaram o prazo máximo de estabilidade devem ser rejeitadas para a análise, devendo ser repicadas em meio apropriado e usadas colônias recentes. Outro cuidado importante consiste em verificar a pureza do inóculo, e, na dúvida, sugere-se o repique da cepa. Em caso de contaminação, deve-se reisolar o microrganismo a ser testado para evitar erros na medição dos halos^{14,15}.

No entanto, vale ressaltar que diferentes tipos bacterianos evoluem e apresentam resistência aos antibióticos, ocasionando impedimento no trato bacteriano. Assim, a realização do antibiograma e sua interpretação não é fácil, por suas limitações e, principalmente, por descobertas de novos mecanismos de resistência, o que exige cada vez mais atualização e treinamento profissional. A metodologia de Kirby e Bauer é a mais difundida e utilizada até hoje nas análises clínicas, devido a sua praticidade de execução, baixo custo e confiabilidade. Apesar de sua relativa simplicidade de execução, a técnica exige que as instruções sejam seguidas rigorosamente de forma que os resultados obtidos correspondam à realidade e possam ser comparados com as tabelas internacionais^{16,17}.

Conforme Centerlab¹⁸, é importante que cada laboratório padronize e desenvolva seu próprio protocolo de procedimento para a técnica de antibiograma, seguindo as referências técnicas e metodológicas do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). Hoje, o NCCLS é o CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Por outro lado, no Brasil, é a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) que padroniza o uso do CLSI para os laboratórios.

Assim, de acordo com os relatos observados e descritos, é bastante frequente se ter um diagnóstico e tratamento precoce, a partir da análise do fármaco, a fim de amenizar as primeiras manifestações da bactéria. No entanto, a partir dos dados colhidos e dos resultados obtidos é que se pode ter uma diagnose mais precisa.

Características macro e microscópicas de colônias

Para a identificação microbiana, dois aspectos principais são considerados: características macroscópicas e microscópicas. Dentre as macroscópicas, estão tamanho, superfície, pigmentação, bordas, entre outras, que juntas compõem a estrutura macro do microrganismo. Já entre as microscópicas, está a morfologia, a qual, para as bactérias, apresenta três tipos principais: bastonetes ou bacilos, espirilos e cocos, além dos tipos de transição⁵.

As características macroscópicas podem ser visualizadas por meio do crescimento das bactérias em placas de ágar. Após a preparação do meio a

ser cultivado, efetiva-se constantes observações por meio de microscópio. Portanto, algumas características morfológicas são diferentes entre as bactérias. Por isso, deve ser considerado ainda aspectos como luz, consistência e tamanho. Em relação a essas características, elas podem ser pequenas (com 0,5 mm de diâmetro, ou ainda inferiores), medianas (1 a 2 mm), grandes (4 a 6 mm) e muito grandes (colônias que abrangem toda a superfície da placa de cultivo)³⁶.

A forma da colônia pode ser puntiforme, circular, rizoide, filamentosa, irregular e fusiforme. Em relação à consistência, elas podem ser lisas, mucosas, secas, muito secas, entre outras formas. Enfim, as características macroscópicas são determinantes do estado da colônia, da mesma maneira que as microscópicas também são determinantes. Estas últimas, por sua vez, também são verificadas através das placas de ágar, seguindo os mesmos princípios³⁶.

Atualmente, a identificação mais precisa ocorre através de determinações genéticas (homologia do DNA, análise de sequência do DNA, análise do RNA 16S ribossômico), que são realizadas através de análises de genes específicos¹⁹.

Salina

Trata-se de uma metodologia para identificação de microrganismos extremófilos. Geralmente ambientes altamente salinos desnaturam proteínas bacterianas. Contudo, espécies extremófilas sobrevivem mantendo uma alta concentração de potássio no seu citoplasma, mantendo a sua concentração osmótica contra a concentração externa alta de cloreto de sódio, devido sua estratégia evolutiva. Uma dessas espécies é a bactéria baciloforme *Ruber salinibacter*. Portanto, essa metodologia consiste na imersão da bactéria a ser identificada, em uma solução extremamente salina, aproximadamente 10 vezes mais salgada que a água do mar. Se ela sobreviver e apresentar as características reprodutivas, será considerada extremófila²⁰.

Exames em Campo Escuro

A técnica de exame em campo escuro consiste na iluminação do microrganismo a ser

observado com uma grande escuridão do campo ao redor (Figura 2). Para tanto, é importante o uso de um condensador, associado às formas corretas de iluminação no microscópio. Tal método é eficaz na detecção de microrganismos nos quais não tenha sido aplicado nenhum tipo de coloração.

Após a coleta do sangue do paciente, coloca-se o material em uma lâmina de microscópio para ser analisado nessa técnica de campo escuro. É importante observar aspectos como morfologia, tamanho, cor, dimensão, presença ou não de depósitos de gordura, enfim, todas as características possíveis do microrganismo. Essa metodologia é importante para auxiliar o diagnóstico de doenças como sífilis e bactérias relacionadas à periodontite e abscessos. Esse método possui uma análise simplificada devido a presença da luz dispersa, a qual contrasta com o fundo preto. Assim, ela é imprescindível para o setor diagnóstico²¹.

Figura 2. *Treponema pallidum* observado pela técnica de Campo Escuro.

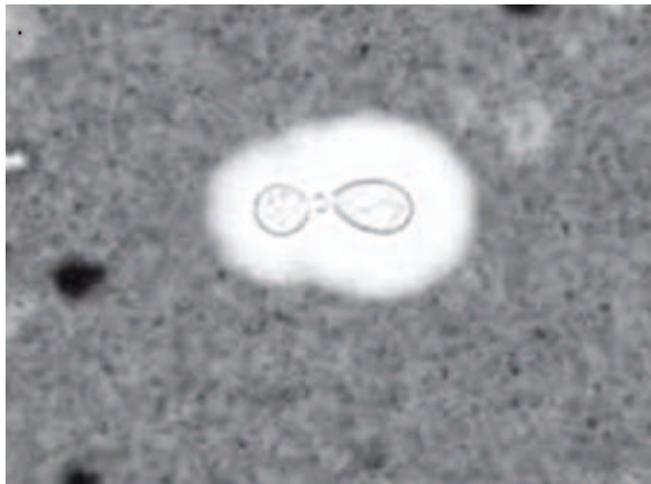


Fonte: (35).

Tinta da China (nanquim)

O teste da Tinta da China serve para a identificação de criptococos em liquor ou outros materiais, permitindo destacar a cápsula desse fungo contra um fundo negro. Após a preparação da lâmina, observa-se em objetiva de imersão (100x) (Figura 3). É um teste útil para a identificação de leveduras do gênero *Cryptococcus*, através da coleta do líquido cefalorraqueano. Além disso, é possível verificar enterobactérias e *E. Coli*. Portanto, é um teste imprescindível para o auxílio em diagnósticos²².

Figura 3. Cápsula de *Cryptococcus neoformans* observada através da técnica de Tinta da China



Fonte: (35).

Coloração de Gram

É uma técnica de coloração que permite diferenciar bactérias Gram positivas e negativas. As Gram-positivas possuem uma espessa camada de peptidoglicano e ácido teicóico na sua parede; já as Gram-negativas são constituídas por uma fina camada de peptidoglicano, na qual se encontram lipoproteínas, fosfolipídeos, proteínas e lipopolissacarídeos^{23,24}.

Após o preparo da lâmina, as culturas observadas em microscópio óptico coradas em vermelho são classificadas como Gram-negativas e as coradas de violeta, Gram-positivas. As Gram-positivas conseguem reter o corante Cristal Violeta, enquanto as Gram-negativas perdem o corante, posteriormente corando-se com fucsina (corante vermelho)^{25,26}.

Coloração de flagelos

Os flagelos são muito finos para serem visíveis ao microscópio óptico. Sendo assim, é necessário técnica de coloração para aumentar o diâmetro dos flagelos de forma que os deixem visíveis. O ácido tânico contido no corante se ligará ao flagelo, tornando a parede mais grossa. O método ocorre em uma lâmina, onde a coloração facilita a visibilidade do microrganismo. As diferenças químicas entre as bactérias e o meio permitem a diferenciação entre elas. É um método que apresenta singela dificuldade, pois algumas possuem certa resistência à coloração.

Por ser analisado em uma objetiva de imersão no microscópio, é facilitador da análise de diversas estruturas do flagelo, como estrutura e endósporo, se tornando um método vantajoso^{22,27}.

Coloração de Ziehl-Neelsen

É uma técnica rápida de coloração com ácido utilizada para Bacilos Álcool Ácido Resistentes (BAAR). Trata-se de bactérias incluindo *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* e *Mycobacterium leprae* (Figura 4). A parede dessas micobactérias possuem uma espessa camada de lipídeos complexos (ácidos micólicos) que evita a penetração de diversos corantes. Elas não aderem à coloração de Gram. Assim, são coradas com fucsina carbol combinado com fenol. Esse corante adere ao ácido micólico na parede celular. Esse é um método auxiliar no diagnóstico de tuberculose, porém é do tipo presuntivo, ou seja, não é confirmatório, necessitando a realização de outros. O teste é feito a partir de esfregaços em lâminas, de forma homogênea, delgada e fixada. É importante, após essa adoção, cobrir todo o esfregaço com a fucsina de Ziehl, deixando agir e depois esquentando com chama branda. Após isso, deve-se lavar com água corrente e decolorar com álcool-ácido (clorídrico, 1%). Deve-se cobrir o esfregaço, deixar por 30 segundos, lavar, deixar secar e finalmente observar a lâmina no microscópio em uma objetiva de imersão²⁸.

Métodos microbiológicos alternativos

Com o avanço tecnológico, os métodos alternativos de análise microbiana na indústria farmacêutica vêm sendo melhorados. A introdução desses métodos pode ser útil em consideração a algumas limitações existentes nos métodos convencionais, principalmente em relação ao tempo necessário para a obtenção dos resultados²⁹.

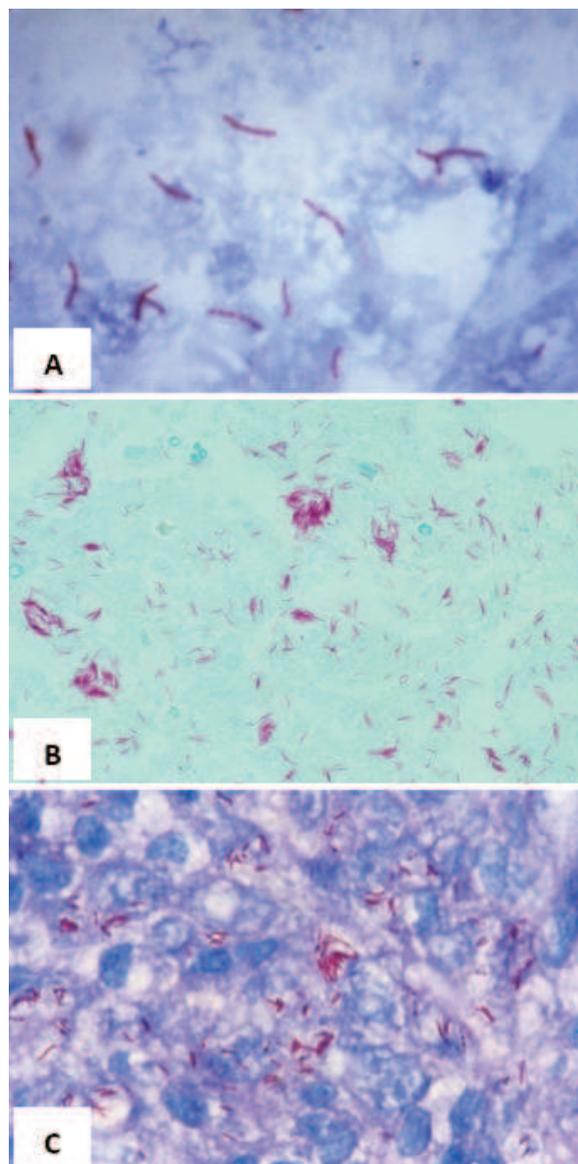
Métodos Eletroquímicos

As técnicas eletroquímicas apresentam grande potencial para caracterização detalhada de fitoantioxidantes, pois fornecem parâmetros físico-químicos capazes de mostrar não apenas o potencial redox, mas também números de elétrons

envolvidos na etapa de transferência de carga (n), além de transferência de carga influenciada de prótons e constantes de reação³⁰.

As técnicas de voltametria cíclicas e de pulso diferencial são as mais difundidas e que apresentam grande destaque. Contudo, as indiretas também se destacam, como a coulometria. Estes métodos são de suma importância para toda área farmacêutica, voltados para manipulação de medicamentos. Entretanto, a voltametria cíclica traz a direção do potencial invertendo ao final a primeira varredura. Com isso, a varredura tem a forma de um triângulo isósceles^{30,31}.

Figura 4. Bactérias coradas pela técnica de Ziehl-Neelsen: (A) *Mycobacterium tuberculosis*. (B) *M. bovis*. (C) *M. leprae*.

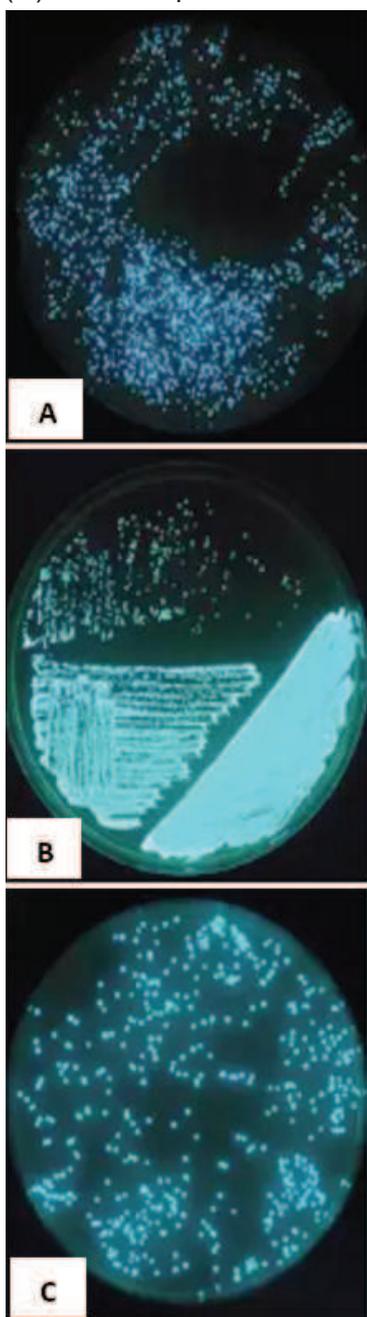


Fonte: (35).

Bioluminescência

A bioluminescência é constituída por emissão de luz fria e visível pelos microrganismos. A técnica é baseada no princípio da medição da quantidade de adenosina trifosfato (ATP). Nesse contexto, algumas bactérias possuem essa capacidade e são notavelmente visíveis. Dentre elas, destacam-se a *Photobacterium kishitanii*, *P. leiognathi* e *P. mandapamensis* (Figura 5)³².

Figura 5. Cultivo de microrganismo com bioluminescência. (A) *Photobacterium kishitanii*; (B) *P. leiognathi*; (C) *P. mandapamensis*.



Fonte: (35).

Utilização de substratos cromogênicos

O uso de métodos com substratos cromogênicos permite determinar simultaneamente os coliformes totais bacterianos em uma amostra. Contudo, o método é limitado para a identificação de bastonetes gram negativos, não formadores de esporos. Essa prática inclui cerca de 20 grupos de espécies, dentre as quais encontram-se bactérias do trato gastrointestinal, além de diversos gêneros de bactérias não entéricas. Ainda assim, os cromogênicos detectam enzimas via substratos específicos ou cromógenos, permitindo detecção de colônias mistas³³.

CONCLUSÃO

O conhecimento do profissional farmacêutico na área de testes microbiológicos e colorações microbianas é de suma importância para a profissão na área industrial, clínica e de manipulação. Em consonância, o monitoramento dos processos evita a contaminação microbiológica. Assim, obtém-se produtos com a qualidade exigida e, ainda, alcança a máxima precisão em exames diagnósticos.

Os testes baseiam-se em fatores microbianos que devem ser considerados dependendo do seu objetivo, sendo o conhecimento desses fatores de vital importância para o profissional farmacêutico. Além disso, eles são úteis para a saúde do paciente, uma vez que a administração de medicamentos contaminados pode agravar o estado clínico do enfermo, necessitando da aplicação de mais recursos financeiros para a obtenção da melhora do quadro.

Os testes microbianos alternativos buscam melhorias principalmente na indústria farmacêutica. Dentre eles, estão se destacando nesse setor os métodos eletroquímicos, de bioluminescência e os que utilizam substratos cromogênicos.

Entre os testes mais utilizados para a identificação e o diagnóstico microbiano estão a coloração de Gram, coloração de flagelos, tinta da china e Zhiel-Neelsen. Esse último é comumente usado para detectar tuberculose, hanseníase e outras patologias oriundas de micobactérias.

O procedimento correto dos testes microbiológicos e o monitoramento eficaz dos mesmos pelos profissionais farmacêuticos são

imprescindíveis para o processo de produção e manipulação de medicamentos. Da mesma forma, são para o diagnóstico de doenças, processos esses que exigem um controle rigoroso durante a realização. Por isso, necessita de profissionais altamente qualificados e com conhecimentos amplos e interdisciplinares.

Empreender testes microbiológicos é uma norma que se adequa aos procedimentos de desenvolvimento do produto, assim como da validação dos processos de controle de qualidade. Todos os medicamentos, sejam eles alopáticos, homeopáticos e fitoterápicos, possuem uma margem de segurança de microrganismos. Portanto, os testes são aplicados para verificar a quantidade desses agentes, a fim de obter estratégias para eliminação, caso eles ultrapassem as margens estipuladas pelo controle de qualidade microbiológico.

Existe uma disponibilidade de certa quantidade de testes, bem como da qualidade deles, cabendo aos determinados realizadores a decisão do que será aplicado, de acordo com a necessidade apresentada por ele. Dessa forma, o principal objetivo deste trabalho foi estabelecer uma descrição detalhada dos principais testes implantados na detecção dos microrganismos em todas as atividades do setor farmacêutico.

REFERÊNCIAS

- Weber LZ, Frasson APZ. Controle microbiológico do ambiente interno de farmácias de manipulação. *Revista contexto & Saúde*. 2009;.9 (17): 39-44.
- Lavinias FC. et al. Estudo da estabilidade química e microbiológica do suco de caju in natura armazenado em diferentes condições de estocagem. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. 2006; 26 (4): 875-883.
- Souza TP, Lionzo MIZ, Petrovick PR. Avaliação da redução de carga microbiana de droga vegetal através do processamento tecnológico: decocção e secagem por aspersão. *Rev. Bras. de Farmacogn*. 2005; 16: 94-98.
- Moreira TMS, Salgado HRN, Pietro RCLR. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. *Rev. Bras. Farmacogn*. 2010; 20 (3): 435-440.
- Robazza WS, Teleken JT, Gomes GA. Modelagem matemática do crescimento de Microrganismos em alimentos. *TEMA Tend. Mat. Apl. Comput*. 2010; 11 (1): 101-110.
- Bonfilio R. et al. Controle de qualidade físico-químico e microbiológico em 2347 amostras manipuladas em 2010 e 2011. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2013; 34 (4): 527-535.
- Alves AP. et al. Avaliação das boas práticas de manipulação nas farmácias com manipulação de Cuiabá e Várzea Grande, Estado de Mato Grosso. *Rev. Bras. Farm*. 2009; 90 (1): 75-80.
- Verdi S, Younes S, Bertol CD. Avaliação da qualidade microbiológica de cápsulas e chás de plantas utilizadas na assistência ao tratamento da obesidade. *Rev. Bras. Plantas Med. Botucatu*. 2013; 15 (4): 494-502.
- Knappmann AL, Melo EB. Qualidade de medicamentos isentos de prescrição: um estudo com marcas de dipirona comercializadas em uma drogaria de Cascavel (PR, Brasil). *Rev. Ciênc. Saúde Coletiva*. 2010; 15 (3): 3467-3476.
- Nascimento D, Furlanetto SMP. Determinação quantitativa de grupos de bactérias em sucos de laranja ao natural. *Rev. Saúde Públ*. 1981; 15: 221-235.
- Moreira SR. et al. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras-MG. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. 1999; 19 (1): 147-152.
- Ribeiro MC, Soares RSMM. Microbiologia prática: roteiro e manual: bactérias e fungos. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.
- NCCLS/CLSI. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada. 8 ed. M2-A8, 2003.
- Panta K. et al. Antibigram typing of gram negative isolates in different clinical samples of a tertiary hospital. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2013; 6: 153-156.
- Sreeja S, Babu S, Prathab AG. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2012; 6: 1486-1488.
- Tan R, Liu J, Li M, Huang J, Sun J, Qu H. Epidemiology and antimicrobial resistance among commonly encountered bacteria associated with infections and colonization in intensive care units in a university-affiliated hospital in Shanghai. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2014; 47: 87-94.
- Akbar A, Anal AK. Prevalence and antibiogram study of Salmonella and Staphylococcus aureus in poultry meat. *Asian Pacific Journal of Tropical*

- Biomedicine. 2013; 3: 163-168.
18. Centerlab. Centerlab News: Antibiograma. Informativo Técnico-científico, maio de 2009, Ed. 24. Disponível em: <http://www.centerlab.com/boletim/2009/2009-maio_Antibiograma.pdf>.
 19. Cardozo GP. et al. Análise do gene 16S RNAr de *Anaplasma platys* detectado em cães do Brasil. *Braz. J. Microbiol.* 2007; 38 (3): 478-479.
 20. Ramos RJ. Microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária em ostras (*Crassostrea gigas*) e águas salinas de fazendas marinhas localizadas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, Brasil, São Paulo, *Rev. do Instituto Adolfo Lutz.* 2010; 69 (1): 29-37.
 21. Hinrichsen SL. et al. Sudoku – descrição de um caso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 1992; 25 (2): 135-138.
 22. Brooks, Geo F. et.al; *Microbiologia médica.* 24^a ed. Rio de Janeiro: Editora Mc Graw Hill, 2009.
 23. Bromberg R. et al. Características de bacteriocina produzida por *Lactococcus lactis* ssp, *hordinae* CTC 484 e seu efeito sobre *Listeria monocytogenes* em carne bovina. *Ciênc.Tecnol.Aliment.* 2006; 26 (1): 135-144.
 24. Steinbach WJ, Shetty AK. Use of the diagnostic bacteriology laboratory: a practical review for the clinician. *Postgrad. Med. J.* 2001;77:148-156.
 25. Rosa DD. Método rápido de extração de DNA de bactérias. *Summa Phytopathol.* 2008; 34 (3): 259-261.
 26. Pelczar M, Chan ECS, Krieg NR. *Microbiologia.* Vol I. Rio de Janeiro: Makron Books. 2. Ed, 1996.
 27. Acuff GR. Media, Reagentes, and Stains. In: *Compendium of Method for the Microbiological Examination of,* American Public Health Association. 3.ed. Washington DC. Carl Vanderzant & Don F. Splittsoesser, p.1093-1208, 1992.
 28. Acharya T. Ziehl-Neelsen Technique (AFB Staining): Principle, Procedure and reporting. *Bacteriology, Laboratory diagnosis of Bacterial Disease, Staining techniques in Microbiology,* 2013.
 29. Fonseca MI. Controle de Qualidade Microbiológica na Indústria Farmacêutica. *Repositório Científico do Instituto Politécnico do Porto.* p.01-123, Dezembro, 2012.
 30. Reis NS. et al. Métodos Eletroquímicos usados para Avaliação da Atividade de Produtos Naturais. *Lat. Am. J. Farm.* 2009; 28 (6): 949-953.
 31. Silva MR, Ângelo ACD. Hidróxidos de níquel suportado em carbono: Um catalisador de baixo custo para a eletro-oxidação de álcoois em meio alcalino. *Quim. Nova.* 2010; 33 (10): 2027-2031.
 32. Oliveira AG. et al. Bioluminescência de Fungos: Função e Mecanismo de Emissão de luz. *Quim. Nova.* 2013; 36 (2): 314-319.
 33. Coelho DL, Pimentel IC, Beux MR. Uso de Método Substrato Cromogênico para Quantificação de Números mais Provável de Bactérias do Grupo Coliforme em Água Minerais Envasadas. 1998; 16 (1): 45-54.
 34. Sejas LM, SilberT S, Reis AO, Sader HS. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.* 2003; 39 (1): 27-35.
 35. Wikipedia Commons. Disponível em: www.commons.wikimedia.org.
 36. Montoya H. *Microbiologia Básica para el área de la salud y sus afines.* 2 ed, 2008.