

## **EDITORIAL**

Este número da **Revista Saúde (Santa Maria) 2/2010 (Vol. 36, No.2, jul./dez. 2010)** está composto por oito artigos, com temas diversos na área da saúde.

A diversidade e abrangência das matérias desta edição, que você agora está lendo, é fruto da **integração de leitores e autores**. A  **fusão** destes dois  **personagens** nos impulsionará à  **multiplicação** do nosso público.

Gostaríamos de lhe transmitir um pouco do nosso sentimento de bem-estar ao colocar online esta publicação: nas palavras de um comerciante, algo parecido a “um balancete finalizado” ou, a aprovação, pela agência financiadora, da “prestação de contas” ao coordenador de um projeto científico.

O **Centro Brasileiro do ISSN (CBISSN - ISSN = Número Internacional Normalizado para Publicações Seriadas - International Standard Serial Number)**, em resposta à nossa solicitação, atribuiu o **ISSN 2236-5834** para a **publicação online** da **Revista Saúde (Santa Maria)**.

Nosso desejo é auxiliar a Universidade a exercer suas funções de ensino, pesquisa e extensão. Para isso necessitamos de você, profissional cientificamente capacitado e competente, disposto a oferecer a seus estudantes uma formação acadêmica e profissional de alta qualidade técnica e científica.

Fazemos um apelo a você, docente qualificado, desta ou de outra Universidade, a motivar a formação de novos pesquisadores, divulgando o seu conhecimento científico e original, à sociedade brasileira e internacional. Atingiremos a consolidação de nossa missão, como periódico científico, contando com sua ajuda.

Ao homem foi determinada a evolução moral e intelectual contínua, afinal “A evolução é a Ciência da Vida”.

Contaremos sempre com você.

Rosmari Hörner

**Editora**

## **INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE MISTURA DE PÓS NA PREPARAÇÃO MAGISTRAL DE CÁPSULAS DE IBUPROFENO**

***Maiane Rosa\**, *Fernanda Cramer Flores\*\**, *Ruy Carlos Ruver  
Beck\*\*\**, *Andréa Inês Horn Adams\*\*\*\**, *Cristiane de Bona da Silva\*\*\*\****

***Universidade Federal de Santa Maria***

**RESUMO:** O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência do processo de mistura de pós na preparação magistral de cápsulas contendo ibuprofeno. Para a mistura dos pós foram utilizados o misturador e triturador automático e mistura manual em saco plástico. Depois de estabelecidos os tempos ótimo de mistura, cápsulas de ibuprofeno foram preparadas (3 lotes de 40 cápsulas), nas doses de 100 e 200 mg. O controle de qualidade das cápsulas foi realizado através da determinação do peso médio, doseamento e uniformidade de doses unitárias. Através dos resultados, diferenças entre os dois processos de mistura foram observadas, especialmente para a mistura de pós contendo ibuprofeno na dose de 100 mg. Os lotes obtidos pela mistura manual, neste caso, não cumpriram com as especificações em relação à uniformidade de doses. Para as cápsulas contendo ibuprofeno na dose de 200 mg os resultados foram satisfatórios.

**Descritores:** Cápsulas; Ibuprofeno; Mistura.

## **INFLUENCE OF THE POWDERS MIXING PROCESS IN THE PREPARATION OF IBUPROFEN COMPOUNDING CAPSULES**

**ABSTRACT:** The aim of this research was to evaluate the influence of the powder mixture process in the compounding of ibuprofen capsules. The mixing of powder was obtained in an automated mixer or manual (in plastic bags), the last one to simulate the procedures adopted in pharmacy compounding. After determination of the optimum mixing time, ibuprofen capsules were prepared (40 capsules/lot, 3 lots), with 100 or 200 mg of drug. The following tests were done to access the quality of capsules: medium weight, assay and uniformity of dosage units. Differences were observed between the two mixing process, especially for the capsules of lowest dosage (100 mg). In this case, the capsules prepared by manual mixture do not met the requirements of uniformity of dosage units. It was not observed differences between the mixing methods in the case of the capsules of 200 mg.

**Descriptors:** Capsules; Ibuprofen; Mixture

\*Acadêmica do curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

\*\*Mestranda do Programa de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

\*\*\*Professor Adjunto de Departamento de Produção e controle de medicamentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

\*\*\*\*Professoras Doutoradas do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

## Introdução

Historicamente, a manipulação farmacêutica constitui uma parte integral da prática farmacêutica.<sup>1</sup> De acordo com a RDC n° 67/2007 manipulação é um conjunto de operações farmacotécnicas, com a finalidade de elaborar preparações magistrais e oficinais e fracionar especialidades farmacêuticas para uso humano.<sup>2</sup>

A prescrição magistral tem aumentado rapidamente e representa, atualmente, uma importante área da prática farmacêutica. O medicamento manipulado tem se apresentado como uma alternativa farmacêutica, sendo preparadas nas farmácias magistrais as mais diversas formas farmacêuticas. Dentre as formas farmacêuticas sólidas de uso oral destacam-se as cápsulas, particularmente as cápsulas duras, que por sua facilidade de formulação e versatilidade, permitem o preparo magistral de diferentes formulações em doses individualizadas.<sup>3</sup>

Para o desenvolvimento de uma formulação apropriada é necessário que se leve em consideração as características físicas, químicas e biológicas de todas as substâncias ativas e matérias-primas usadas na fabricação do produto, bem como a anatomia e fisiologia do local de administração e absorção. O fármaco e os excipientes utilizados devem ser compatíveis entre si e com a via de administração desejada.<sup>1</sup>

A maioria dos fármacos administrados na forma de cápsulas requer excipientes para obter homogeneidade no enchimento das mesmas, adequar a velocidade de liberação do fármaco, facilitar a produção, aumentar a estabilidade da formulação, facilitar sua identificação e por razões estéticas. Embora tradicionalmente os excipientes sejam vistos como substâncias inertes, atualmente sabe-se que estes podem interagir com o fármaco, promovendo alterações químicas e físicas, havendo a necessidade de se realizarem estudos de pré-formulação.<sup>3,4</sup>

Existem três fatores importantes a serem considerados na formulação dos pós para enchimento de cápsulas gelatinosas duras. Como o enchimento se dá por gravidade, o fluxo do pó é um aspecto importante, pois quanto mais facilmente o pó escoar, melhor será realizada esta etapa do processo. O segundo é a ausência de adesão, ou seja, a mistura não deve aderir ao equipamento para facilitar o seu escoamento. O terceiro é a coesividade que é a capacidade da mistura de formar agregados cilíndricos.<sup>5</sup>

Independentemente da escala de produção, para que se obtenha um produto final cuja dose seja precisa e exata, a avaliação dos componentes da formulação é fundamental. Os princípios ativos e excipientes devem ser totalmente misturados de modo que resulte em uma mistura homogênea. Para que haja uma distribuição adequada do fármaco em toda a mistura dos pós, o ideal é que a densidade e o tamanho das partículas de todos os pós sejam similares.<sup>3</sup>

O ibuprofeno é um anti-inflamatório não esteróide (AINE) derivado do ácido propiônico, sendo empregado, principalmente, como analgésico, anti-inflamatório e antipirético, além de ser uma substância reconhecidamente segura no tratamento pediátrico da febre e da dor.<sup>6</sup> O fármaco encontra-se disponível comercialmente no Brasil nas formas farmacêuticas de comprimidos, suspensão oral, creme e gel tópico. Além disso, as farmácias de manipulação preparam cápsulas de ibuprofeno nas doses usualmente prescritas.

Em virtude da necessidade de padronização das etapas que envolvem a preparação magistral de cápsulas, especialmente a etapa de escolha do método de mistura a ser empregado para a adequada homogeneidade dos pós, este trabalho objetivou verificar a influência do processo de mistura de pós na preparação de cápsulas de ibuprofeno, incluindo

os testes para sua avaliação. As cápsulas, após preparação, foram avaliadas em relação ao peso médio, uniformidade de conteúdo e doseamento do fármaco por volumetria.

## **Material e métodos**

### **Materiais**

Para o desenvolvimento das cápsulas empregaram-se as seguintes matérias-primas: ibuprofeno (Delaware, Porto Alegre, Brasil, teor declarado de 99,93%), celulose microcristalina e lactose (Delaware, Porto Alegre, Brasil); croscarmelose sódica (fabricante FMC Corporation, Philadelphia, USA), dióxido de silício coloidal (fabricante Cabot Corporation, Boston USA) e lauril sulfato de sódio (Vetec, Duque de Caxias, Brasil). Os reagentes e solventes empregados apresentaram grau farmacêutico.

### **Análise quantitativa e qualitativa da matéria-prima de ibuprofeno**

Os testes realizados compreenderam a avaliação visual, a determinação da solubilidade e da faixa de fusão, bem como o doseamento, descritos na monografia do ibuprofeno.<sup>7</sup>

### **Preparação das cápsulas**

As cápsulas foram preparadas pelo método de nivelamento, em encapsuladora manual (Tecnofarma, Maringá, PR) após a pesagem e mistura dos constituintes (fármaco e excipientes). Foram preparadas 40 cápsulas de cada lote (n = 3), nas doses de 100 e 200 mg de ibuprofeno.

A escolha dos excipientes foi realizada a partir de dados obtidos na literatura, sendo selecionados os mais correntemente utilizados.<sup>8</sup> Os excipientes empregados compreenderam: croscarmelose sódica (20%, agente desintegrante), dióxido de silício coloidal (0,8%, deslizante), lauril sulfato de sódio (2%, agente molhante), lactose e celulose microcristalina (diluente, 75 e 25%, respectivamente, qsp 100%). As matérias-primas (fármaco e excipientes) foram tamisadas (tamis 70).

Cápsulas nº 1 transparentes (Extracaps®, Genix) foram empregadas e as quantidades dos constituintes foram determinadas levando-se em consideração a densidade aparente dos pós, determinada, previamente, para as matérias-primas. O peso unitário teórico das cápsulas contendo 100 e 200 mg de ibuprofeno correspondeu a 241 e 262 mg, respectivamente.

### **Mistura dos pós**

Empregaram-se dois métodos para realizar a mistura do fármaco e dos excipientes, determinando-se, a partir das condições experimentais utilizadas, o tempo ótimo de mistura. As quantidades de matérias-primas empregadas foram equivalentes a um lote de 40 cápsulas, nas doses de 100 e 200 mg de ibuprofeno.

### **Mistura mecânica**

Inicialmente, realizou-se a pesagem individual dos excipientes, os quais foram colocados no misturador e triturador Powdermix (modelo 2004, Santos, SP) e submetidos à homogeneização por 3 e 5 minutos. A velocidade empregada na realização do experimento foi de 44 rotações por minuto (velocidade 3 do equipamento). Após cada intervalo de tempo,

alíquotas (n = 8) retiradas em diferentes locais do misturador (quantidades equivalentes a 250 mg de ibuprofeno) foram pesadas e procedeu-se o doseamento do fármaco. As análises foram realizadas em triplicata.

#### ***Mistura manual***

Após pesagem, o fármaco e os excipientes foram colocados em saco plástico e a mistura foi efetuada mediante agitação manual, em intervalos de tempo de 3, 5 e 10 minutos para as amostras contendo a dose de 100 mg de ibuprofeno, e 3 e 5 minutos para as amostras contendo a dose de 200 mg de ibuprofeno. Após cada intervalo de tempo, alíquotas (n = 8) retiradas em diferentes locais do saco plástico (quantidades equivalentes a 250 mg de ibuprofeno) foram pesadas e procedeu-se o doseamento do fármaco. As análises foram realizadas em triplicata.

#### ***Controle de qualidade das cápsulas manipuladas***

##### ***Peso médio***

A determinação de peso foi realizada segundo critérios estabelecidos<sup>9</sup>, empregando 20 cápsulas para a determinação. Determinou-se o peso do conteúdo de cada cápsula pela diferença de peso entre a cápsula cheia e a vazia. A partir dos valores obtidos, determinaram-se o peso médio do conteúdo e os limites de variação superior e inferior permitidos, considerando-se um desvio de  $\pm 10\%$  em relação ao peso médio.

##### ***Doseamento***

Para a quantificação do ibuprofeno na mistura dos constituintes e nas cápsulas manipuladas, empregou-se método analítico descrito na monografia farmacopéica para comprimidos, com adaptações.<sup>7</sup> Sendo assim, o mesmo foi revalidado frente aos parâmetros de especificidade, exatidão e precisão.<sup>10</sup> Para a validação, preparou-se um lote de 40 cápsulas de ibuprofeno na dose de 200 mg, sendo a mistura dos excipientes e do fármaco realizada com auxílio de gral e pistilo, por diluição geométrica.<sup>3,8</sup> O doseamento do fármaco nos diferentes lotes foi realizado após a remoção e mistura do conteúdo de 20 cápsulas. Pesou-se o equivalente a 250 mg de ibuprofeno e transferiu-se para frasco erlenmeyer de 125 ml. Adicionou-se 50 ml de etanol e submeteu-se a agitação mecânica por 10 minutos. Após, adicionaram-se três gotas de solução etanólica de fenolftaleína 1% (m/v) e titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até viragem para rosa. Foi realizado ensaio em branco para as correções necessárias. Cada 1 ml de hidróxido de sódio 0,1 M equivale a 20,628 mg de ibuprofeno.<sup>7</sup>

##### ***Uniformidade de doses unitárias***

A uniformidade de dose para as cápsulas contendo 200 mg foi avaliada através da variação de peso, que correlaciona o peso de 10 cápsulas ao teor do lote, obtido no doseamento. Para as cápsulas contendo 100 mg do fármaco procedeu-se a uniformidade de conteúdo, no qual o teor do fármaco é determinado, individualmente, em 10 cápsulas.<sup>9</sup> Nesse caso, o conteúdo total de cada unidade foi transferido para um frasco, adicionaram-se 25 ml de etanol e submeteu-se à agitação mecânica por 10 minutos. Após, titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 M, utilizando solução etanólica de fenolftaleína 1% (m/v) como indicador. Foi realizado ensaio em branco para as correções necessárias.

## **Resultados e Discussões**

### **Análise qualitativa e quantitativa da matéria-prima de ibuprofeno**

O ibuprofeno apresentou-se como um pó branco cristalino, praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em etanol, acetona, metanol e clorofórmio, e solúvel em solução alcalina. O ponto de fusão obtido para a amostra foi de  $75,3\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$  (valor de referência 75 a  $78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).<sup>7</sup> Os resultados obtidos atenderam as especificações farmacopéicas.

No doseamento do fármaco, o teor médio foi de 99,86%. O resultado obtido encontra-se de acordo com o limite preconizado para o fármaco, o qual deve estar compreendido entre 97,0 e 103,0%.<sup>7</sup>

### **Validação do método analítico**

Na monografia do ibuprofeno na forma de comprimidos apresentada pelas Farmacopéias Americana e Britânica,<sup>11,12</sup> o doseamento do fármaco é realizado por cromatografia líquida. O método proposto para a quantificação do ibuprofeno nas cápsulas foi baseado nas condições experimentais descritas na monografia da Farmacopéia Brasileira IV,<sup>7</sup> com modificações. O método oficial preconiza a utilização de clorofórmio para a extração do fármaco. Uma vez que o ibuprofeno também é solúvel em etanol, optou-se por empregar etanol para extração, em virtude de sua baixa toxicidade, facilidade de manuseio e diminuição de riscos à saúde do manipulador e ao ambiente.

A interferência dos excipientes na determinação quantitativa do ibuprofeno foi verificada titulando-se soluções contendo os excipientes, na mesma proporção empregada no doseamento das cápsulas. O volume de solução titulante de NaOH 0,1 M gasto nas seis determinações correspondeu ao volume gasto com o branco, o que demonstra que o método proposto é específico, uma vez que os excipientes não interferem na quantificação do fármaco. A precisão do método analítico foi demonstrada através da repetibilidade (intra-dia) e da precisão intermediária (inter-dia). O teor de ibuprofeno obtido nas amostras analisadas no mesmo dia foi 99,95%, (DPR 0,27%) e nas análises realizadas no segundo dia obteve-se 100,13% (DPR 0,33%). A precisão intermediária foi avaliada através da determinação do DPR entre os dois dias de análise. O teor médio obtido foi 100,02%, com DPR de 0,30%. Os valores de DPR obtidos (inferiores a 2,0%) demonstram a precisão do método em termos de repetibilidade e precisão intermediária.<sup>10</sup> De acordo com a literatura, o teor de ibuprofeno em comprimidos deve estar compreendido entre 90% e 110%, empregando a volumetria para a sua quantificação.<sup>7</sup> A partir destes valores de referência, os resultados obtidos neste trabalho encontram-se de acordo com os limites estabelecidos para o ibuprofeno em formas farmacêuticas sólidas orais. A exatidão do método analítico por volumetria apresentou percentual médio de recuperação de 101,34% (DPR = 1,16), o que demonstra a exatidão do método proposto.

A volumetria de neutralização, além de não necessitar de aparelhagem onerosa e ser de fácil execução, demonstrou ser um método específico, preciso e exato para determinação de ibuprofeno em cápsulas, de acordo com as matérias-primas empregadas. Apresenta como desvantagem, no entanto, requerer maior quantidade de substância para análise, devido à sua menor sensibilidade em relação aos métodos instrumentais.

O peso médio obtido para o lote de cápsulas empregado na validação do método foi de 259,4 mg (variações máxima e mínima de 285,3 mg e 233,5 mg, respectivamente). Todas as unidades encontravam-se dentro dos limites estabelecidos.

### **Mistura dos pós**

Uma das etapas importantes na preparação de cápsulas se refere à homogeneidade de mistura dos componentes presentes na formulação, a fim de garantir a dose adequada por unidade posológica. A mistura dos pós, em pequena escala, pode ser realizada empregando-se o gral e pistilo, misturadores automáticos de bancada, ou ainda, a mistura em saco plástico, utilizada em alguns locais.

O controle da homogeneidade da mistura pode ser realizado através de uma inspeção visual para misturas de produtos com cores diferentes entre si, ou pela adição de corante à mistura de pós brancos, bem como pela coleta de um número de amostras em diferentes partes da mistura, quantificando a substância ativa. É importante salientar que o controle visual através da homogeneidade da cor é apenas orientativo<sup>8</sup>.

Neste trabalho empregaram-se dois procedimentos para efetuar a mistura dos constituintes utilizados na preparação das cápsulas de ibuprofeno, nas doses de 100 e 200 mg: (1) mistura mecânica, em misturador automático de bancada, e (2) mistura manual, utilizando o saco plástico. Foram preparadas cápsulas contendo 100 e 200 mg de fármaco, a fim de determinar o tempo ótimo de mistura quando se tem presente diferentes proporções de fármaco na forma farmacêutica. Nas doses de 100 e 200 mg, o fármaco corresponde a, aproximadamente, 41% e 76% da mistura.

Nas Tabelas 1 e 2 estão expressos os resultados relativos à preparação de 40 cápsulas de ibuprofeno 100 e 200 mg, respectivamente, quando submetidos à mistura mecânica e manual. Os resultados foram expressos em percentual, relativo à quantidade teórica de 250 mg de ibuprofeno.

Para estimar o tempo ótimo de mistura determinou-se o desvio padrão relativo adequado, estabelecendo uma variação de teor do fármaco máxima de 5% e que 95,5% do conteúdo das amostras encontrem-se dentro destes critérios. O desvio padrão adequado (SE) foi calculado da seguinte forma.<sup>5</sup>

$$SE = PA \times V/2$$

Onde:

PA = proporção do fármaco na formulação

V = variação de conteúdo médio de  $\pm 5\%$

O valor 2 corresponde a  $\pm 2$  DP, onde 95,5% das amostras estarão dentro deste limite, seguindo uma distribuição normal (amostras aleatórias).

**Tabela 1** — Teores percentuais de ibuprofeno na mistura de pós para cápsulas de 100 mg, obtida pelos processos mecânico e manual (média ± desvio padrão, n = 8)

Processo de mistura	Processo de mistura			
	Mistura mecânica	3 minutos	5 minutos	10 minutos
Lote 1		100,61 ± 3,48	103,31 ± 0,85	ND
Lote 2		102,41 ± 2,07	104,72 ± 0,74	ND
Lote 3		102,96 ± 1,10	104,92 ± 0,42	ND
Média		101,99 ± 2,48	104,31 ± 0,99	
DPR (%)		2,48	0,94	
<b>Mistura manual</b>				
Lote 1		102,56 ± 5,15	101,41 ± 3,26	103,01 ± 2,25
Lote 2		99,10 ± 6,95	102,41 ± 3,14	103,16 ± 1,34
Lote 3		103,26 ± 1,19	100,31 ± 3,18	103,61 ± 1,62
Média		101,64 ± 5,16	101,37 ± 3,17	103,29 ± 1,72
DPR (%)		5,08	3,13	1,66

ND: não determinado.

**Tabela 2** — Teores percentuais de ibuprofeno na mistura de pós para cápsulas de 200 mg, obtida pelos processos mecânico e manual (média ± desvio padrão, n = 8)

Processo de mistura	Tempo de mistura	
	3 minutos	5 minutos
<b>Mistura mecânica</b>		
Lote 1	101,57 ± 0,42	ND
Lote 2	101,10 ± 0,59	ND
Lote 3	101,48 ± 0,61	ND
Média	<b>101,38 ± 0,56</b>	
DPR (%)	<b>0,55</b>	
<b>Mistura manual</b>		
Lote 1	95,61 ± 1,20	99,58 ± 0,89
Lote 2	99,40 ± 1,37	100,53 ± 2,25
Lote 3	98,60 ± 2,98	99,25 ± 1,50
Média	<b>97,87 ± 2,00</b>	<b>99,87 ± 1,67</b>
DPR (%)	<b>2,04</b>	<b>1,70</b>

ND: não determinado.

Os valores de DPR indicam que para as cápsulas de 100 mg, os tempos ótimos de mistura correspondem a 5 minutos (mistura mecânica) e 10 minutos (mistura manual) (Tabela 1). Para a dose de 200 mg, o tempo de mistura de 3 minutos em misturador automático foi suficiente para se obter uma mistura homogênea dos pós, e na mistura manual foram necessários 5 minutos (Tabela 2). De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que a mistura dos pós realizada no misturador e triturador automático demonstrou maior eficiência no processo de mistura em um menor tempo quando comparado com a agitação manual em saco plástico, empregando-se uma proporção de fármaco de, aproximadamente, 41% em relação ao total de constituintes na mistura. O processo de mistura em saco plástico apresentou desvantagem em relação à perda de material, uma vez que o pó se dissipa quando o saco é aberto e grande quantidade de pó fica aderida à superfície do plástico.

O tempo de mistura a que são submetidos os pós é de fundamental importância para uma distribuição homogênea da substância ativa. Obter uma mistura bem definida e homogênea de pós é uma etapa crítica na preparação de cápsulas em farmácias magistrais. Uma mistura de pós ineficaz pode causar um aumento na variação da quantidade de substância ativa nas cápsulas, resultando, geralmente, na reprovação do produto acabado devido à baixa qualidade.<sup>5</sup>

### **Controle de qualidade das cápsulas manipuladas**

Os resultados obtidos na determinação do peso médio dos lotes preparados para as cápsulas de ibuprofeno nas doses de 100 e 200 mg estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** — Peso médio dos lotes de cápsulas de ibuprofeno

Processo de mistura	Cápsulas 100 mg		Cápsulas 200 mg	
	Peso médio (mg)	DPR (%)	Peso médio (mg)	DPR (%)
Mistura mecânica <sup>1</sup>				
Lote 1	237,7	3,62	251,4	4,78
Lote 2	242,4	2,41	251,2	2,35
Lote 3	237,4	1,88	254,9	1,79
Mistura manual <sup>2</sup>				
Lote 1	234,3	3,97	252,8	2,58
Lote 2	231,4	4,86	253,8	1,73
Lote 3	233,5	6,58	251,7	3,44

1: 5 minutos para cápsulas de 100 mg e 3 minutos para cápsulas de 200 mg.

2: 10 minutos para cápsulas de 100 mg e 5 minutos para cápsulas de 200 mg.

O peso médio constitui uma ferramenta essencial para o controle de qualidade de rotina das farmácias magistrais, podendo indicar a ineficiência da técnica de manipulação empregada. A variação individual de peso permitida para cápsulas duras com peso inferior a 300 mg é de  $\pm 10\%$  em relação ao peso médio.<sup>9</sup> Verificou-se que todos os lotes cumpriram as especificações farmacopéicas em relação a este teste. No entanto, observou-se que as cápsulas de ibuprofeno 100 mg referentes aos lotes 2 e 3 (mistura manual) apresentaram maior variação, sendo que uma unidade do lote 2 apresentou peso próximo ao limite superior (peso de 254,1 mg) e duas unidades do lote 3 apresentaram peso abaixo do limite inferior (pesos de 205,2 e 201,2 mg). No entanto, como a Farmacopéia estabelece que podem ser toleradas duas unidades fora dos limites, desde que as mesmas não estejam acima ou abaixo do dobro das percentagens indicadas, todos os lotes foram aprovados neste teste.

Os teores médios percentuais de ibuprofeno obtidos dos 3 lotes de cápsulas na dose de 100 mg, preparadas após mistura mecânica e manual, foram  $101,90 \pm 1,27\%$  e  $101,34 \pm 1,94\%$ , respectivamente; para as cápsulas preparadas na dose de 200 mg os valores encontrados compreenderam  $98,49 \pm 0,81\%$  e  $97,25 \pm 1,01\%$ , respectivamente. Os resultados obtidos no doseamento das cápsulas de ibuprofeno encontram-se dentro dos valores estabelecidos pela literatura (90 a 110 %), considerando como referência a monografia do ibuprofeno na forma de comprimidos<sup>7</sup>, uma vez que não há metodologia farmacopeica para o doseamento de cápsulas de ibuprofeno.

A uniformidade de doses unitárias pode ser determinada por dois métodos: variação de peso e uniformidade de conteúdo. O método de variação de peso pode ser aplicado se o produto for cápsula mole de conteúdo líquido ou se o produto contiver 50 mg ou mais de um

componente ativo, compreendendo 50% ou mais, em peso, da dose unitária da forma farmacêutica. O produto passa o teste se a quantidade de fármaco em 9 das 10 unidades testadas estiver situada entre 85,0 e 115,0% do valor declarado e nenhuma unidade estiver fora da faixa de 75,0 a 125,0% do valor declarado, e o DPR obtido deve ser menor ou igual a 6,0%. Em não conformidade com estes critérios, testam-se mais 20 unidades. O lote é aprovado se não mais que 3 das 30 unidades testadas estiverem fora da faixa de 85,0% a 115,0% do valor declarado e nenhuma unidade fora da faixa de 75,0% a 125,0% da quantidade declarada, e o DPR das 30 unidades testadas não for maior que 7,8%.<sup>13</sup> Os resultados obtidos nesta avaliação encontram-se representados nas Tabelas 4 e 5.

**Tabela 4** — Valores obtidos na determinação da uniformidade de conteúdo (%) para as cápsulas de ibuprofeno 100 mg, preparadas após mistura dos pós por mistura manual ou mecânica

Cápsula	Mistura mecânica			Mistura manual		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
1	100,06	94,96	101,08	115,86	105,69	80,29
2	99,04	95,98	100,06	93,50	105,69	100,61
3	98,02	97,00	98,02	110,77	108,74	95,53
4	104,15	103,13	101,08	115,86	87,40	87,40
5	102,11	97,00	103,13	95,53	105,69	90,45
6	101,08	100,06	101,08	92,48	88,42	85,37
7	102,11	103,13	100,06	102,64	102,64	82,32
8	103,13	100,06	97,00	95,53	104,68	101,63
9	101,08	95,98	101,08	104,68	103,66	92,48
10	102,11	99,04	100,06	103,66	106,71	100,61
Média	101,29	98,63	100,27	103,05	101,93	91,67
s	1,85	2,94	1,72	8,86	7,56	7,83
DPR (%)	1,83	2,98	1,72	8,60	7,43	8,54

s: desvio padrão.

De acordo com a Tabela 4, as cápsulas de 100 mg de ibuprofeno preparadas pelo processo de mistura mecânica foram aprovadas e os valores percentuais de fármaco encontraram-se dentro dos limites especificados. Entretanto, os lotes de cápsulas de 100 mg preparadas pelo processo de mistura manual foram reprovados. Para os lotes 1 e 3, em duas das 10 unidades testadas, o teor está fora dos limites estabelecidos (85,0 a 115,0 %). Além disso, se verificou grande variação no teor, evidenciado pelos valores de DPR superiores ao permitido (6,0%)<sup>13</sup>, nos três lotes. De acordo com relatos de literatura, lotes cujo peso médio apresente DPR superior a 4% têm grande probabilidade de não serem aprovados no teste de uniformidade de conteúdo.<sup>14</sup> Sendo assim, considerando a variação desses lotes no peso médio (Tabela 3) e os resultados de uniformidade de conteúdo (Tabela 4), não se realizou reteste dos lotes, o que implicaria em determinar o teor individual em mais 20 unidades.

**Tabela 5** — Valores obtidos na determinação da uniformidade de conteúdo (%) para as cápsulas de ibuprofeno 200 mg, preparadas após mistura dos pós por mistura manual ou mecânica

Cápsula	Mistura mecânica			Mistura manual		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
1	96,21	100,50	97,09	99,03	99,66	95,78
2	97,96	98,22	97,98	95,68	98,76	98,54
3	94,19	96,76	95,81	96,90	99,54	101,15
4	100,44	97,67	99,62	100,33	97,19	100,31
5	100,02	100,03	98,72	102,06	101,74	101,58
6	102,15	93,89	99,62	97,77	97,78	95,94
7	100,68	100,50	100,00	101,00	101,62	92,60
8	101,96	100,97	98,18	99,58	100,76	92,22
9	98,31	94,80	95,81	95,68	98,40	100,54
10	95,36	101,92	98,06	97,53	96,99	92,18
Média	98,73	98,53	98,09	98,56	99,24	97,08
s	2,78	2,72	1,50	2,20	1,73	3,83
DPR (%)	2,82	2,77	1,53	2,23	1,74	3,95

s: desvio padrão.

Para as cápsulas contendo ibuprofeno na dose de 200 mg, todos os lotes avaliados apresentaram resultados satisfatórios no teste de uniformidade de doses realizado pelo método de variação de peso.

Cabe salientar que quando se empregou o misturador e triturador automático, baixos valores de DPR foram obtidos, indicando uma maior eficiência no processo de mistura, resultando em boa homogeneidade entre os teores individuais. De acordo com as condições experimentais empregadas, a mistura manual em saco plástico não é recomendada quando se tem uma proporção de fármaco inferior a 50% do total de constituintes na formulação. Conforme mencionado anteriormente, este processo de mistura acarretou em perda de material e adesão dos pós ao saco plástico, obtendo-se uma inadequada distribuição dos pós nas cápsulas; entretanto, estes efeitos não comprometeram os lotes preparados na dose de 200 mg de ibuprofeno, em virtude de uma maior quantidade de fármaco em relação à mistura total de pós.

## CONCLUSÃO

A validação do método analítico por volumetria mostrou-se adequado para quantificação de ibuprofeno nas cápsulas manipuladas. A otimização do tempo ótimo de mistura foi de fundamental importância para a preparação de cápsulas magistrais para os métodos selecionados. A utilização do misturador e triturador automático empregado para a mistura dos constituintes da formulação em comparação à mistura manual em saco plástico demonstrou maior eficiência em um menor tempo quando se empregou uma proporção de fármaco inferior a 50% do conteúdo total da mistura. Além disso, se verificou uma maior homogeneidade dos lotes preparados, obtendo-se a aprovação dos mesmos nos testes empregados (peso médio, doseamento e uniformidade de doses) já que nenhuma análise realizada ficou fora das especificações farmacopéicas. Entretanto, a mistura manual dos pós resultou em reprovação

dos lotes das cápsulas contendo 100 mg de ibuprofeno. Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam a importância de padronização dos processos de obtenção de cápsulas magistrais, bem como a necessidade do controle de qualidade de tais preparações.

## **Referências**

1. Block LH. Medicação tópica. In: Gennaro, AR (ed.) Remington: the science and practice of pharmacy, (A.R. Gennaro, ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. P. 862-84.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n° 67, de 08 de outubro de 2007. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. Diário Oficial da União, Brasília, 09 out. 2007. Seção 1.
3. Allen Jr. LV, Popovich NG, Ansel HC. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 5ª ed. Porto Alegre: Editora ArtMed, 2007.
4. Jackson K, Young D, Pant S Drug-excipient interaction and their affect on absorption. Research Focus, 2000; 3: 336-45.
5. Aulton ME. Delineamento de formas farmacêuticas. Porto Alegre. Editora ArtMed, 2005.
6. Drug Evaluation. Ibuprofen. Englewood, Micromedex, Formato eletrônico. (International Healthcare Series for Windows, v. 115); 2003.
7. Farmacopéia Brasileira. São Paulo. Editora Atheneu; 2001.
8. Ferreira AO. Guia prático de farmácia magistral. São Paulo: Editora Pharmabooks, 2008.
9. Farmacopéia Brasileira. São Paulo. Editora Atheneu; 1988.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n° 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". Diário Oficial da União, Brasília, 02 jun. 2003. Seção 1.
11. USP 32. The United States Pharmacopeia. 32 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2009.
12. BP 2007. British Pharmacopoeia. London: The Stationary Office; 2007.
13. Farmacopéia Brasileira. São Paulo. Editora Atheneu; 1996.
14. Pinheiro GM, Benavide VG, Volpato NM, Cabral LM, Santos EP. Indicadores para controle do processo de manipulação de cápsulas em farmácias. Rev. Bras. Farm, 2008; 89(1): 28-31.

**Cristiane de Bona da Silva** — Av. Roraima, 1000 prédio 26, Centro de Ciências da Saúde. Telefone: + 55 55 3220-8452; Fax: +55 55 3220-8248

**E-mail:** csbona@smail.ufsm.br

Recebido em 23 de novembro de 2010.

Aprovado em 06 de abril de 2011.

## **COMPOSTOS ISOLADOS DE JATROPHA ISABELLI (MÜELL ARG.) COM ATIVIDADE GASTROPROTETORA**

**Janaina Kieling Fröhlich\***, **Aline Augusti Boligon\***, **Andrieli Cassel Feltrin\***, **Vanessa Janovik\***, **Amanda Luana Forbrig Froeder\*\***,  
**Margareth Linde Athayde\*\*\***

**Universidade Federal de Santa Maria**

**RESUMO:** As plantas medicinais são importantes para a pesquisa farmacológica e para o desenvolvimento de fármacos, não somente quando seus constituintes são usados diretamente como agentes terapêuticos, mas também como matérias-primas isoladas para a síntese ou modelo de compostos farmacologicamente ativos. No entanto, apenas uma pequena parte das plantas foi estudada e tiveram suas ações farmacológicas conhecidas. A fim de mostrar o potencial de *Jatropha isabelli* Müell Arg (Euphorbiaceae) para o desenvolvimento de um medicamento a partir de seus ativos isolados, as atividades gastroprotetoras da planta são apresentadas.

**Descritores:** *Jatropha isabelli*; Euphorbiaceae; Yagua rova; Atividade gastroprotetora.

## **COMPOUNDS ISOLATED FROM JATROPHA ISABELLI (MÜELL ARG.) WITH GASTROPROTECTIVE ACTIVITY**

**ABSTRACT:** The medicinal plants are important for the pharmacological research and for the development of drugs, not only when their constituents are used directly as therapeutic agents but also as isolated raw materials for the synthesis or as model of active pharmacologically compounds. However, only a small part of these plants was studied and its pharmacological actions were known. In order to show the potential of *Jatropha isabelli* Müell Arg. (Euphorbiaceae) to development of a medicine from its isolated actives, the gastroprotective activities of the plant are presented.

**Descriptors:** *Jatropha isabelli*; Euphorbiaceae; Yagua rova; Gastroprotective activity.

\* Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

\*\* Aluna da Graduação do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Maria.

\*\*\* Professora Adjunta do Departamento de Farmácia Industrial da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

## Introdução

A biodiversidade dos vegetais constitui uma grande riqueza em potencial para a saúde humana, sendo as plantas fontes de produtos naturais biologicamente ativos. O uso das plantas em práticas populares e tradicionais como medicamentos caseiros e comunitários, processo conhecido como medicina popular, nos remetem a seus princípios ativos como importantes substratos para o desenvolvimento de medicamentos<sup>1,2</sup>.

A procura por substâncias farmacologicamente ativas tem aumentado consideravelmente. Atualmente diversos grupos de pesquisa se dedicam ao estudo da atividade biológica de uma determinada classe de princípios ativos, utilizando a estratégia de modificação molecular para compreender seu mecanismo de ação, de maneira a permitir o desenvolvimento de medicamentos sintéticos mais seguros. Deve-se salientar que os estudos fitoquímicos de algumas plantas permitiram um grande avanço nas pesquisas de novos fármacos ao fornecer substâncias protótipo para o desenho de fármacos mais eficientes em determinados alvos moleculares<sup>3</sup>.

O isolamento dos constituintes ativos de plantas e a administração dos compostos puros é um modo pelo qual constituintes muito potentes podem ser transformados em produtos medicinais seguros de composição uniforme e consistente. Em outros casos, o objetivo pode ser melhorar a substância natural, aumentando suas propriedades desejáveis e minimizando os efeitos colaterais.

O estudo de plantas medicinais que possuam ação sobre o trato gastrointestinal assume grande importância uma vez que os medicamentos atualmente disponíveis para o tratamento destes distúrbios apresentam efeitos colaterais. O uso de antiácidos pode causar constipação e diarreia<sup>4</sup> e o uso crônico de fármacos anti-secretores tais como os antagonistas dos receptores H<sub>2</sub> e os inibidores da bomba de prótons podem gerar problemas como gastrinemia<sup>5</sup>. Além disso, um estudo realizado por Arrais e colaboradores (1997)<sup>6</sup> demonstrou que a procura por medicamentos que tenham ação sobre o aparelho digestivo e o metabolismo é de 24%, indicando que grande parte da população sofre de distúrbios gástricos, existindo grande necessidade de fármacos que apresentem menos efeitos colaterais e maior eficácia. A busca por princípios ativos que possam ser isolados ou servir de modelo para a síntese de novos fármacos é crescente e as pesquisas nesta área são promissoras.

*Jatropha isabelli* Müell Arg. pertence à família Euphorbiaceae, a qual constitui-se de 290 gêneros distribuídos principalmente em regiões tropicais e subtropicais, sendo muito bem representada na flora brasileira<sup>7,8</sup>. Em geral, o caule e as folhas contêm látex branco característico desta família<sup>9</sup>. O gênero *Jatropha* contém aproximadamente 170 espécies conhecidas<sup>8</sup> e compreende plantas de hábitos diferentes, como arbustos e árvores resistentes à seca<sup>10</sup>. As sementes das plantas contêm entre 40-60% de óleo<sup>11</sup>, o qual pode ser utilizado na fabricação de sabonetes e velas, onde substitui a parafina<sup>10,11</sup>.

Uma das espécies mais estudadas deste gênero é *Jatropha curcas*. Van den Berg e colaboradores (1995)<sup>12</sup> isolaram do látex de *J. curcas* um composto com atividade antitumoral (curcaciclina A). Outro composto isolado das sementes desta espécie (curcina) também apresentou efeito antitumoral<sup>13</sup>. Rug e Rupel (2000)<sup>14</sup> verificaram a atividade molusquicida e larvicida dos diferentes extratos de *J. curcas* frente à *Schistosoma mansoni* e *S. haematobium*. Goonasekera e colaboradores (1995)<sup>15</sup> mostraram que os extratos de *J. curcas* possuem efeito abortivo. Mujumdar e Misar (2004)<sup>16</sup>β, 13αβ, 13α verificaram a atividade antiinflamatória do extrato metanólico das raízes na prevenção do edema de pata induzido por carragenina.

Villegas e colaboradores (1997)<sup>17</sup> mostraram que a enzima proteolítica extraída do látex apresentou atividade cicatrizante em feridas de ratos. O óleo de *J. curcas* possui ainda atividade lipásica, a qual pode catalizar reações de transesterificação para a preparação de biodiesel<sup>11,18,19</sup>.

Outra espécie com atividades biológicas importantes é a *Jatropha elliptica*. Calixto e colaboradores (1987)<sup>20</sup> mostraram que o diterpeno jatrofona isolado desta espécie teve efeito inibitório direto nas preparações de músculo liso e cardíaco testadas e também que a potência pode variar de acordo com o estímulo ou tecido empregados para a indução da contração. Martini e colaboradores (2000)<sup>21</sup> avaliaram o composto jatrofona modulando a transmissão glutamatérgica como parâmetro de atividade antinociceptiva. Santos e colaboradores (1999)<sup>22</sup> testaram a atividade molusquicida dos diterpenos isolados jatrofona e jatrolona A e B frente a *Biomphalaria glabrata*. Lima e colaboradores (2006)<sup>23</sup> demonstraram a atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*. Além destes, outros estudos com os terpenos isolados desta espécie são reportados na literatura.

A espécie *Jatropha isabelli* é conhecida na medicina tradicional paraguaia como “yagua rova”. O decocto e o infuso de seus rizomas são recomendados como digestivo, para tratar reumatismo, gota e induzir o aborto. A droga bruta é comercializada na forma de raízes secas<sup>24</sup>. Em Santa Maria, RS, a planta é conhecida como “turubiti” ou “mamoneiro do campo”, e seu uso é popularmente recomendado para dores nas costas. \*

Alguns estudos científicos são reportados na literatura para a espécie *J. isabelli* como as atividades antiprotozoária e antiproliferativa. Na atividade antiprotozoária, Schmeda-Hirschmann e colaboradores (1996)<sup>25</sup> testaram o diterpeno jatrofona isolado dos rizomas de *J. isabelli* contra *Leishmania* spp e *Tripanossoma cruzi* in vitro, bem como contra *Leishmania amazonensis* in vivo. Na atividade antiprotozoária in vitro, a jatrofona foi completamente ativa contra os promastigotas de *Leishmania* spp e *Tripanossoma cruzi*. A atividade in vivo do diterpeno foi avaliada contra ratos infectados com *Leishmania amazonensis*. O composto jatrofona reduziu significativamente o diâmetro das lesões em comparação com os ratos controle, que foram tratados com antimonialo de meglumina. Entretanto, metade dos ratos que receberam jatrofona (25mg/Kg/dia) morreram durante o experimento. Assim, a toxicidade do diterpeno jatrofona torna seu uso impróprio para a terapia da leishmaniose. Theodulóz e colaboradores (2009)<sup>26</sup> avaliaram a atividade antiproliferativa dos diterpenos jatrolona A e B e 16 derivados semi-sintéticos dos mesmos, do composto jatrofona e três derivados deste em culturas de células humanas. As células utilizadas foram fibroblastos de pulmão normal (MRC-5), adenocarcinoma gástrico (AGS), leucemia (HL-60), câncer de pulmão (SK-MES-1) e carcinoma da bexiga (J82). O composto jatrolona A foi inativo contra todas as linhagens de células tumorais, mas sua acetilação originou um composto com atividade antiproliferativa. O composto jatrolona B foi ativo contra todas as linhagens de células tumorais, e seus derivados apresentaram efeitos distintos sobre as linhagens de células selecionadas. O composto jatrofona mostrou forte atividade anticancerígena enquanto que seus derivados 9 $\beta$ , 13 $\alpha$ -diidroxisabellona e 13 $\alpha$ -hidroxi-acetoxisabellona-9 $\beta$  foram menos ativos.

Em meio a estes estudos, os trabalhos realizados sobre a atividade gastroprotetora da planta merecem destaque. A espécie teve os constituintes terpênicos isolados e modificados estruturalmente com a finalidade de verificar a atividade gastroprotetora destes compostos e seus derivados. Este trabalho tem como objetivo reunir estes estudos visando avaliar o potencial gastroprotetor desta planta.

### Compostos isolados de *Jatropha isabelli* Müell Arg.

Os constituintes isolados dos rizomas de *J. isabelli* consistem em terpenóides. Pertino e colaboradores (2007)<sup>24</sup> isolaram o ácido acetil aleuritólico (1), o ácido ciperenóico (2) e o diterpeno jatrofona (3), previamente isolado por Schmeda-Hirschmann e colaboradores em 1996<sup>25</sup> quando este composto foi identificado por métodos espectroscópicos e difração de raios X. Os compostos jatrolona A (4) e B (5), um novo derivado jatrofona (6) denominado 9 $\beta$ , 13-diidroxiiisabellona, seu derivado acetilado (6a) e um monoterpene 1,4-epoxi-p-mentan-2-ol (7) também foram isolados por Pertino e colaboradores (2007)<sup>24</sup>. Estes compostos foram caracterizados por espectrometria de massa e suas estruturas podem ser vistas na Figura 1.

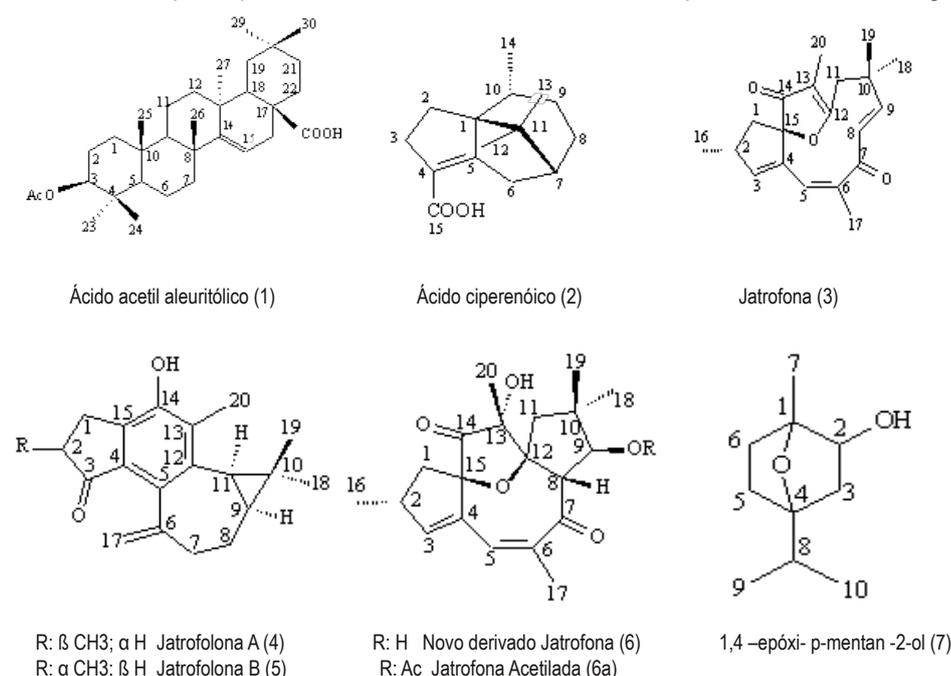


Figura 1 — Estrutura dos terpenos isolados de *Jatropha isabelli* Müell Arg. Fonte: Pertino et al, 24.

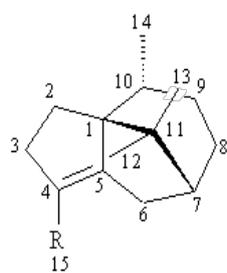
### Atividades gastroprotetoras descritas para *Jatropha isabelli* Müell Arg.

O efeito gastroprotetor dos terpenos ácido acetil aleuritólico (1), do diterpeno jatrofona (3), das jatrolonas A e B (4 e 5), do composto 9 $\beta$ , 13 diidroxiiisabellona (6) e seu derivado acetilado (6a) foi testado por Pertino et al. 24. Este efeito foi avaliado seguindo o modelo de indução de lesão gástrica com ácido clorídrico/etanol em ratos, tendo como padrão o lansoprazol. Os experimentos dose-resposta foram avaliados com doses orais de 25, 50 e 100mg/Kg para os compostos 1, 3 e 5 e os resultados expressos em porcentagem em relação ao controle. O triterpeno ácido acetil aleuritólico (1) apresentou efeito gastroprotetor já na menor dose, reduzindo as lesões em cerca de 50% quando comparado ao lansoprazol. O diterpeno jatrofona (3) apresentou um forte efeito gastroprotetor com diferenças não significantes entre as doses de 25, 50 ou 100mg/Kg e com redução das lesões gástricas de 88 a 93%. As jatrolonas A e B (4 e 5) que diferem somente na estereoquímica do grupamento metila do C-16, mostraram notáveis diferenças na avaliação gastroprotera. Enquanto que a jatrolona A apresentou uma dose-resposta proporcional, com efeito máximo (54% de redução de lesão) na maior dose (100mg/Kg), a jatrolona B mostrou uma ação forte em todas as

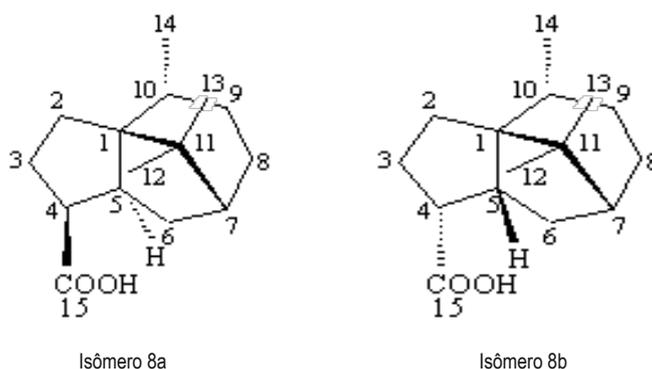
doses, reduzindo as lesões de 83-91%. O diterpeno 9 $\beta$ , 13 dihidroisabelliona (6) e seu derivado acetilado (6a) foram avaliados para dose única de 25mg/Kg. O efeito gastroprotetor do primeiro foi baixo, apenas 35%, mas a presença do acetato melhora sua atividade, reduzindo as lesões em 65%. Os efeitos dos compostos jatrofona (3) e jatrolona B (5) na dose de 25mg/Kg (88 e 83% respectivamente) foram mais elevados que do composto referência lansoprazol na dose de 20mg/Kg (73%).

A citotoxicidade dos compostos isolados foi avaliada através da viabilidade celular de fibroblastos derivados do pulmão humano (MRC-55) e células AGS (células do epitélio gástrico humano). Os resultados foram expressos em IC<sub>50</sub> (concentração que produz um efeito inibitório de 50% da viabilidade celular). O composto jatrofona (3) foi altamente citotóxico para ambas linhagens celulares obtendo IC<sub>50</sub> de 2,5 $\mu$ M para células AGS e de 2,8 $\mu$ M para fibroblastos. Jatrolona B (5) e ácido acetil aleurítico (1) não foram citotóxicos (IC<sub>50</sub> >1000 $\mu$ M), enquanto que a jatrolona A (4) expôs citotoxicidade seletiva contra células AGS (IC<sub>50</sub> 49 $\mu$ M). Os efeitos do novo derivado jatrofona (6) e seu acetato (6a) apresentaram-se similares, com maior citotoxicidade contra fibroblastos (IC<sub>50</sub> 87,5 e 25,8 $\mu$ M, respectivamente) do que contra células AGS (IC<sub>50</sub> 200 e 92,8 $\mu$ M, respectivamente)<sup>24</sup>.

Ainda levando em consideração os terpenos isolados dos rizomas de *J. isabelli*, Pertino et al.<sup>27</sup>, estudaram a atividade gastroprotetora e o efeito citotóxico do sesquiterpeno ácido ciperenólico e seus derivados semi-sintéticos (Figura 2). O efeito gastroprotetor do ácido ciperenólico e dos sete derivados foi avaliado seguindo o modelo de indução de lesão gástrica com ácido clorídrico/etanol em ratos tendo como padrão o lansoprazol. Os resultados foram expressos em porcentagem em relação ao controle. Doses de 50 e 100mg/Kg de ácido ciperenólico mostraram um efeito gastroprotetor dose-dependente, com redução das lesões de 45 e 75%, respectivamente. Os derivados sesquiterpênicos do ácido ciperenólico (compostos de 1-8) foram preparados e suas atividades gastroprotetoras foram testadas na concentração de 50mg/Kg. Nesta concentração, o derivado 8 (formado pela mistura dos isômeros 8a e 8b) apresentou o melhor efeito gastroprotetor, reduzindo as lesões gástricas em 86%, tendo assim, um efeito maior que o controle lansoprazol (20mg/Kg). O efeito gastroprotetor dos derivados 1, 4, 5 e 6, teve o mesmo alcance, reduzindo as lesões gástricas de 72-77%. A citotoxicidade dos compostos foi avaliada através da viabilidade celular de fibroblastos derivados do pulmão humano e células AGS, sendo que os compostos 1 (IC<sub>50</sub> 75 e 44 $\mu$ M, respectivamente) e 4 (IC<sub>50</sub> 75 e 48 $\mu$ M) tiveram os maiores efeitos citotóxicos. O melhor efeito gastroprotetor associado a uma baixa citotoxicidade foi encontrado nos derivados 8, 3 e 7.



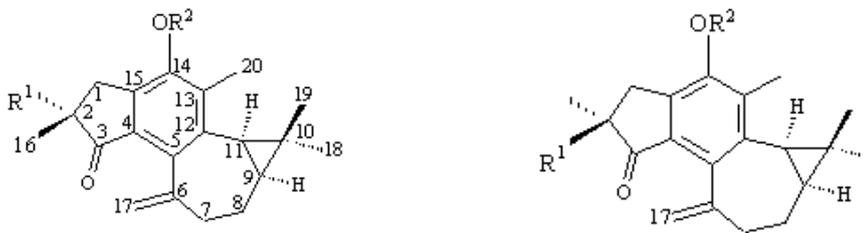
Compostos	R
1	CH <sub>2</sub> OH
2	CH <sub>2</sub> OCOCH <sub>3</sub>
3	COOH
4	COOCH <sub>3</sub>
5	CONHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
6	CONHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
7	CONHPhOCH <sub>3</sub>



**Figura 2** – Estrutura dos compostos 1-8 derivados do ácido ciperenoico.  
Fonte: Pertino et al, 27.

Pertino et al.<sup>28</sup> também avaliaram o efeito gastroprotetor e citotóxico dos diterpenos jatrololona A e B de seus derivados semi-sintéticos (Figura 3). O efeito gastroprotetor foi avaliado seguindo o modelo de indução de lesão gástrica com ácido clorídrico/etanol em ratos, tendo como padrão o lansoprazol. A citotoxicidade foi avaliada através da viabilidade celular de fibroblastos derivados do pulmão humano e células AGS.

O composto 1 (jatrololona A) foi menos ativo que o composto 8 (jatrololona B) na prevenção do aparecimento de úlceras gástricas. Na dose de 25mg/Kg o composto 8 reduziu as lesões em 83% enquanto que o composto 1 reduziu em apenas 36%. Na dosagem de 100mg/Kg todos os derivados do composto 1 (compostos 2-7) foram ativos. Os compostos 4-6 mostraram uma atividade similar a jatrololona A, enquanto que os derivados 2, 3 e 7 tiveram maior atividade. Considerando os derivados do composto 8 (compostos 9-14) e os compostos derivados da mistura das jatrololonas A e B (compostos 15-18), na concentração de 25mg/Kg, os derivados 10, 17 e 18 mostraram o melhor efeito gastroprotetor, enquanto os compostos 14 e 15 foram os menos ativos e o composto 16 foi isento de atividade. Com referência a citotoxicidade, a jatrololona B não foi tóxica contra células AGS e fibroblastos (IC<sub>50</sub> >1000µM), enquanto que a jatrololona A foi citotóxica apenas contra células AGS (IC<sub>50</sub> 49µM).



Jatrololona A (1)			Jatrololona B (8)		
	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>		R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
1	H	H	8	H	H
2	H	CH	9	H	CH <sub>3</sub>
3	H	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	10	H	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>
4	H	Ac	11	H	Ac
5	H	CO-CH=CH <sub>2</sub>	12	H	CO-CH=CH <sub>2</sub>
6	H	CO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -NO <sub>2</sub> -p	13	H	CO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -NO <sub>2</sub> -p
7	H	CO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Cl-p	14	H	CO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Cl-p
			15	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
			16	CH <sub>3</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>
			17	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	CH <sub>3</sub>
			18	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>

**Figura 3** — Estruturas da jatrololona A (1), jatrololona B (8) e seus derivados semi-sintéticos.  
Fonte: Pertino et al, 28.

### Considerações Finais

Muitos de nossos medicamentos atuais são derivados de fontes naturais. Observa-se que aproximadamente 119 substâncias químicas extraídas de cerca de 90 espécies de plantas superiores são usadas na medicina e no mundo, e 77% dessas são derivadas de plantas usadas na medicina tradicional.

Os ensaios biológicos descritos na literatura para alguns compostos ativos isolados a partir das raízes de *J. isabelli* revelam um potente efeito gastroprotetor não relatado pela medicina popular, o que permite uma ampliação dos conhecimentos benéficos desta espécie.

A jatrololona B merece destaque, pois não apresentou toxicidade frente a fibroblastos e células AGS e reduziu as lesões ulcerosas em 83% já na menor dose testada, se comparado com o padrão lansoprazol. Estes dados indicam que a jatrololona B é um terpenóide de efeito gastroprotetor considerável, merecendo estudos mais aprofundados a seu respeito com o objetivo de sintetizá-lo quimicamente para o desenvolvimento de um novo fármaco. Para o desenvolvimento de um medicamento protetor da mucosa estomacal a partir deste ativo, ainda são necessários um maior número de pesquisas a nível farmacológico, toxicológico e molecular para permitir a constatação do seu mecanismo de ação total ou parcial. A avaliação toxicológica deve comprovar a segurança do ativo e os estudos de farmacologia pré-clínica e farmacologia clínica, devem ser realizados segundo as normas que regem os processos de validação de fármacos puros<sup>29</sup>.

Os estudos já comprovados para *J. isabelli* demonstram apenas uma parte do potencial desta planta para o desenvolvimento de medicamentos gastroprotetores. Entretanto, persiste ainda a necessidade de demonstrar, através de pesquisas, outras atividades farmacológicas, as quais remetem o seu uso popular para tratar gota e reumatismo.

*J. isabelli* é uma planta bastante promissora do ponto de vista químico e farmacológico, podendo demonstrar outras propriedades interessantes a partir do maior número de pesquisas a seu respeito, uma vez que pouco se sabe da atividade química e biológica desta planta.

### **Referências Bibliográficas**

1. Maciel MAM, Pinto AC, Veiga JR VF, Grynberg NF, Echevarria A. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova* 2002; 25 (3): 429-438.
2. Calixto JB. Fitofármacos no Brasil: agora ou nunca! *Ciência hoje* 1997; 21 (1234): 26-30.
3. Barreiro EJ. Produtos Naturais Bioativos de Origem Vegetal e o Desenvolvimento de Fármacos. *Química Nova* 1990; 13(1): 29-39.
4. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. *Farmacologia*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
5. Garnett, WR. Considerations for long-term use of proton-pump inhibitors. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 1998; 55(21):2268-2279.
6. Arrais PSD, Coelho HLL, Batista MCDS, Carvalho ML, Righi RE, Amau JM. Perfil da automedicação no Brasil. *Revista de Saúde Pública*. 1997; 31: 71-77.
7. Weberling F, Schwantes HO. *Taxonomia Vegetal*. 4ª. ed. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária Ltda, 1986.
8. Joly AB. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 12ª. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998.
9. Schultz A. *Introdução à botânica sistemática*. 5ª.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade, v.2, 1985.
10. Kumar A, Sharma S. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review. *Industrial Crops and Products* 2008; 28(1): 1-10.
11. Shah S, Sharma S, Gupta MN. Biodiesel preparation by lipase-catalysed transesterification of *Jatropha* oil. *Energy e Fuels* 2004; 18(1): 154-159.
12. Van den Berg AJ, Horsten SF, Kettenes Van den Bosch JJ, Kroes BH, Beukelman CJ, Loefflang BR, Labadie RP. Curcacycline A: a novel cyclic octapeptide isolated from the latex of *Jatropha curcas* Linn. *FEBS Lettes*.1995; 358:215-218.
13. Lin J, Yan F, Tang L, Chen F. Antitumor effects of curcin from seeds of *Jatropha curcas*. *Acta Pharmacology*. 2003; 24 (3): 241-246.
14. Rug M, Ruppel A. Toxic activities of the plant *Jatropha curcas* against intermediate snail hosts and larvae of schistosomes. *Tropical Medicine and International Health*. 2000; 5(6): 423-430.
15. Goonasekera MM, Gunawardana VK, Jayasena K, Mohammed SG, Balasubramaniam S. Pregnancy terminating effect of *Jatropha curcas* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 1995; 47: 117-123.
16. Mujumdar AM, Misar AV. Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 90: 11-15.
17. Villegas LF, Fernandez ID, Maldonado H, Torres R, Zavaleta A, Vaisberg AJ, Hammond GB. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. *Journal of Ethnopharmacology*. 1997; 55: 193-200.

18. Staubman R, Ncube I, Gübitz GM, Steiner W, Read JS. Esterase and lipase activity in *Jatropha curcas* L. Seeds. *Journal of Biotechnology*. 1999; 75(2-3): 117-126.
19. Openshaw k. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass and Bioenergy*. 2000; 19(1):1-15.
20. Calixto JB, Sant'Ana AEG. Pharmacological analysis of the inhibitory effect of jatrophone, a diterpene isolated from *Jatropha elliptica*, on smooth and cardiac muscles. *Phytotherapy Research*. 1987; 1(3): 122-126.
21. Martini LH, Souza CR, Marques PB, Calixto JB, Yunes RA, Souza DO. Compounds Extracted from *Phyllanthus* and *Jatropha elliptica* Inhibit the Binding of [3H]Glutamate and [3H]GMP-PNP in Rat Cerebral Cortex Membrane. *Neurochemical Research*. 2000; 25(2): 211-215.
22. Santos AF, Sant'Ana AEG. Molluscicidal activity of the diterpenoids jatrophone and jatropholones A and B isolated from *Jatropha elliptica* (Pohl). *Phytotherapy Research*. 1999; 13(8): 660-664.
23. Lima MRF, Luna JS, Santos AF, Andrade MCC, Sant'Ana AEG, Genet JP, Marquez B, Neuville L, Moreau N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006; 105 (1-2): 137-147.
24. Pertino M, Schmeda-Hirschmann G, Rodriguez JA, Theoduloz C. Gastroprotective effect and citotoxicity of terpenes from Paraguayan crude drug "yagua rova" (*Jatropha isabelli*). *Journal of Ethnopharmacology* 2007a; 111(3): 553-559.
25. Schmeda-Hirschmann G, Razmilic I. Antiprotozoal activity of Jatrogrossidione from *Jatropha grossidentata* an Jatrophone from *Jatropha isabelli*. *Phytotherapy Research* 1996; 10: 375-378.
26. Theoduloz C, Rodriguez JA, Pertino M, Schmeda-Hirschmann G. Antiproliferative activity of the diterpenes jatrophone and jatropholone and their derivatives. *Planta Medica*. 2009; 75(14): 1520-1522.
27. Pertino M, Schmeda-Hirschmann G, Rodriguez JA, Theoduloz C, Razmilic I. Gastroprotective activity and citotoxic effect of cyperenoic acid derivatives. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2006; 58: 1507-1513.
28. Pertino M, Schmeda-Hirschmann G, Rodriguez JA, Theoduloz C. Gastroprotective effect and citotoxicity of semisynthetic Jatropholone derivatives. *Planta Med* 2007b; 73: 1095-1100.
29. Yunes RA, Pedrosa RC, Filho VC. Fármacos e Fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Química Nova* 2001; 24(1): 147-152.

#### **Endereço para correspondência**

**Janaina Kieling Fröhlich** — Universidade Federal de Santa Maria, Prédio 26, sala 1411, Bairro Camobi, Santa Maria. Tel: (055) 3220-9618

**E-mail:** janafrohlich@yahoo.com.br

Recebido em 30 de novembro de 2010.

Aceito em 07 de abril de 2011.

## **AVALIAÇÃO DA DETECÇÃO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS UTILIZANDO BACTERIOLÓGICO QUANTITATIVO E REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE E DO PH**

**Rosiéli Martini\***, **Mônica de Abreu Rodrigues\*\*\***, **Andressa Oss-Emer Soares**, **Livia Gindri**, **Maísa Kraulich Tizotti\***, **Cláudia Barbisan Kempfer\***, **Magda Roehrs\***, **Letícia Eichstaedt Mayer\***, **Viviane Ratzlaff**, **Rosmari Horner\*\***

**Universidade Federal de Santa Maria**

**RESUMO:** Introdução: A contaminação bacteriana em concentrados plaquetários (CPs) constitui um problema crítico devido ao risco de eventos sépticos associados à transfusão. A cultura microbiológica dos CPs apresenta alguns desafios como o volume pequeno do inóculo inicial e o tempo para a liberação do resultado. Neste estudo nós avaliamos o desempenho na detecção da contaminação em 79 amostras de CPs provenientes do Hemocentro do Estado do Rio Grande do Sul de Santa Maria no ano de 2010 por duas diferentes metodologias. Material e Métodos: Cultura bacteriológica quantitativa: semeadura de 100 µL de CPs em ágar sangue; e marcadores metabólicos: medida de glicose e pH com tiras reagentes. Resultados: Em todas as análises deste estudo a glicose apresentou valores positivos e 91,13% ficou com pH acima de 7,5 e 8,87% abaixo de 7,0. No 5º dia 83,55% das amostras apresentaram glicose negativa. Não houve crescimento bacteriano em nenhuma das amostras que apresentaram pH inicial ácido. A taxa de contaminação bacteriana foi de 1,27% (*Staphylococcus epidermidis*). Conclusão: Concluímos que os marcadores metabólicos utilizados não permitiram a detecção da contaminação bacteriana, uma vez que a amostra positiva não mostrou relação com a acidificação do pH e do consumo da glicose.

**Descritores:** PH; Glicose; Contaminação bacteriana; Concentrados plaquetários; Cultura microbiológica.

## **EVALUATION OF DETECTION OF BACTERIAL CONTAMINATION IN PLATELET CONCENTRATES USING THE QUANTITATIVE BACTERIOLOGICAL AND REDUCTION THE CONCENTRATION OF GLUCOSE AND PH**

**ABSTRACT:** Background: Bacterial contamination in platelet concentrates (PCs) is a critical problem due to the risk of septic events associated with transfusion. The microbiological culture of the PCs present some challenges as the small volume of inoculum and time to release of results. In this study we evaluated the performance in the detection of contamination in 79 samples PCs from the Blood Center of the State of Rio Grande do South of Santa Maria in 2010 by two different methodologies. Methods: Quantitative bacteriological: seeding of 100 µL of PCs on blood agar; and metabolic markers: measurements of glucose and pH by reagent strips. Results: In all analysis of this study the glucose showed positive values and 91.13% remained above pH 7.5 and 8.87% below 7.0. At 5° day 83.55% of the samples were negative glucose. There was no bacterial growth in any of the samples with initial pH acid. The rate of bacterial contamination was 1.27% (*Staphylococcus epidermidis*). Conclusion: We conclude that metabolic markers used did not allow the detection of bacterial contamination, since the positive sample was not related to the acidification of pH and consumption of glucose.

**Descriptors:** PH; Glucose; Bacterial contamination; Platelet concentrates; Microbiological culture.

\* Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

\*\* Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

\*\*\* Acadêmica do Curso de Farmácia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

## **Introdução**

Atualmente a infusão de hemocomponentes contaminados por bactérias é uma das principais causas de morbidade e mortalidade entre os receptores.<sup>1</sup> Este fato representa um considerável problema de saúde pública, especialmente no Brasil.<sup>1,2</sup> A contaminação bacteriana pode estar presente em qualquer hemocomponente, principalmente em concentrados plaquetários (CPs), devido à temperatura de armazenamento (20 - 24 °C) que facilita a proliferação dos microrganismos. Os CPs são os responsáveis pela maior parte dos casos de reações sépticas transfusionais.<sup>3,4</sup>

Vários procedimentos screening são utilizados na rotina pelos bancos de sangue para reduzir os incidentes da contaminação bacteriana de CPs.<sup>2,5-8</sup> Alguns métodos microbiológicos têm sido efetivos na detecção das bactérias presentes nos CPs, porém com o inconveniente de necessitar um grande intervalo de tempo para a liberação do resultado. Além disso, a maioria destes métodos possui baixa sensibilidade para detectar pequenas quantidades de unidades formadoras de colônia por mL de sangue (UFC/mL).<sup>5,9</sup>

É de consenso que o crescimento bacteriano provoque uma redução nos níveis de glicose e pH nos líquidos biológicos, como por exemplo, nos CPs. Consequentemente, a diminuição da glicose e dos níveis de pH têm sido amplamente utilizados como indicadores de presença bacteriana.<sup>10-14</sup> Este teste é um dos métodos sugeridos pela American Association of Blood Banks (AABB), sendo utilizado em vários países.<sup>12</sup> Entretanto, até o momento, não constatamos nenhum estudo brasileiro que utilizasse esta metodologia com a finalidade de investigar contaminação bacteriana em CPs.

Desta maneira, visto que a transfusão de CPs contaminados com bactérias pode causar reações transfusionais sépticas com desfechos fatais, a prevenção e/ou a redução da ocorrência destas reações constitui um dos maiores desafios enfrentados nos bancos de sangue e na medicina transfusional.<sup>15,16</sup>

Por isso o nosso estudo objetivou investigar a contaminação bacteriana em CPs através de duas metodologias: cultura quantitativa e variação da concentração da glicose e dos níveis de pH das amostras provenientes do Hemocentro do Estado do Rio Grande do Sul (HEMORGS), de Santa Maria (RS).

## **Material e métodos**

### **Coleta e destino das amostras**

Foram analisadas 79 amostras de CPs de até 24 h as quais foram coletadas no HEMORGS, durante os meses de setembro e outubro de 2010. Não existiram critérios de exclusão, portanto todas as amostras de CPs obtidas nesse período foram incluídas nesta pesquisa.

Estas amostras foram provenientes de dois tipos de coleta: 74 CPs obtidos pela centrifugação do sangue total (plaquetas randômicas) e 5 obtidos pelo método de aférese (plaquetaféreses). Os CPs avaliados neste estudo foram coletados a partir da porção tubular das bolsas. Cabe relatar que a porção utilizada neste estudo seria desprezada pelo HEMORGS, não acarretando desperdício de CPs. Após a coleta as amostras foram

encaminhadas para o Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas (DACT) do Centro de Ciências da Saúde (CCS), onde foi efetuado este estudo.

### **Preparação das amostras**

No laboratório de Bacteriologia as amostras foram manipuladas em cabine de segurança biológica, classe II, tipo B2. A porção tubular da bolsa de plaquetas foi desinfetada com álcool 70% (fricção por aproximadamente 1 minuto).

As duas metodologias realizadas neste estudo foram:

### **Semeadura em placa de ágar sangue (AS) de carneiro, com contagem (quantitativa).<sup>2,17,18</sup>**

Foram semeados 100 µL dos CPs em AS, com o auxílio de pipeta automática, os quais foram incubados a 35 °C ± 2 °C 5% de CO<sub>2</sub>, por 24 – 48 h.

A análise do crescimento de colônias bacterianas foi feita nas 24 – 48 h após a semeadura. Nas amostras em que houve crescimento de colônias (positivas) foi efetuada a sua contagem e o resultado relatado foi em UFC/mL, utilizando fator de multiplicação de 10X. Com as amostras positivas foram realizadas, na sequência, coloração de Gram e identificação fenotípica convencional<sup>19</sup> e automatizada (MicroScan®-SIEMENS).

### **Medida do pH e glicose.<sup>10-14</sup>**

Aproximadamente 200 µL da porção tubular da bolsa de plaquetas, com o auxílio de seringa e agulha estéreis, foram transferidos para um tubo de vidro esterilizado e rosqueado contendo 2 mL de caldo Mueller Hinton (CMH) e incubados por 5 dias a 35 °C ± 2 °C. A glicose e o pH foram mensurados com o auxílio de tiras reagentes (Biocolor®-Bioeasy) nas primeiras 24 h após a coleta, em amostra de CPs puro, posterior a adição das plaquetas em 2 mL do CMH e na sequência efetuaram-se mais quatro medidas até o quinto dia, com intervalo de 24 h em cada análise.

Com relação à glicose, nesta pesquisa as amostras foram agrupadas como glicose positiva (faixa de 100 - 2000 mg/dL) e glicose negativa (inferior à 50 - 100 mg/dL); em relação ao pH agrupadas em três níveis diferentes: amostras básicas (acima de 7,5), neutras (7,0 - 7,5) e ácidas (abaixo de 7,0).

Também foi utilizado um controle negativo constituído apenas de CMH, que foi manipulado da mesma forma que as amostras, com a finalidade de verificar possíveis influências na determinação da glicose e do pH.

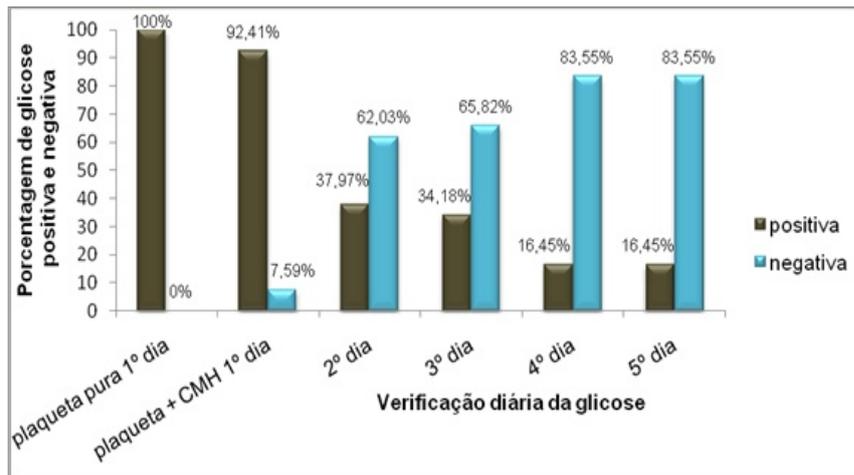
### **Conceitos éticos**

O presente trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), sob o número 0285.0.243.000-09.

### **Resultados**

Em 1 das 79 amostras (1,27%) houve crescimento bacteriano de incontáveis UFC/mL (método bacteriológico quantitativo), oriunda de CP randômico. Cocos gram-positivos foram visualizados na microscopia (coloração de Gram), sendo identificados como *Staphylococcus epidermidis* (metodologia fenotípica convencional e automatizada).

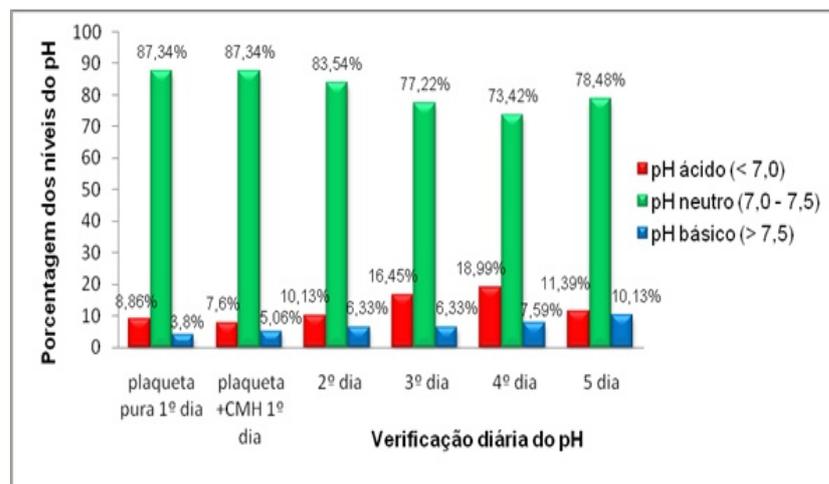
Nos parâmetros metabólicos concentração de glicose e pH, na metodologia na qual foram utilizadas as fitas de urina, detectamos uma grande variação na concentração da glicose medida no primeiro e no quinto dia. Em todas as amostras analisadas neste estudo, a glicose apresentou-se positiva, quando medida na plaqueta pura. No primeiro dia, quando a plaqueta foi semeada no CMH, 92,41% mostrou-se positiva. 62,03% das amostras no segundo dia foram negativas. No quarto e quinto dias em aproximadamente 84% das amostras a glicose foi negativa (Gráfico 1).



**Gráfico 1** — Relação da porcentagem positiva ou negativa dos níveis de glicose de todas as amostras analisadas durante a realização diária das suas medidas.

A amostra que apresentou crescimento bacteriano foi glicose positiva no primeiro dia (500 mg/dL). Nos segundo, terceiro, quarto e quinto dias a amostra positiva permaneceu com glicose positiva (100 mg/dL). O controle negativo, composto apenas de CMH, mostrou-se negativo durante todas as medidas (primeiro ao quinto dia).

O pH apresentou oscilação nos seus valores, em todas as amostras analisadas (Gráfico 2). No primeiro dia, 8,86% das amostras (7 de 79) tiveram pH ácido (plaqueta pura sem CMH). A amostra na qual foi isolado o *S. epidermidis*, teve pH neutro na plaqueta pura e no CMH no primeiro dia. No segundo dia apresentou-se pH neutro e nos demais dias, pH básico (8,0). Além disso, algumas amostras isentas de microrganismos que inicialmente eram neutras ou básicas tornaram-se ácidas no final da análise.



**Gráfico 2** — Relação da porcentagem dos níveis de pH de todas as amostras durante a realização diária das suas medidas.

## Discussão

A contaminação bacteriana das plaquetas constitui o risco de infecção mais comum das transfusões. A presença de bactérias contaminantes em plaquetas pode desencadear eventos sépticos. Os receptores destes CPs transfundidos normalmente são pacientes imunossuprimidos e, portanto mais suscetíveis a infecções bacterianas.<sup>4</sup>

Atualmente, devido à emergência de episódios de sepse após transfusões de plaquetas, os serviços de hemoterapia juntamente com os órgãos responsáveis pelo controle de qualidade vêm buscando desenvolver e aprimorar técnicas eficientes, práticas e mais rápidas que as bacteriológicas na detecção de bactérias em componentes sanguíneos.

A cultura bacteriana é claramente o método atual de escolha para a detecção da contaminação bacteriana em plaquetas obtidas por aférese (único doador), porém, este método não tem sido prático para a avaliação dos CPs randômicos.<sup>14</sup> O que pode tornar o método de cultura microbiológica não realizável numa rotina de banco de sangue, onde há uma grande escala de produção de CPs derivados de sangue total, é devido à elevada mão de obra que depende da quantidade de CPs produzidos e pelo intervalo de tempo necessário para o crescimento bacteriano, diferentemente das amostras de plaquetaféreses, as quais são de baixa produção e direcionadas a determinados pacientes. Por esta razão, desde 2004 a AABB permitiu o uso de técnicas alternativas para a detecção de bactérias. Esta associação permite incluir o uso da coloração bacteriana (Gram) e de fitas de urina multi-reagentes para detectar a redução da concentração de glicose e pH causada pelo crescimento bacteriano.<sup>12</sup> Além do mais, nos países acreditados pelo Food and Drug Administration (FDA), a análise microbiológica é preconizada em todas as amostras de plaquetas.<sup>12</sup>

Já no Brasil, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 153, de 14 de junho de 2004 estabelece que o controle microbiológico seja realizado em apenas 1% das bolsas produzidas ou em 10 amostras aleatórias por mês; a escolha deve ser em relação a que apresentar maior número de amostras.<sup>20</sup> Esta nossa RDC não preconiza a execução da triagem em toda a produção mensal e não descreve a metodologia de cultura preconizada para este fim.<sup>20</sup>

A prevalência da contaminação bacteriana neste estudo foi de 1,27% (1 de 79), semelhante ao estudo anterior por nós realizado no ano de 2009 e início de 2010, no qual detectamos 1,7% (5 de 292) de contaminação nos CPs do HEMORGS.<sup>2</sup> Já Cunha e cols (2006) detectaram uma contaminação menor em CPs, de 0,4% (8 de 2000), em estudo realizado em Goiânia (BRA).<sup>1</sup>

A taxa de contaminação encontrada em nosso estudo, também quando comparada com pesquisas realizadas fora do Brasil, se encontra um pouco maior aos estudos de Walther-Wenke e cols (2010) que encontraram um valor de 0,3% de culturas contaminadas de CPs (169 de 52.243), estudo realizado em centros da Cruz Vermelha na Alemanha.<sup>21</sup> E em outra pesquisa efetuada na Fundação do serviço de doação de sangue em Taiwan, Hsueh e cols (2009) obtiveram 0,34% (8 de 2.338) de contaminação em CPs.<sup>22</sup>

No entanto, quando compararmos a prevalência de contaminação deste estudo com o descrito por Cunningham e cols (1973), realizado em um centro de transfusão no sudeste da Escócia, nossos valores se encontraram 5 vezes inferior a contaminação relatada (6,3% = 63 de 1000).<sup>23</sup>

No que se refere aos marcadores metabólicos utilizados, a redução da concentração da glicose a limites não detectáveis, em 62,03% das amostras no segundo dia da análise, e de aproximadamente 84% no final do quarto e quinto dias, poderia sugerir a contaminação das

mesmas. Portanto, não foi possível estabelecer nenhuma relação da variação da glicose com a presença de bactérias nos CPs, já que a negatização da glicose (83,55%) ocorreu numa taxa aproximadamente 66 vezes superior a prevalência bacteriana encontrada neste estudo (1,27%) não sendo um indicativo de contaminação bacteriana dos CPs. A redução do pH também não mostrou ser um parâmetro confiável na mesma detecção, uma vez que iniciou com 8,86% (7 das 79) das amostras com pH ácido; teve o maior pico no quarto dia, com 18,99% das amostras com este pH e baixando para 11,39% no quinto dia. Além do mais, a amostra em que foi isolado os *S. epidermidis* na cultura, não apresentou pH ácido.

Quando comparamos a metodologia do pH e da glicose com a cultura quantitativa, nossos resultados não demonstraram nenhuma relação da diminuição do pH e do consumo da glicose com a presença de bactéria na amostra de plaquetas analisada, estando em conformidade com o estudo realizado por Myhre e cols (1985) o qual também verificou que o pH pode diminuir, permanecer inalterado, ou, em alguns casos, até aumentar nas amostras com crescimento bacteriano.<sup>24</sup> Também está de acordo com demais estudos descritos na literatura internacional, como o executado por Tarrand e cols (2004) na Universidade do Texas (EUA) que afirma que as tiras reagentes são consistentemente insensíveis para detectar contaminação por *S. epidermidis* em plaquetas.<sup>25</sup>

Estudo feito por Clark e cols (2006) na Universidade do Sistema de Saúde da Virgínia (EUA), também compararam os resultados da cultura com o pH e a glicose, e concluíram que as fitas reagentes não identificaram nenhuma amostra que foi positiva pela cultura microbiológica.<sup>14</sup> Na pesquisa realizada por Werch e cols (2002) na Universidade do Texas (EUA), somente 2 de 30 CPs contaminados foram detectados pelas fitas reagentes, correlacionando-se pobremente com a contaminação bacteriana, demonstrando assim um baixo valor preditivo positivo.<sup>11</sup>

Wagner e cols (1996) na Cruz Vermelha Americana (EUA) e Burstain e cols (1997) na Universidade da Carolina do Norte (EUA), também alertam que para as fitas detectarem a contaminação bacteriana por estes dois parâmetros são necessárias altas taxas de UFC/mL, em torno de  $10^7$  UFC / mL, o que demonstra sua baixa sensibilidade.<sup>10,26</sup> Entretanto, Burstain e cols (1997) afirmam que as tiras reagentes podem ser utilizadas de forma rápida e barata para a detecção de contaminação bacteriana em CPs.<sup>26</sup> Isto é devido que estes testes são considerados simples, rápidos e de baixo custo, porém, podem apresentar uma altíssima taxa de falsos-positivos.<sup>27</sup>

Os nossos resultados nos permitem concordar com a conclusão de Clark e cols (2006), o qual descreve que nenhuma técnica alternativa, que não a bacteriológica, para a detecção da contaminação bacteriana em CPs é efetiva.<sup>14</sup> Yomtovian e cols (1993) em um estudo efetuado na Universidade da Reserva de Case Western (EUA), e a AABB (2004) relatam que o bacteriológico detecta bactérias à níveis de  $10^2$  UFC / mL e o bacterioscópico somente quando os níveis estão em  $10^4 - 10^6$  UFC / mL.<sup>12,28</sup> Além disso, a coloração ainda depende da prática do operador para a liberação do resultado, representando, portanto, uma análise não facilmente incorporável da rotina diária.<sup>14</sup>

Com as amostras ensaiadas neste estudo, não houve correlação entre as duas metodologias utilizadas na detecção da contaminação bacteriana dos CPs. Este estudo foi uma tentativa de avaliar o desempenho de uma nova metodologia (marcadores metabólicos) para investigar este tipo de contaminação, método já referido na literatura internacional destacando-se por sua facilidade na execução, pelo curto intervalo de tempo e por seu custo acessível.

Na prática, a mudança da cor da fita reagente na detecção do pH e concentração de glicose poderia representar uma metodologia rápida e de fácil interpretação por qualquer operador na rotina dos hemocentros, diferentemente das dificuldades na leitura do método que usa a coloração de Gram e/ou da cultura, a qual necessita de mais tempo para a liberação. No entanto, nossos resultados demonstraram ser este método não específico e pouco confiável para detectar bactérias em plaquetas.

### **Conclusão**

Mesmo que haja melhorias no que se refere ao procedimento anterior à coleta, como por exemplo, na assepsia do local da punção, no questionário de triagem, na realização completa do leucograma e entre outros, no Brasil, permanece a necessidade de buscarmos aprimoramento das técnicas existentes e o uso de métodos automatizados para a detecção de contaminantes bacterianos principalmente em plaquetas. Destaca-se, em especial o Bact/Alert, o qual é considerado um sistema de detecção microbiana com tecnologia de ponta, destacando-se por sua alta sensibilidade e especificidade, rapidez e exatidão na obtenção dos resultados e além do mais por 95% de recuperação de microrganismos em até 24 horas. Só assim, será possível garantirmos maior segurança nas transfusões sanguíneas, já que os pacientes são únicos em suas necessidades.

### **Referências Bibliográficas**

1. Cunha Júnior GS. Prevalência da contaminação bacteriana em concentrados de plaquetas do serviço de hemoterapia de um hospital universitário em Goiânia-GO. 2006. 75 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.
2. Martini R, et al. Contaminação bacteriana em concentrados plaquetários: identificação, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e sepse associada à transfusão. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2010; 43: 682-685.
3. Goldman M, Blajchman MA. Blood product-associated bacterial sepsis. *Transfus Med Rev* 1991; 5: 73-83.
4. Blajchman MA, Goldman M. Bacterial contamination of platelet concentrates: incidence, significance, and prevention. *Semin Hematol* 2001; 38: 20-26.
5. Mitchell KMT, Brecher ME. Approaches to the detection of bacterial contamination in cellular blood products. *Transfus Med Rev* 1999; 13: 132-44.
6. Pietersz RNI, Engelfriet CP, Reesink HW. Detection of bacterial contamination of platelet concentrates. *Vox Sang* 2003; 85: 224-239.
7. Morel P, Deschaseaux M, Bertrand X, Naegelen, Talon D. Transfusion et bactéries: risque résiduel et perspectives de prévention. *Transfus Clin Biol* 2003; 10: 192-200.
8. Blajchman MA, Goldman M, Baeza F. Improving the bacteriological safety of platelet transfusion. *Transfus Med Rev* 2004; 18: 11-24.
9. Murphy WG, Smyth J. Testing for bacteria in platelet concentrates: defining the parameters. *Transfus Apher Sci* 2001; 24: 247-249.

10. Wagner SJ, Robinette D. Evaluation of swirling, pH, and glucose tests for the detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *Transfusion* 1996; 36: 989-993.
11. Werch JB, Mhawech P, Stager CE, Banez EI, Lichtiger B. Detecting bacteria in platelet concentrates by use of reagent strips. *Transfusion* 2002; 42: 1027-1031.
12. American Association of Blood Banks Standards for Blood Banks and Transfusion Services, 23rd ed, AABB, Bethesda, 2004, Section 5.1.5.1, p 11.
13. Hay SN, Brecher ME. Validation of pH and glucose determination for bacteria detection screening in platelet concentrates stored in the Terumo Teruflex XT612 platelet container. *Transfusion* 2004; 44: 1395.
14. Clark P, Parsons TM, Boyd JC, Dewey P, Mintz PD. Imported Platelets Demonstrate Decreased pH and Glucose by Reagent Strip Testing when Compared to Locally Derived Platelets. *Annals of Clinical & Laboratory Science* 2006; 36: 443-446.
15. Depcik-Smith ND, Hay SN, Brecher ME. Bacterial contamination of blood products: factors, options, and insights. *J Clin Apher* 2001; 16: 192-201.
16. Kopko PM, Holland PV. Mechanisms of severe transfusion reactions. *Transfus Clin Biol* 2001; 8: 278-281.
17. Guerin GD, Burter LP. Avaliação de Concentrados Plaquetários produzidos pelo serviço de Hemoterapia de Hospital de Santo Ângelo: implantação de um sistema de controle de qualidade. *Rev Bras Anal Clin* 2006; 38: 287-92.
18. Yomtovian RA, et al. Evolution of surveillance methods for detection of bacterial contamination of platelets in a university hospital, 1991 through 2004. *Transfusion* 2006; 46: 719-730.
19. Koneman EW, Stephen AD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas Colorido*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2008.
20. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução 153 de 13 de junho de 2004. Determina o Regulamento Técnico para os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue, e seus componentes, obtidos do sangue venoso, do Cordão umbilical, da placenta e da medula óssea. *Dí'srio Oficial da União, Brasília, DF, 24 de Junho; Seção 1, 2004. p. 68.*
21. Walther-Wenke G, et al. Screening of platelet concentrates for bacterial contamination: spectrum of bacteria detected, proportion of transfused units, and clinical follow-up. *Ann Hematol* 2010; 89: 83-91.
22. Hsueh JC, et al. Blood surveillance and detection on platelet bacterial contamination associated with septic events. *Transfus Med* 2009; 19:350-356.
23. Cunningham M, Cash JD. Bacterial contamination of platelet concentrates stored at 20° C. *J Clin Pathol* 1973; 26: 401-404.
24. Myhre BA, Demianew SH, Yoshimori RN, Nelson EJ, Carmen RA. pH changes caused by bacterial growth in contaminated platelet concentrates. *Ann Clin Lab Sci* 1985; 15: 509-514.
25. Tarrand J, Sazama KJ, Lichtiger B. Reagent Strips May Not Detect *Staphylococcus epidermidis* Contamination of Platelet Concentrates. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128: 852-853.
26. Burstain JM, Brecher ME, Workman K, Foster M, Faber GH, Mair D. Rapid identification of bacterially contaminated platelets using reagent strips: glucose and pH analysis as markers of bacterial metabolism. *Transfusion* 1997; 37: 255-258.
27. Byrne KM, Grose LH, Renoud, KJ. Detecting Platelet Contamination: It's in the Bag. *Transfusion therapy is plagued by an onslaught of viral pathogens. ADVANCE for Medical Laboratory Professionals* 2004; 16:18.
28. Yomtovian R, Lazarus HM, Goodnough LT, Hirschler AM, Morrissey AM, Jacobs MR. A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent the transfusion of bacterially contaminated platelets. *Transfusion* 1993; 33: 902-909.

**Rosiéli Martini** — Rua Floriano Peixoto 1321 ap 202, Centro, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Telefone: (55)30251275

**E-mail:** rosifarma@gmail.com

Recebido em 31 de janeiro de 2011.

Aprovado em 07 de abril de 2011.

## **ATENÇÃO FARMACÊUTICA EM DERMATOLOGIA: FÁRMACOS E ANTIACNEICOS**

**Mariana Piana\*; Gisele Scotti do Canto\*\***

**Universidade Federal de Santa Maria**

**RESUMO:** Atenção farmacêutica é um modelo de prática farmacêutica que compreende atitudes, valores éticos, conhecimento científico, habilidades de comunicação e responsabilidades por parte do farmacêutico sobre a farmacoterapia, o uso racional de medicamentos e a prevenção de doenças. Para uma atenção farmacêutica adequada, o Farmacêutico dispõe de técnicas para realizar a dispensação dos medicamentos visando o entendimento do tratamento pelo paciente. Entre os principais medicamentos prescritos para o tratamento da acne, doença inflamatória crônica do folículo pilosebáceo, estão os antibióticos e os retinóides, cuja potência farmacológica está associada a importantes efeitos toxicológicos. Neste sentido, a orientação ao paciente no momento da dispensação, quanto ao uso correto do medicamento, contra-indicações, possíveis reações adversas e interações medicamentosas, serão extremamente importantes para garantir uma terapia segura e eficaz.

**Descritores:** Acne; Antiacneicos; Atenção farmacêutica; Fichas posológicas

## **PHARMACEUTICAL CARE IN DERMATOLOGY: ANTIACNEICS DRUGS**

**ABSTRACT:** Pharmaceutical care is a model of pharmaceutical practice which includes attitudes, ethical values, scientific knowledge, communicative skills and responsibilities of the pharmaceutical professional about the pharmacotherapy, the rational use of medicine and disease prevention. In order to have an adequate pharmaceutical care, the pharmaceutical professional has techniques to carry out the drug distribution aiming the understanding of treatment by the patient. Among the main acne prescribed drugs, chronic inflammatory disease of the pilosebaceous follicle, are the antibiotics and the retinoids, whose pharmacological power is associated to the important toxicological effects. Thus, the patient orientation at the drug distribution, as to the correct use of the drug, contraindications, possible adverse reactions and drug interactions, are going to be extremely important in order to guarantee a safe and efficient therapy.

**Descriptors:** Acne; Antiacneics; Pharmaceutical care; Chips dosing

\* Aluna do Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

\*\* Professora Doutora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

## Introdução

A “Atenção Farmacêutica” é um modelo de prática farmacêutica desenvolvida no contexto da assistência farmacêutica. Compreende atitudes, valores éticos e compromissos na prevenção de doenças, promoção e recuperação da saúde de forma integrada à equipe de saúde. É a interação direta do farmacêutico com o paciente, visando uma farmacoterapia racional e a obtenção de resultados definidos e mensuráveis voltados para a melhoria da qualidade de vida.<sup>1</sup>

A farmacoterapia adequada e a condição clínica e psicológica do paciente são elementos essenciais para o desenvolvimento dessa prática farmacêutica, uma vez que, a utilização dos medicamentos é influenciada por fatores de natureza cultural, social, econômica e política.<sup>1,2</sup>

No Brasil, desde 1996, os medicamentos ocupam a primeira posição entre os três principais agentes causadores de intoxicações em seres humanos.<sup>1,3</sup> Em 2008, 40% dos casos de intoxicação, no estado de São Paulo, foram causados por medicamentos e 50% das re-internações no estado do Rio de Janeiro, tiveram origem na utilização incorreta dos medicamentos prescritos ou no abandono do tratamento.<sup>4</sup>

Pesquisas realizadas em diferentes países da América do Norte e da Europa mostram um impacto favorável da atenção farmacêutica sobre a efetividade, qualidade de vida e custos assistenciais,<sup>1,3</sup> demonstrando ser um ótimo modelo para a economia, principalmente para países em desenvolvimento que possuem um sistema de saúde com escassos recursos financeiros.

O farmacêutico deve possuir, além da formação científica, habilidade de comunicação com a equipe de trabalho e com os pacientes. O não seguimento das prescrições, em muitos casos, reflete a falta de posição educativa fundamentada na relação farmacêutico/paciente.<sup>5</sup> Deste modo, é muito importante conhecer o grau de instrução dos pacientes, a fim de direcionar melhor as técnicas de comunicação, tanto oral como escrita no momento da orientação.<sup>6</sup>

Na área dermatológica, especialmente em relação a acne, a atuação do farmacêutico deve conter esses dois fatores, uma vez que, a longo prazo, poderá haver desenvolvimento de alterações psicológicas,<sup>7,8</sup> devido ao aparecimento de lesões ou cicatrizes antiestéticas, levando o paciente a apresentar considerável desconforto social,<sup>8,9,10,11</sup> bem como a ansiedade e a depressão provocadas pelo quadro acneico, características que podem comprometer o tratamento e provocar mudanças sociais na vida do paciente.<sup>8,9,11</sup> Deste modo, a percepção da gravidade da doença é muito importante para a orientação do tratamento.<sup>9,10</sup>

A acne é uma condição inflamatória crônica do folículo pilosebáceo que afeta principalmente o rosto e o tronco superior.<sup>11,12,13</sup> O mecanismo de formação da acne envolve uma hiperqueratinização folicular, e com ela, forma-se um tampão córneo que retém o conteúdo sebáceo no interior da glândula, sendo este, conhecido como comedão ou cravo. O folículo ocluído facilita a ação da *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) e leveduras como *Pityrosporum orbiculare* (*P. orbiculare*) que liberam proteases hidrolíticas que rompem o lúmen celular expulsando o conteúdo sebáceo para a derme. Os lipídeos sebáceos, pêlos, *P. acnes* e epitelíócitos cornificados geram uma resposta imune do tipo corpo estranho.<sup>3,8, 10,11,14,15</sup>

É classificada como não inflamatória e inflamatória, e subdividida em graus. Acne não-inflamatória: comedônica (grau I), acne inflamatória: papulopustulosa (grau II), nodulocística (grau III), conglobata (grau IV), fulminante (grau V).<sup>16</sup>

A acne vulgar ou juvenil (grau I) é uma das dermatoses mais frequentes,<sup>16</sup> causada pelo aumento da produção de sebo pelas glândulas sebáceas após a puberdade.<sup>11,15,17</sup> Seu tratamento justifica-se pela possibilidade de evitar tanto lesões cutâneas permanentes quanto o aparecimento ou agravamento de transtornos psicológicos, oriundos do abalo à auto-estima ocasionado pelas lesões, que frequentemente acometem face e tronco.<sup>16</sup> Na acne papulopustulosa associam-se aos comedões, pápulas e pústulas de conteúdo purulento.<sup>9</sup> A Acne nodulocística caracteriza-se pelo conteúdo sebáceo volumoso e localizado mais profundamente na pele, o que produz endurecimento no local da lesão,<sup>15</sup> sendo, neste caso, de difícil remoção.<sup>11,15,18</sup> Na acne conglobata há formação de abscessos e fístulas.<sup>9</sup> A Acne fulminans é rara, porém severa, devido a uma reação imunológica complexa, causando lesões eruptivas e ulcerosas que deixam cicatrizes, principalmente na parte superior torácica.<sup>11,15,18</sup> Predominam sintomas sistêmicos de início súbito como febre, perda de peso, astenia, adenopatia, comprometimento osteoarticular e presença de osteólise.<sup>15</sup>

A acne desenvolve-se por volta dos 12 anos em homens e mulheres, sendo mais precoce no sexo feminino, podendo permanecer até os 25 anos de idade.<sup>12,13</sup> Estima-se que esta doença atinja milhões de pessoas mundialmente,<sup>10</sup> com prevalência de 94,4% em homens e 92% em mulheres,<sup>11</sup> provocando, muitas vezes, alterações físicas e psicológicas. Nas mulheres, principalmente, o nível de estresse e a gravidade das lesões ocasionadas pela acne podem estar correlacionados com a severidade e a sua persistência durante o tratamento.<sup>12,13</sup>

A conexão entre farmacêutico e o paciente em considerável alteração psicológica, é de fundamental importância na atenção farmacêutica, uma vez que o farmacêutico é um dos responsáveis pela orientação da farmacoterapia racional e pelo alcance do objetivo terapêutico previsto.

Neste sentido, a atenção farmacêutica, um modelo centrado no paciente, surge, portanto, como alternativa em busca de melhorar a qualidade do processo de utilização dos medicamentos para o alcance de resultados concretos e satisfatórios.<sup>1</sup>

O objetivo deste estudo é, portanto, promover subsídios aos profissionais farmacêuticos para a realização da atenção farmacêutica na área dermatológica, especificamente quanto ao uso de fármacos antiacneicos.

## **Metodologia**

Esta pesquisa foi realizada através da análise artigos científicos disponíveis principalmente nas bases de dados do Scopus e ScienceDirect, sendo os descritores utilizados: acne, fármacos antiacneicos e atenção farmacêutica.

A organização das informações foi realizada na forma de tabela para auxiliar a orientação farmacêutica. Para o paciente, as informações foram organizadas na forma de “Mini bulas”, contendo apenas as informações clínicas mais relevantes, como o modo de usar, as principais contra-indicações, as interações com medicamentos e/ou alimentos e as reações adversas mais frequentes que possam ocorrer durante o uso do medicamento, proporcionando, assim, um maior controle sobre o seu tratamento e a possibilidade de informar o médico do surgimento destas reações. Foram, também, elaboradas fichas posológicas de orientação ao paciente, as quais auxiliariam, principalmente, pacientes com diferentes níveis de alfabetização, quanto ao horário correto do uso do medicamento (vide dados suplementares).

## Resultados

O tratamento da acne é realizado principalmente através do emprego de antimicrobianos, retinóides e agentes abrasivos.

Os **antimicrobianos** são compostos que em baixa concentração inibem ou reduzem o crescimento de diversos microorganismos.<sup>12</sup> Entre estes, os mais empregados no tratamento da acne estão o ácido azeláico e o peróxido de benzoíla.

Em preparações tópicas, o **ácido azeláico** possui efeito hipopigmentante,<sup>7,19</sup> podendo causar, como efeito adverso irritação local e fotossensibilização.<sup>7,15,19,20</sup> Não é considerado como tratamento de primeira escolha, mas é uma boa alternativa para acne leve a moderada ou com hiperpigmentação pós-inflamatória.<sup>15,20</sup> É relativamente atóxico, e não há evidência de interação medicamentosa com outros fármacos devido a sua baixa absorção sistêmica.<sup>19</sup> Quanto ao modo de usar, indicam-se duas aplicações diárias na pele afetada na forma de creme ou gel entre 5 % a 15 %, durante seis meses.<sup>7,19</sup> Sua utilização com peróxido de benzoíla, clindamicina, tretinoína ou eritromicina aumentam sua eficácia.<sup>20</sup>

O **peróxido de benzoíla** possui atividade secante e descamativa,<sup>19,21</sup> o que ajuda na sua eficácia, não devendo ser aplicado sobre a pele irritada ou em queimaduras pelo vento ou sol.<sup>12</sup> É contra indicado em pessoas hipersensíveis a esta substância.<sup>20</sup> Os efeitos adversos mais freqüentes são ressecamento, enrijecimento da pele e sensação de ardor.<sup>21</sup> Não é aconselhado aplicar juntamente com preparações tópicas como retinóides e antibióticos devido ao efeito irritante.<sup>2,12,20,21</sup> Comercialmente, está disponível na forma de gel e creme em concentrações de 1 % a 10 %, podendo ser usado na pele afetada de uma a duas vezes ao dia.<sup>12,19,20</sup>

Entre os agentes antimicrobianos estão, também, os antibióticos, empregados nas infecções bacterianas. Os antibióticos são normalmente prescritos nos casos de acne moderada a grave.<sup>17</sup> Entre estes, estão a tetraciclina, empregada via sistêmica, a eritromicina tanto por via tópica como sistêmica e a clindamicina somente por via tópica. Estes fármacos apresentam, em comum, como principal efeito adverso, transtornos gastrointestinais, bem como indução à resistência, devendo-se, portanto, ser rigorosamente respeitado o horário da sua utilização.<sup>23</sup>

A **tetraciclina** foi, por muito tempo, o medicamento de eleição para a terapia da acne, devido sua eficácia, tolerância e margem de segurança elevada. No entanto, deixou de ter prevalência, devido os seus efeitos adversos e interações com outros medicamentos.<sup>15,23</sup> Os efeitos adversos atribuídos ao uso da tetraciclina são transtornos renais,<sup>19</sup> fotossensibilidade,<sup>11,19,21,23</sup> aumento dos níveis das enzimas hepáticas produzindo hepatotoxicidade, pancreatites, toxicidade do sistema nervoso central, colites pseudomembranosas, reações de hipersensibilidade e vaginite por *Candida*.<sup>19,21,23</sup> Antiácidos, leite e alimentos que contenham cálcio, magnésio e ferro, também, não devem ser utilizados durante o tratamento, pois formam complexos com a tetraciclina, diminuindo a sua absorção. A associação com retinóides pode causar hipertensão intracraniana.<sup>18,19,20,24</sup> Caulim, pectina e colestipol diminuem a absorção da tetraciclina, pois são adsorvidos nesta.<sup>25</sup> Os efeitos nefrotóxicos potencializam juntamente com metoxiflurano e outros diuréticos que possuam como efeito adverso a nefrotoxicidade.<sup>19</sup> Geralmente, indicam-se doses de 500 mg de tetraciclina, duas vezes ao dia.<sup>12,20,26</sup> A tetraciclina é contra indicada na insuficiência hepática e renal, na gravidez e em crianças. O uso de tetraciclina entre o 2º trimestre da gravidez até cerca de 8 anos de idade também é contra indicado, devido à fixação do fármaco nos dentes em desenvolvimento, causando trocas de cor e hipoplasia do esmalte.<sup>19</sup>

A **eritromicina** é o antibiótico de menor emprego para o tratamento da acne devido à resistência por *P. acnes* e *Staphylococcus epidermidis*.<sup>15</sup> Sua utilização é contra indicada na hipersensibilidade à eritromicina e hepatopatias.<sup>15,20,22</sup> Também durante a gravidez e amamentação não deve ser utilizada, pois a eritromicina pode atravessar a placenta, bem como distribuir-se no leite materno. Os principais efeitos adversos causados pelo uso da eritromicina são náuseas e colites pseudomembranosas. Outros efeitos como perda da audição e hepatites também podem ocorrer.<sup>19,20,22,23</sup> Por via tópica evidencia-se, principalmente, descamação, irritação e ressecamento da pele.<sup>19,21</sup> Quanto a interações medicamentosas, a eritromicina inibe o metabolismo hepático da varfarina, carbamazepina e da ciclosporina que são catalizadas pelas enzimas do citocromo P-450, potencializando, conseqüentemente, os efeitos destes medicamentos que são, respectivamente, o prolongamento do tempo de protrombina e aumento do risco hemorrágico, aumento do efeito anticonvulsivante e hepatotoxicidade. A eritromicina eleva, também, a concentração sanguínea da digoxina devido à diminuição da flora bacteriana intestinal, responsável pela absorção adequada deste medicamento. A eritromicina aumenta, também, o dano hepático juntamente com medicamentos hepatotóxicos.<sup>24,25</sup> Para uso tópico, não deve ser empregada juntamente com isotretinoína, clindamicina e outras substâncias irritantes para a pele.<sup>20</sup> Recomenda-se doses de 500 mg/dia a 1 g/dia; 250 mg ou 500 mg, duas vezes ao dia, ou a cada 6 horas.<sup>12,21,22,23</sup> Na forma de creme, a concentração recomendada é de 1,5 % a 4 % podendo ser usada na pele afetada duas vezes ao dia.<sup>21,23</sup>

A **clindamicina** é uma substância derivada da lincomicina, que reduz a concentração de ácidos graxos livres da pele, diminuindo assim, o crescimento da *P. acnes*.<sup>15</sup> É contra indicada em pacientes que possuam hipersensibilidade à lincomicina, doenças renais e hepáticas, bem como antecedentes de colites. Como principais efeitos adversos estão irritação local, dermatites de contato,<sup>19</sup> enrijecimento e descamação da pele.<sup>7</sup> A associação de clindamicina com antibióticos pode desenvolver colites pseudomembranosas<sup>19</sup> e, associada ao cetoconazol, pode ter sua ação diminuída.<sup>20</sup> Comercialmente encontra-se como gel 3 % e solução 10 mg/ml. Deve-se aplicar uma fina camada sobre a pele afetada duas vezes ao dia.<sup>15,20,21</sup>

Os **retinóides** incluem compostos naturais e sintéticos derivados do retinol que exibem atividade de vitamina A. Estes compostos interferem em muitas atividades como a proliferação e a diferenciação celular, atividade imune, inflamação e produção de sebo. Os mais empregados são a isotretinoína, por via sistêmica, o adapaleno, o tazaroteno e a tretinoína por via tópica. Devido ao efeito fotossensibilizante destes fármacos, deve-se evitar a exposição solar durante o tratamento. Em geral, o uso concomitante dos retinóides com tetraciclina não é recomendado devido à hipertensão intracraniana.<sup>15,19,24</sup> Também, deve ser evitada a associação com a vitamina A, devido a problemas de hipervitaminose A.<sup>24,25</sup>

O **tazaroteno** é o mais novo retinóide acetilênico sintético introduzido para o tratamento da acne leve a moderada.<sup>7,15</sup> É contra indicado em pacientes com pele eczematosa,<sup>15</sup> e na gravidez, devido ao seu pequeno efeito teratogênico.<sup>11,15,19</sup> Os efeitos adversos mais frequentes são irritação, descamação, sensação de queimação e ressecamento da pele.<sup>3,7,23,30</sup> Recomenda-se uma aplicação diária de creme 0,1 % ou gel 0,1 % na pele afetada ao anoitecer.<sup>19</sup>

O **adapaleno** é um ácido naftóico com atividade retinóica, observa-se uma melhor ação anticomedogênica, melhor ação antiinflamatória e menor prevalência dos efeitos adversos em relação aos outros retinóicos.<sup>7,11,13</sup> É contra indicado durante a gravidez.<sup>11,15,19,20</sup> Durante o tratamento, evitar a exposição ao sol,<sup>11,13</sup> vento, ou temperaturas muito frias.<sup>15,20</sup> Os efeitos

adversos mais frequentes são eritema, prurido e descamação da pele,<sup>7,13,19</sup> observados principalmente, nas primeiras quatro semanas.<sup>13</sup> Os retinóides ou medicamentos tópicos de ação similar não devem ser usados concomitantemente.<sup>19</sup> Este medicamento encontra-se disponível na forma farmacêutica de gel 0,1 % e solução 0,1 %, recomenda-se aplicar uma vez ao dia na pele afetada, preferencialmente à noite.<sup>12,15,19,20</sup>

A **tretinoína** é um derivado da vitamina A que possui ação queratolítica, sendo empregada na acne leve a moderada contendo pápulas e pústulas.<sup>15</sup> É contra indicada na gravidez por ser teratogênica,<sup>7,11,15,19,20</sup> em pacientes com diabetes mellitus, hiperlipidemias,<sup>7,15,19,20</sup> hipervitaminose A e insuficiência hepática.<sup>19</sup> Os efeitos adversos mais frequentes são ardor, irritação da pele e eritema severo.<sup>7,14,15,19,20</sup> A associação com medicamentos tópicos de alta concentração alcoólica ocorre aumento do ressecamento e da irritação epidérmica.<sup>15,21,25</sup> É comercializada na forma de creme 0,1 % e gel 0,1 %, recomendando-se uma a duas aplicações diárias na pele afetada.<sup>15,19,20</sup>

A **isotretinoína** é um fármaco revolucionário derivado da vitamina A. Age simultaneamente em todos os mecanismos de patogênese da acne diminuindo a proliferação, diferenciação e atividade dos sebócitos basais, induzindo apoptose dessas células, normalizando a queratinização folicular e inibindo a comedogênese.<sup>10</sup> É utilizada para o tratamento das formas graves da acne como a nodulocística e acne moderada resistente ao tratamento convencional.<sup>7,10,11,14,15</sup> É contra indicada em mulheres grávidas, insuficiência hepática, hipervitaminose A, hiperlipidemias e deve ser utilizada com precaução em pacientes com antecedentes depressivos.<sup>7,10,11,19</sup> Os principais efeitos adversos são eritema, ressecamento da pele, dermatites faciais,<sup>19,21,26</sup> alterações de humor, aumento dos níveis sanguíneos de colesterol total e triglicerídeos, e teratogenicidade, o que implica a necessidade do impedimento da gravidez<sup>8,10,11,19,26</sup> durante a utilização e, por no mínimo, 6 meses após o término do tratamento,<sup>8,19,26</sup> sendo, também, contra indicada na amamentação.<sup>19,20</sup> Casos de depressão, psicoses, pensamentos e atentados suicidas em pacientes que utilizam este medicamento, também foram relatados.<sup>7,8,10,19</sup> No entanto, não existe relação causal entre isotretinoína e depressão,<sup>10,11,19,26,28</sup> não estando, ainda, estabelecido a causa ou mecanismo que produza este tipo de manifestação.<sup>14,15,17,29</sup> Portanto, na ausência de comprovação científica definitiva, aconselha-se aos médicos ter cautela e acompanhar os pacientes quanto ao reconhecimento precoce de sintomas psiquiátricos.<sup>10</sup> Interações da isotretinoína ocorre com a fenitoína, por aumentar o risco de perda óssea, com tetraciclina por risco de hipertensão intracraniana, com vitamina A por riscos tóxicos aditivos, com microdoses de progesterona, etinilestradiol, por redução de seus níveis sanguíneos (aconselha-se métodos contraceptivos adicionais), com erva de São João, por diminuir o efeito dos contraceptivos orais.<sup>10</sup> A absorção de isotretinoína é aumentada com alimentos,<sup>10,25</sup> devendo, portanto, ser administrada junto às refeições.<sup>20</sup> Recomenda-se iniciar o tratamento com doses de 0,5 mg/Kg/dia a 1 mg/Kg/dia.<sup>10,11,15,20</sup> A dose de manutenção deve ser ajustada a cada paciente, situando-se entre 0,1 mg/kg/dia a 1 mg/kg/dia.<sup>15,20</sup> Durante o tratamento com isotretinoína, o monitoramento clínico laboratorial é essencial através de testes de glicose, creatina quinase, triglicerídeos, colesterol, funções hepáticas, gravidez e possíveis efeitos oculares e psicológicos.<sup>10</sup>

Os **agentes abrasivos** como enxofre e ácido salicílico, provocam descamação, esfoliação e, conseqüentemente, irritação. Nem todos os irritantes tópicos diminuem os comedões ou impedem a formação de lesões. Agem como um trauma adicional à pele já inflamada.<sup>14,15</sup>

O **ácido salicílico** possui efeito queratolítico,<sup>12,14,19</sup> sendo contra indicado em pacientes com insuficiência circulatória,<sup>19,20</sup> em verrugas, marcas de nascença ou papilas nas quais haja pêlos.<sup>20</sup> Encontra-se disponível comercialmente em concentrações de 0,5 % a 2 % em cremes e loções. Aplica-se na pele afetada duas ou três vezes ao dia.<sup>15,20</sup>

O **enxofre** é utilizado na forma de sabonete ou cremes de limpeza<sup>15,22,31</sup> na concentração de 2 %.<sup>31</sup> É contra indicado em pacientes com hipersensibilidade ao enxofre. Não aplicar juntamente com retinóides e antibióticos.<sup>20</sup> Recomenda-se aplicar duas vezes ao dia na pele afetada.<sup>20</sup>

Os **contraceptivos orais** são efetivos em mulheres com acne severa, desordens hormonais e em pacientes com tratamento refratário e prolongado com antibióticos.<sup>7,12,15</sup> Estes medicamentos inibem a ovulação através do bloqueio de receptores androgênicos, também inibem a produção de sebo, diminuindo, assim, o substrato para as bactérias e os níveis de ácido graxos.<sup>12,15</sup> A associação mais comum é **etinilestradiol (0,3 µg)/acetato de ciproterona (2 mg)**, sendo recomendada uma dose diária, preferencialmente no mesmo horário.<sup>19,20</sup> É contra indicado em pacientes com risco cardiovascular, antecedentes tromboembólicos, câncer (exceto de próstata),<sup>11,19</sup> hepatopatias,<sup>19</sup> gravidez, lactação e amenorréia.<sup>20</sup> Os efeitos adversos mais frequentes são transtornos gastrointestinais, cefaléia e retenção de água.<sup>12,15,19</sup> Os mais graves são embolia pulmonar, veias varicosas, ginecomastia, problemas hepáticos,<sup>7,20,25</sup> hipertensão e aumento de risco cardiovascular.<sup>11,19</sup> Está ainda relacionado, a maior incidência de câncer de colo uterino e de mama.<sup>19</sup> Os antibacterianos rifabutina e rifampicina; os anticonvulsivantes barbitúricos, carbamazepina, fenitoína e topiramato; o antimicótico griseofulvina; os antivirais nelfinavir, ritonavir e nevirapina são indutores enzimáticos do citocromo P-450 aumentando o metabolismo do anticoncepcional diminuindo, assim, o seu efeito.<sup>25</sup>

As informações de maior relevância para o paciente e para o farmacêutico de cada medicamento estão organizadas na forma de “Mini bulas” e tabela (tabela-1) apresentadas a seguir:

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA: Tetraciclina****Nomes comerciais:**

(Parenzyme Tetraciclina®, Tetrex®, Tetramicin®).

**Posologia:**

Cápsulas 500 mg, 2 vezes ao dia com água.

**Efeitos adversos:**

Transtornos gastrointestinais e renais, hepatotoxicidade, fotossensibilidade e candidíase vaginal.

**Interações medicamentosas e alimentares:**

Retinóides, pectina, antiácidos, metoxiflurano, alimentos que contenham cálcio, magnésio e ferro.

**Contra indicações:**

Insuficiência hepática e renal, gravidez e em crianças.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA: Eritromicina****Nomes comerciais:**

Uso oral: (Ilosone®, Eritrex®).

Uso tópico: (Ilosone tópico®).

**Posologia:**

Comprimidos 250 mg ou 500 mg, 2 comprimidos a cada 12 horas ou 1 comprimido a cada 6 horas com água.

Creme (1,5 % a 4 %), aplicar 2 vezes ao dia.

**Efeitos adversos:**

Náuseas e perda de audição. Descamação, ressecamento e irritação principalmente por via tópica.

**Interações medicamentosas:**

Carbamazepina, digoxina, ciclosporina, varfarina, isotretinoína e clindamicina.

**Contra indicações:**

Gravidez, amamentação e hepatopatias.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA: Clindamicina****Nomes comerciais:**

(Clinagel®, Dalacin T®).

**Posologia:**

Gel 3 % ou solução 10 mg/ml, aplicar 2 vezes ao dia na pele afetada.

**Efeitos adversos:**

Dermatites de contato, enrijecimento, irritação e descamação da pele.

**Interações medicamentosas:**

Antibióticos e cetoconazol.

**Contra indicações:**

Na hipersensibilidade à lincomicina, doenças renais e hepáticas, e antecedentes de colites.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA: Peróxido de Benzoíla****Nomes comerciais:**

(Benzac®, Panoxyl®).

**Posologia:**

Gel ou creme (1 % a 10 %), aplicar 2 vezes ao dia na pele afetada.

**Efeitos adversos:**

Ressecamento, sensação de ardor e enrijecimento da pele.

**Interações medicamentosas:**

Antibióticos e retinóides.

**Contra indicação:**

Na hipersensibilidade ao peróxido de benzoíla e sobre a pele irritada ou queimada pelo vento ou pelo sol.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA:****Ácido azelaico****Nome comercial:**

(Azelam®).

**Posologia:**

Creme ou gel (5 % a 15 %), aplicar 2 vezes ao dia na pele afetada.

**Efeitos adversos:**

Irritação local e fotossensibilização.

**Interação medicamentosa:**

Não há referência.

**Contra indicação:**

Não há referência.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA: Tretinoína****Nomes comerciais:**

(Vitacid®, Locacid®, Retin-A®).

**Posologia:**

Creme 0,1 % ou gel 0,1 %, aplicar 1 a 2 vezes ao dia na pele afetada.

**Efeitos adversos:**

Irritação da pele, eritema e fotossensibilidade.

**Interações medicamentosas:**

Medicamentos tópicos de alta concentração alcoólica, tetraciclina e vitamina A.

**Contra indicações:**

Gravidez, hiperlipidemias, insuficiência hepática e hipervitaminose A.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA: Isotretinoína****Nome comercial:**

(Roacutan®).

**Posologia:**

Cápsulas de 10 mg ou 20 mg, 1 ou 2 vezes ao dia durante as refeições.

**Efeitos adversos:**

Eritema, ressecamento da pele, alterações de humor, fotossensibilidade, teratogenicidade, aumento do colesterol total e triglicerídeos.

**Interações medicamentosas:**

Fenitoína, tetraciclina, vitamina A, com doses baixas (microdoses) de progesterona, etinilestradiol e com erva de São João.

**Contra indicações:**

Gravidez, hiperlipidemias e hipervitaminose A. Utilizar com precaução em pacientes com antecedentes depressivos.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA: Tazaroteno****Nome comercial:**

(Zorac®).

**Posologia:**

Creme 0,1 % ou gel 0,1 %, aplicar 1 vez ao dia na pele afetada, preferencialmente à noite.

**Efeitos adversos:**

Irritação, descamação, ressecamento da pele e fotossensibilidade.

**Interações medicamentosas:**

Vitamina A.

**Contra indicações:**

Pele eczematosa e gravidez.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA:****Adapaleno****Nome comercial:**

(Differin®).

**Posologia:**

Gel 0,1 % ou solução 0,1%, aplicar 1 vez ao dia na pele afetada, preferencialmente à noite.

**Efeitos adversos:**

Eritema, prurido, descamação da pele e fotossensibilidade.

**Interações medicamentosas:**

Medicamentos tópicos de ação similar não devem ser usados concomitantemente.

**Contra indicação:**

Gravidez.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA:****Ácido salicílico****Nomes comerciais:**

(Salder S®) ácido salicílicos 3 % / enxofre 10 %, (Sastid®) ácido salicílico 3 % / enxofre 10 %.

**Posologia:**

Creme ou loção (0,5 % a 2 %), aplicar na pele afetada 2 ou 3 vezes ao dia.

**Efeitos adversos:**

Esfoliação, descamação e irritação.

**Interação medicamentosa:**

Não há referência.

**Contra indicações:**

Insuficiência circulatória, em verrugas ou papilas com pêlos.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA:****Enxofre****Nome comercial:**

(Acnase®) enxofre 2 % / peróxido de benzoila 5 %.

**Posologia:**

Sabonete ou creme de limpeza, utilizar 2 vezes ao dia.

**Efeitos adversos:**

Irritação.

**Interações medicamentosas:**

Retinóides e antibióticos.

**Contra indicações:**

Na hipersensibilidade ao enxofre.

**SUBSTÂNCIA QUÍMICA: Etinilestradiol e Acetato de ciproterona****Nomes comerciais:**

(Diane®, Selene®).

**Posologia:**

Tomar 1 comprimido de etinilestradiol (0,35 µg) / acetato de ciproterona (2 mg) por dia, preferencialmente no mesmo horário.

**Efeitos adversos:**

Embolia pulmonar, veias varicosas e hepatopatias.

**Interações medicamentosas:**

Rifabutina, rifampicina, barbitúricos, carbamazepina, fenitoína, griseofulvina, nelfinavir, ritonavir e nevirapina diminuem o seu efeito.

**Contra indicações:**

Risco cardiovascular, antecedente de transtornos tromboembólicos, câncer, hepatopatias, gravidez e amamentação.

Tabela 1 – Principais Fármacos prescritos na terapia antiacneica

PRINCÍPIO ATIVO	NOMES COMERCIAIS	EFEITOS ADVERSOS	POSOLOGIA	INTERAÇÕES	CONTRA INDICAÇÕES	RISCO NA GRAVIDEZ
<b>Ácido azelaico</b>	Azelan®	Hipopigmentação; Irritação; Fotossensibilização	Creme ou gel de 5 % a 10 %, aplicar de 2 vezes ao dia.	Uso com peróxido de benzoíla, clindamicina e tretinoína aumentam a eficácia.	–	Não há estudos adequados, é excretado no leite.
<b>Ácido salicílico</b>	Sastid® (ácido salicílico 3% + enxofre 10%) Salder S® (ácido salicílico 3% + enxofre 10%)	Irritação; Descamação	Creme ou loção de 0,5 % a 2 %, aplicar de 2 a 3 vezes ao dia.	–	Insuficiência circulatória; Verrugas; Marcas de nascença ou papilas com pêlos	Não há estudos adequados.
<b>Adapaleno</b>	Differin®	Eritema; Prurido; Descamação	Gel ou solução a 0,1 %, aplicar 1 vez ao dia.	Retinóides ou medicamentos tópicos de ação similar não devem ser usados concomitantemente.	Hipersensibilidade ao adapaleno.	Contra indicada na gravidez devido ao efeito teratogénico.
<b>Clindamicina (tópica)</b>	Clinagel® Dalacin T®	Enrijecimento; Descamação; Irritação local; Dermatite de contato	Gel a 3 % ou solução tópica 10 mg/ml, aplicar 2 vezes ao dia.	Ação diminuída quando associado ao cetoconazol e Antibióticos.	Doenças renais e hepáticas; Hipersensibilidade à lincomicina; Antecedentes de colite	Não há estudos adequados.
<b>Enxofre</b>	Acnase® (peróxido de benzoíla/enxofre)	Irritação	Creme ou sabonete a 2 %, aplicar 2 vezes ao dia.	Retinóides; Antibióticos	Hipersensibilidade ao enxofre.	Não há estudos adequados.
<b>Eritromicina (oral)</b>	Eritrex® Ilosone®	Distúrbios gastrointestinais; Perda de audição	Comprimidos de 250 mg ou 500 mg, 2 comprimidos 2 vezes ao dia ou 1 comprimido a cada 6 horas.	Varfarina; Carbamazepina; Digoxina; Ciclosporina;	Hepatopatias; Hipersensibilidade à eritromicina	Contra indicada na gravidez e na amamentação pois atravessa a placenta e distribui-se no leite materno.

<b>Eritromicina (tópica)</b>	Ilosone® tópico	Ressecamento; Irritação; Descamação	Creme de 1,5 % a 4 %, aplicar 2 vezes ao dia.	Isotretinoína, Clindamicina; Substâncias tóxicas irritantes	–	Contra indicada na gravidez e na amamentação pois atravessa a placenta e distribui-se no leite materno.
<b>Etinilestradiol/ acetato de ciproterona</b>	Diane® Selene®	Embolia pulmonar; Veias varicosas; Ginecomastia; Problemas hepáticos; Hipertensão	Etinilestradiol (0,035 mg) /acetato de ciproterona ( 2mg), administrar 1 vez ao dia.	Rifampicina; Rifabutina; Barbitúricos; Carbamazepina; Fenitoína; Griseofulvina; Nelfinavir; Ritonavir; Nevirapina;	Câncer (exceção de próstata); Lactação; Hepatopatias; Risco cardiovascular; Antecedentes tromboembólicos; Amenorréia;	Anormalidade em fetos, é excretado no leite.
<b>Isotretinoína</b>	Roacutan®	Eritema; Ressecamento da pele, mucosa e olhos; Dermatites faciais; Alteração de humor; Eczema; Fotossensibilidade; Aumentos dos níveis de colesterol total e triglicerídeos	0,5 mg/Kg/dia a 1 mg/Kg/dia por 6 a 12 semanas.	Fenitoína; Tetraciclina; Vitamina A; Progesterona (microdoses); Etinilestradiol; Erva de São João;	Insuficiência hepática; Hipervitaminose A; Valores de lipídeos sanguíneos elevados; Utilizar com precaução em pacientes depressivos; Amamentação	Contra indicada na gravidez devido ao efeito teratogênico.
<b>Peróxido de Benzoíla</b>	Benzac® Panoxyl®	Ressecamento; Sensação de ardor; Enrijecimento	Gel ou creme de 1 % a 10 %, aplicar 1 a 2 vezes ao dia.	Retinóides tópicos	Hipersensibilidade ao peróxido de Benzoíla; Sobre a pele irritada ou em queimaduras pelo vento ou pelo sol.	Não há estudos adequados.

<b>Tazaroteno</b>	Zorac®	Irritação; Descamação; Ressecamento; Sensação de queimação	Creme ou gel de 0,05 % a 0,1 %, aplicar 1 vez ao dia	Vitamina A	Em pele eczematosa.	Contra indicada na gravidez devido ao efeito teratogênico.
<b>Tetraciclina</b>	Parenzyme® Tetraciclina® Tetrex® Tetramicin®	Fotossensibilidade; Indução à hepatotoxicidade; Pancreatites; Toxicidade do sistema nervoso central; Enterocolite; Vaginite por Cândida; Transtornos renais	Cápsulas de 500 mg, administrar 2 vezes ao dia.	Leite e alimentos que contenham cálcio, magnésio, e ferro; Antiácidos; Metoxiflurano; Retinóides; Pectina e colestipol	Insuficiência renal e hepática; Crianças menores de 9 anos	Contra indicada devido a problemas na dentição das crianças (manchas).
<b>Tretinoína</b>	Vitacid® Locacid® Retin-A®	Ardor; Irritação; Eritema	Creme 0,1 % ou gel a 0,1 %, aplicar 1 a 2 vezes ao dia.	Medicamentos tópicos de alta concentração alcoólica.	Diabetes mellitus; Hiperlipidemias; Hipervitaminose A; Insuficiência hepática	Contra indicada na gravidez devido ao efeito teratogênico.

## Conclusão

A acne por ser uma doença cada vez mais freqüente, levando a população, principalmente, jovem a transtornos emocionais, a cura está relacionada não somente ao tratamento, mas também ao nível de estresse gerado nos pacientes. Neste sentido, por existir uma ampla variedade de medicamentos empregados no tratamento da acne, alguns com potencial toxicidade, o relacionamento entre farmacêutico e paciente torna-se imprescindível para uma farmacoterapia bem sucedida. Deste modo, a informação clara sobre a melhor forma de realizar o tratamento, utilizando os medicamentos de forma correta e esclarecendo as possíveis reações adversas e interações medicamentosas, contribuirão de forma efetiva, para minimizar os riscos da automedicação, das intoxicações medicamentosas e do abandono do tratamento. a atenção farmacêutica promoverá, portanto, um atendimento personalizado, humanizado e cientificamente correto.

## Referências Bibliográficas

1. Reis AM. Atenção farmacêutica e promoção do uso racional de medicamentos. Revista espaço para Saúde 2002. [periódico na Internet]. 2010 dez. Disponível em <http://www.ccs.uel.br/espacoparasauade/v4n2/doc/atençãofarmauso.doc>.
2. Mikalauscas MMV, Gonzales RMB. A formação humanística do farmacêutico. Infarma 2004; 16(3/4): 67-69.
3. Silva DD, Prando LE. As dificuldades do profissional farmacêutico para implantação da atenção farmacêutica e da farmacovigilância nas farmácias hospitalares e comunitárias. Infarma 2004; 16(11/12): 85-88.
4. Santos JS. Ensino farmacêutico: por que é preciso mudar? Pharmacia Brasileira 2008; 64: 4-5.
5. Rolim RA. Atenção farmacêutica: um processo educativo. Infarma 2008; 20(3/4): 23-25.
6. Machado PEB, Matos VC, Romeu GA. Importância da atenção farmacêutica para o paciente hipertenso. Infarma 2008; 20(3/4): 10-15.
7. Thiboutot D. New treatments and therapeutic strategies for acne. Arch Fam Med 2000; 9(2): 179-187.
8. Webster GF. Clinical review: Acne vulgaris. British medical journal 2002; 325: 475-479.
9. Meneses C, Bouzas I. Acne vulgar e adolescência. Adolescência & Saúde 2009; 6(3).
10. Rigopoulos D, George L, Katsambas DA. The role of isotretinoin in acne therapy: why not as first-line therapy? facts and controversies. Clinics in Dermatology 2010; 28(1): 24-30.
11. Nguyen R, Su J. Treatment of acne vulgaris. Paediatrics and Child Health 2011; 21(3): 119-125.
12. Herane MI. Actualización terapéutica en acne vulgaris. Dermatol Pediatr Lat 2005; 3(1): 5-19.
13. Ramos-e-silva M, Carneiro SCS, Ponzio HA, Assunção BFG, Cardoso AE, Almeida FA et al. Estudo clínico aberto multicêntrico da efetividade e tolerabilidade do gel de adapaleno a 0,1 % em pacientes com acne vulgar. An bras dermatol 2003; 78(2): 155-168.
14. Guzzo CA, Lazarus G, Weth VP. Dermatologia. In: Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica. 9nd ed. Rio de Janeiro(RJ): McGraw-Hill Interamericana Editores, 1996. p. 1184-1195
15. Herra CG. El acne y su tratamiento. Centro nacional de información de medicamentos. Universidad de Costa Rica. Costa Rica 2003. [periódico na Internet]. 2010 dez. Disponível em <http://www.sibdi.bltd.ucr.ac.cr/CIMED/Cimed0.pdf>.
16. Ministério da Saúde. Protocolo clínico de diretrizes terapêuticas 2010.

17. Wannmache L. Antimicrobianos em dermatologia. *Uso racional de medicamentos* 2006; 3(12): 1-5.
18. Romiti R, Jansen T, Plewig G. Acne fulminans. *An bras dermatol* 2000; 75(5): 611-617.
19. Martindale. *Guía completa de consulta fármaco-terapéutica*. 2nd ed. Barcelona: Pharma Editores; 2006.
20. Favano A, Godoy FZ, Zanette K, Caetano. *BPR Guia de Remédios®*. 8nd ed. São Paulo(SP): Editora Escala; 2007.
21. Remington. *Farmacía*. 17nd ed. Argentina: Médica Panamericana; 1992.
22. Korolkovas A, Franca FFAC, Cunha BCA. *Dicionário terapêutico Guanabara*. 2005/2006 ed. Rio de Janeiro(RJ): Guanabara Koogan; 2005.
23. Corrêa CC, Corrêa VLF. *Antibióticos no dia-a-dia*. 2nd ed. Rio de Janeiro(RJ): Rubio; 2001.
24. Cordás TA, Barreto OCO. *Interações medicamentosas*. São Paulo(SP): Editorial Lemos; 1998.
25. Stockley. *Interacciones farmacológica*. 2nd ed. Barcelona: Pharma Editores; 2006.
26. Haider A, Schaw JC. Treatment of acne vulgaris. *JAMA* 2004; 202(6): 726-735.
28. Ng CH, Tam MM, Celi E, Tate B, Schweitzer I. Prospective study of depressive symptoms and quality of life in acne vulgaris patients treated with isotretinoin compared to antibiotic and topical therapy. *Australas J Dermatol* 2002; 43(4): 262-268.
29. Magin P, Pond D, Smith W. Isotretinoin, depression and suicide: a review of the evidence. *British Journal of General Practice* 2005; 55(511): 134-138.
30. Shalita A, Berson D, Thiboutot D, Leyden J, Parizadeh D, Sefton J et al. Effects of tazarotene 0,1% cream in the treatment of facial acne vulgaris: Pooled results from two multicenter, double-blind, randomized, vehicle-controlled, parallel-group trials. *Clin Ther* 2004; 26(11): 1865-1873.
31. Serra-baldrich E, Lin AN, Reimer RJ, Carter DM. Azufre, compuestos y usos. *Journal of the American Academy of Dermatology* 1988; 18: 163-170.

**Mariana Piana** – Dr. Pantaleão, 150, apto 101. CEP 97010-180. Santa Maria. Fone: 91481854 (55)

**E-mail** – marianarpiana@gmail.com

Recebido em 21 de janeiro de 2011.

Aprovado em 16 de junho de 2011.

## **POTENCIAL ANTIOXIDANTE IN VITRO DAS FOLHAS DE IPOMOEA CAIRICA L. SWEET**

**Caroline Borges Weiler\*, Janaina Kieling Frohlich\*, Aline Augusti  
Boligon\*\*, Vanessa Janovik\*, Margareth Linde Athayde\*\*\***

**Universidade Federal de Santa Maria**

**RESUMO:** O presente trabalho descreve a avaliação da atividade antioxidante e o doseamento de polifenóis totais das frações acetato de etila (AcOEt) e diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) das folhas de Ipomoea cairica L. Sweet, uma planta pertencente à família Convolvulaceae. Essa espécie é conhecida popularmente como corda-de-viola e é utilizada na medicina popular brasileira, como anti-inflamatório e antirreumático. A atividade antioxidante foi determinada pelo método do DPPH e cada fração teve o IC<sub>50</sub> calculado. O IC<sub>50</sub> apresentou valores de 43,06 µg/mL para a fração CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e de 45,43 µg/mL para a fração AcOEt. O conteúdo de polifenóis foi determinado através da utilização dos padrões de ácido pirogálico e ácido gálico. Nesse trabalho não foi possível estabelecer uma relação positiva entre a quantidade de compostos fenólicos e a atividade antioxidante desempenhada pelas frações acetato de etila e diclorometano, uma vez que ambas apresentaram comportamentos semelhantes frente ao DPPH, mas distintos na quantificação de compostos fenólicos.

**Descritores:** Ipomoea cairica; Corda-de-viola; DPPH; Atividade antioxidante; compostos fenólicos; Folhas.

## **IN VITRO ANTIOXIDANT POTENTIAL CONTENTS OF IPOMOEA CAIRICA L. SWEET LEAVES**

**ABSTRACT:** This work describes the antioxidant activity evaluation and determination of polyphenols of ethyl acetate (EtOAc) and dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) fractions of the leaves of Ipomoea cairica L. Sweet, a plant belonging to the family Convolvulaceae. This species is popularly known as corda-de-viola and is used in Brazilian folk medicine as anti-inflammatory and antirheumatic. The antioxidant activity was determined by DPPH and each fraction was the IC<sub>50</sub> calculated. The IC<sub>50</sub> showed values of 43.06 µg/mL for CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> fraction and 45.43 µg/mL for the EtOAc fraction. The polyphenol content was determined using the patterns pyrogallol and gallic acids. From this work was not possible to establish a positive relationship between amount of phenolics compounds and antioxidant activity performed by ethyl acetate and dichloromethane fractions. Both showed similar DPPH front, but distinct in the quantification of phenolics compounds.

**Descriptors:** Ipomoea cairica; Corda-de-viola; DPPH; Antioxidant activity; Phenolics compounds; leaves.

\* Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, RS.

\*\*Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, RS.

\*\*\* Professora Adjunta do Departamento de Farmácia Industrial, Universidade Federal de Santa Maria, RS.

## Introdução

A família Convolvulaceae possui cerca de 59 gêneros, com mais de 1800 espécies. A literatura descreve o isolamento de diversas classes de fitoconstituintes nessa família, dentre os quais podem ser citados terpenóides, esteróides, flavonóides, xantonas, alcalóides, lignanas e, mais recentemente, glicolipídeos e ésteres de oligossacarídeos.<sup>1-3</sup> O gênero *Ipomoea* é o mais representativo da família, compreendendo cerca de 700 espécies que aparecem em regiões tropicais e temperadas. De modo geral, as espécies de *Ipomoea* são utilizadas na medicina popular no tratamento das mais diversas enfermidades, tais como reumatismo, artrite, hipertensão, furúnculos, doenças renais, desordens digestivas e disenterias. Em estudos anteriores com outras espécies do gênero *Ipomoea* foram observadas diversas atividades biológicas, entre estas, insulínogênica, hipoglicêmica e anticancerígena.<sup>4,5</sup>

*Ipomoea cairica* L. Sweet, conhecida popularmente como corda-de-violão, é considerada uma espécie invasora,<sup>6</sup> mas existem vários relatos da sua utilização na medicina popular brasileira.<sup>1-3</sup> A infusão feita com as folhas é utilizada popularmente no tratamento de erupções cutâneas, especialmente aquelas acompanhadas por febre.<sup>7</sup> Remédios preparados com as raízes, além de serem utilizados para as condições clínicas citadas, também são usados na hepatite e, tanto as folhas quanto as raízes de *I. cairica*, possuem uma ação purgativa,<sup>8</sup> havendo também relatos da utilização dessa espécie como antidiarréico e antissifilítico<sup>8,9</sup>, anti-inflamatório<sup>10</sup> e antirreumático.<sup>1-3</sup> Embora *I. cairica* seja amplamente utilizada na medicina popular, não existem informações na literatura sobre determinação de compostos fenólicos e estudos relativos à atividade antioxidante.

O Thomas et al.<sup>7</sup> estudaram o óleo essencial dessa espécie e encontraram propriedades larvicidas contra larvas de *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* e *Culex quinquefasciatus*. As lignanas isoladas da espécie, trachelogenina e arctigenina, apresentaram inibição da replicação do vírus da imunodeficiência humana tipo I (HIV-1; cepas HTLV IIIB) *in vitro*.<sup>11</sup> A arctigenina apresentou uma significativa atividade neuroprotetora *ex vivo* contra toxicidade induzida por glutamato em cultura de células corticais de ratos.<sup>12,13</sup>

Os organismos vivos possuem sistemas antioxidantes endógenos para manter a formação de radicais livres em níveis toleráveis.<sup>14</sup> Estes sistemas não são 100% eficientes, e quando os danos a biomoléculas são excessivos, pode haver alterações de funções e morte celular. Isso está relacionado com várias patologias, particularmente com as degenerativas associadas à idade, como doenças cardiovasculares, neuropatias e câncer.<sup>15</sup> Por isso, o consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos presentes na maioria das plantas, tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.<sup>16</sup>

O melhor método de prevenção do estresse oxidativo é através de alimentação rica em antioxidantes como a vitamina C e a vitamina E. A busca por substâncias antioxidantes naturais vem aumentando nos últimos anos, motivo pelo qual os centros de pesquisa e indústrias farmacêuticas têm investido cada vez mais neste tipo de pesquisa.<sup>14</sup> Considerando a importância de prevenir e combater os danos causados pelos radicais livres, a importância das fontes naturais de antioxidantes e a ausência de estudos sobre a espécie em questão, o objetivo deste estudo foi determinar a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos nas frações  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e AcOEt das folhas *Ipomoea cairica*.

## Material e métodos

### Materiais

Os solventes (etanol, diclorometano e acetato de etila) empregados foram de procedência Merck (Darmstadt, Germany), especificação pró-análise ou então purificados por destilação. O etanol utilizado no processo extrativo foi de grau comercial. A água destilada empregada em todos os procedimentos foi obtida por destilação no próprio laboratório. Reagente de Folin-Ciocalteu 2N, DPPH e carbonato de sódio foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

### Coleta e extração do material vegetal:

As folhas de *Ipomoea cairica* foram coletadas em maio de 2008, em São Francisco de Assis, Rio Grande do Sul. O material foi identificado pelo Prof. Dr. Renato Záchia, do Departamento de Biologia da UFSM. O material testemunho está depositado no Herbário do Departamento de Biologia da UFSM catalogado sob o número de registro SMDB 12.268.

O material vegetal (192 g) foi seco ao ar livre, moído e triturado. A droga triturada foi macerada a temperatura ambiente com etanol 70% (EtOH:H<sub>2</sub>O 7:3, v/v), sendo que o macerado foi armazenado em frascos âmbar e submetido a agitações diárias por um período de sete dias. Ao final desse período o conteúdo foi filtrado em algodão, seguindo-se de concentração em evaporador rotatório, à temperatura inferior a 40°C. Após a eliminação do etanol, o extrato bruto foi particionado através da extração sequencial utilizando como solventes diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) e acetato de etila (AcOEt).

### Avaliação da atividade antioxidante – DPPH:

Para a avaliação da atividade antioxidante foi utilizado o método fotolorimétrico do DPPH (2,2-difenil,1-picrihidrazila), segundo Choi et al.<sup>17</sup> Foram avaliadas as frações CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e AcOEt nas concentrações de: 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62 e 7,81 µg/mL em etanol (2,5 mL). A 2,5 mL de cada amostra, foi adicionado 1 mL da solução de DPPH 0,3 mM em etanol. Após 30 minutos à temperatura ambiente, foram realizadas as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro (Shimadzu-UV-1201) a 518 nm, onde o radical DPPH apresenta o máximo de absorção. Solução de DPPH (1mL; 0,3 mM) em etanol (2,5 mL) foi usada como controle negativo e uma curva de ácido ascórbico nas mesmas concentrações das frações foi utilizada como padrão (controle positivo).

Como controle negativo das soluções amostra, empregaram-se soluções preparadas de modo idêntico, porém sem adição de DPPH. Etanol foi usado como branco. O ensaio foi realizado em triplicata e o cálculo da porcentagem de inibição da captação de radicais livres pelo DPPH seguiu a equação:

$$\% \text{ inibição} = 100 - \frac{[(\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}}) \times 100]}{\text{Abs}_{\text{controle}}}$$

Onde: Abs<sub>amostra</sub> é a absorvância da fração; Abs<sub>branco</sub> é a absorvância das frações sem adição do DPPH e Abs<sub>controle</sub> é a absorvância da solução de DPPH em etanol.

Após o cálculo, foi construído um gráfico de porcentagem de inibição versus a concentração das frações.

### Determinação de polifenóis

A determinação de conteúdos fenólicos totais foi realizada pelo método do Folin-Ciocalteu<sup>15</sup>. 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% foi adicionado a um 1 mL de cada amostra (0,15 mg/mL), a mistura foi deixada em repouso por 5 min antes da adição de 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 2N. Após 10 minutos as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 730 nm, em triplicata. O conteúdo de polifenóis totais foi expresso em miligramas equivalentes de ácido pirogálico por grama de planta seca (mg AP/g PS) e miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de planta seca (mg AP/g PS). A equação obtida para a curva padrão do ácido pirogálico foi  $y = 42,181x + 0,0454$  ( $r = 0,9981$ ) e do ácido gálico foi  $y = 15,635x + 0,0194$  ( $r = 0,9996$ ).

### Resultados e discussões

Os rendimentos das frações das folhas de Ipomoea cairica foram determinados, o valor obtido para a fração AcOEt foi de 1,14% e para a fração CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 0,94%.

Para a determinação da atividade antioxidante, foi analisada a capacidade das frações CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e AcOEt em inibir a formação de radicais livres. Esta medida se dá pela verificação da descoloração da cor violeta da solução etanólica de DPPH em 518nm. Na presença de atividade considerável contra radicais livres ocorre descoloração da solução que passa à cor amarela.<sup>17,18</sup> A atividade antioxidante medida pelo DPPH pode ser relacionada a compostos fenólicos presentes.<sup>19</sup>

Como padrão, para o ensaio do DPPH, foi utilizado o ácido ascórbico que possui atividade antioxidante comprovada. Sendo assim, ele pode ser usado como parâmetro para a comparação das atividades encontradas para as frações analisadas.<sup>20</sup> Em todas as concentrações analisadas, as frações CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e AcOEt apresentaram comportamento semelhante, sendo que nas concentrações de 125 e 250 µg/mL as mesmas apresentaram comportamento similar ao padrão ácido ascórbico (Fig. 1).

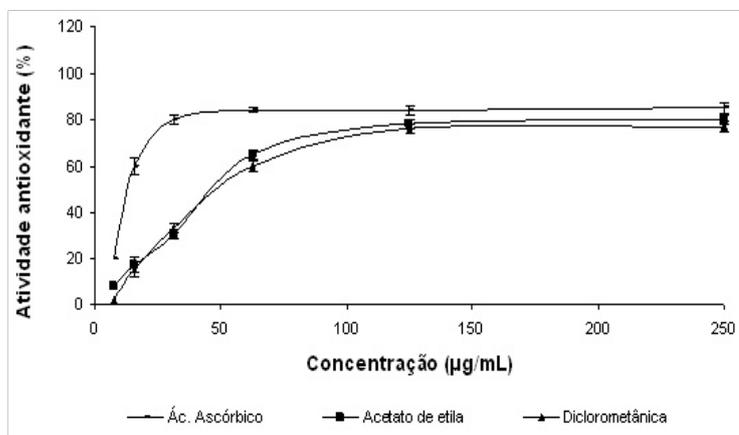


Figura 1 — Percentual da atividade antioxidante do ácido ascórbico (padrão) e das frações CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e AcOEt das folhas de I. cairica, avaliada pelo método do DPPH.

Como as frações diclorometano e acetato de etila, e o padrão ácido ascórbico apresentaram uma atividade dose-dependente significativa, ou seja, as maiores concentrações das amostras apresentaram um maior percentual de inibição do radical DPPH, foi possível calcular IC<sub>50</sub> (concentração capaz de inibir 50% da atividade do DPPH). O cálculo do IC<sub>50</sub> das frações e do padrão ácido ascórbico foi realizado através de cálculos matemáticos, resultando numa concentração igual a 43,06µg/mL para a fração diclorometânica, 45,43µg/mL para a fração acetato de etila e 12,66µg/mL para o padrão (Tabela 1). A partir dos valores encontrados no cálculo do IC<sub>50</sub> é possível observar que as frações apresentam atividades antioxidantes semelhantes, porém estas se mostram diminuídas em relação ao padrão ácido ascórbico.

A Tabela 1 apresenta o conteúdo de polifenóis nas frações CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e AcOEt das folhas de *I. cairica* determinado através dos padrões de ácido pirogálico e ácido gálico. As substâncias com núcleo fenólico apresentam destaque especial como eficientes captadoras de radicais livres. Por isso, muitos autores descrevem a relação positiva entre conteúdos fenólicos e atividade antioxidante utilizando DPPH e Folin-Ciocalteu como avaliações analíticas.<sup>15, 21</sup> No presente estudo, não foi possível estabelecer uma relação positiva entre a quantidade de compostos fenólicos e a atividade antioxidante desempenhada pelas frações acetato de etila e diclorometânica. Este resultado foi semelhante ao obtido por Matthäus (2002)<sup>22</sup>, que investigou a atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos obtidos a partir de diversas oleaginosas com base em diferentes métodos para a avaliação da atividade antioxidante e de fenólicos totais, incluindo o método DPPH e do Folin-Ciocalteu. Uma das razões para a fraca relação entre a quantidade de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante é, provavelmente, o fato de que o método de Folin-Ciocalteu determina a soma de compostos fenólicos, enquanto que os compostos fenólicos individualmente possuem respostas diferentes sobre o reagente Folin-Ciocalteu e têm diferentes contribuições para a atividade antioxidante.

Visando esse aspecto, também comparamos o modo de expressar os resultados de fenóis totais com dois padrões diferentes, o ácido gálico e o ácido pirogálico. A quantidade de fenóis expressa em ácido gálico foi inferior quando comparada com a quantificação expressa em ácido pirogálico (Tabela 1). É difícil escolher padrões adequados para a quantificação de fenóis totais em extratos de plantas devido à diversidade do grupo dos compostos fenólicos e suas diferentes respostas aos métodos de determinação destes. Assim, só é possível se chegar a equivalentes da presença de compostos fenólicos. Para uma explicação mais aprofundada dos efeitos das frações sobre os métodos que dosam compostos fenólicos, primeiro seria necessário caracterizar os compostos fenólicos individualmente e, segundo, escolher o melhor padrão a ser usado no método de Folin-Ciocalteu.<sup>22</sup>

**Tabela 1** — Doseamento de fenóis e IC<sub>50</sub> das frações das folhas de *Ipomoea cairica*

Frações/Extrato	Fenóis (mg AP/g PS)	Fenóis (mg AG/g PS)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Ácido ascórbico	-	-	12,66 ± 1,30a
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	46,60	38,21	43,06 ± 0,71b
AcOEt	37,44	13,47	45,43 ± 0,24c

IC<sub>50</sub> = concentração necessária para inibir 50% da atividade oxidante, resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey p < 0,005.

AP = Ácido pirogálico, AG = Ácido gálico, PS = planta seca.

Os resultados encontrados em nosso estudo indicam que essa espécie possui substâncias químicas antioxidantes capazes de capturar radicais livres. Estas substâncias são promissoras para estudos que visam à prevenção de doenças decorrentes do estresse oxidativo. No entanto, o teste do DPPH não permite uma precisa definição dos efeitos antioxidantes por se tratar de uma metodologia *in vitro*<sup>23</sup>. Sabendo-se que a atividade de extratos de plantas não pode ser avaliada somente por um método,<sup>17</sup> torna-se necessário um estudo *in vivo* para determinar se esta planta medicinal poderá ser utilizada para este fim com eficácia.

### Conclusão

As frações AcOEt e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> das folhas de *Ipomoea cairica* apresentaram atividade antioxidante semelhantes entre si, sendo que as frações nas maiores concentrações testadas (250 e 125 µg/mL) apresentaram atividade similar ao padrão ácido ascórbico. O doseamento de polifenóis mostrou que as duas frações apresentam compostos fenólicos e que eles estão em maior concentração na fração diclorometano. Com base nesta informação, pode-se dizer que na fração acetato de etila existem outros compostos que apresentam ação antioxidante e assim, elevam sua atividade, tornando-a semelhante à encontrada para a fração diclorometano pelo método do DPPH. *I. cairica* é promissora quanto a sua utilização para fins antioxidantes, porém, necessita de mais estudos a seu respeito a fim de garantir a segurança do seu uso.

### Referências Bibliográficas

1. Lima OOA, Braz-Filho R. Dibenzylbutyrolactones lignans and coumarins from *Ipomoea cairica*. *J Braz Chem Soc* 1997; 8: 235-238.
2. Pereda-Miranda R, Hernández-Carlos B. HPLC isolation and structural elucidation of diastereomeric niloyl ester tetrasaccharides from Mexican scammony root. *Tetrahedron* 2002; 58: 3145-3154.
3. Pereda-Miranda R. Biodynamic oligosaccharides from Convolvulaceae: Isolation, structural elucidation and biological activities. *Rev Latinoamer Quím* 1997; 25: 97-101.
4. Cao S, Guzza RC, Wisse JH, Miller JS, Evans R, Kingston DGI. *J Nat Prod* 2005, 68: 487-492.
5. Meira M, David JM, David JP, Araújo SV, Regis TL, Giullietti AM, Queiroz LP. Constituintes químicos de *Ipomoea subincana* Meisn. (Convolvulaceae). *Quím Nova* 2008, 31 (4): 751-754.
6. Procópio SO, Ferreira EA, Silva EAM, Silva AA, Rufino RJN, Santos JB. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III. *Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. *Planta Daninha* 2003, 21 (1): 1-9.
7. Thomas TG, Rao S, Lal S. Mosquito larvicidal properties of essential oil of an indigenous plant, *Ipomoea cairica* Linn. *Jpn J Infect Dis* 2004, 57 (1): 176-177.
8. Ferreira AA, Oliveira PM, Evangelista EA, Alves RB, Pizziollo VR, Brasileiro BG, Rodrigues FMO, Silveira D, Raslan DS. Atividades biológicas das partes aéreas de *Ipomoea cairica* (Convolvulaceae). *RBPM* 2006, 8 (2): 14-18.
9. Pio Correa M. Dicionário da plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, IBDF, 1978. 1926p.

10. Franco IJ, Fontana VL. Ervas & plantas: a medicina dos simples. Erechim: Livraria Vida, 1997. 177p.
11. Schroder HC, et al. Differential in vitro anti-HIV activity of natural lignans. *Zeitschrift für Naturforschung* 1990, 45: 1215-1221.
12. Jang YP, Kim R, Choi HY, Kim J, Kim SG, Markelonis GJ, Oh TH, Kim YC. Arctigenin protects cultured cortical neurons from glutamate-induced neurodegeneration by binding to kainate receptor. *J Neur Res* 2002, 68 (2): 233-240.
13. Cho-Minkyung MK, Janga YP, Kima YC, Kima SG. Arctigenin, a phenylpropanoid dibenzylbutyrolactone lignan, inhibits map kinases and AP-1 activation via potent MKK inhibition: the role in TNF $\alpha$  inhibition. *International Immunopharmacology* 2004, 10/11: 1419-1429.
14. Gordon M H. Dietary antioxidants in disease prevention. *Nat Prod Rep* 1996; 4: 265-272.
15. Chandra S, Meija EG. Polyphenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and Quinone Reductase Activity of an Aqueous Extract of *Ardisia compressa* in comparison to *Mate* (*Ilex paraguariensis*) and *Green* (*Camellia sinensis*) Teas. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 3583-3589.
16. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47-95.
17. Choi CW, Kim SC, Hwang SS, Choi BK, Ahn HJ, Lee MY, Park SH, Kim SK. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci* 2002; 163: 1161-1168.
18. Kulisic T, Radonic A, Katanilic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem* 2004; 85: 633-640.
19. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med* 1996; 20(7): 933-956.
20. Duarte-Almeida JM, Santos RJ, Genovese MI, Lajolo, FM. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. *Ciênc Tecnol Aliment* 2006; 26(2): 446-452.
21. Boligon AA, Magoga BR, Feltrin AC, Janovik V, Athayde ML. Potencial antioxidante invitro, conteúdo de fenóis e flavonóides nos ramos de *Scutia buxifolia* Reissek. *Revista Saúde* 2009, 35 (1): 34-38.
22. Matthäus B. Antioxidant Activity of Extracts Obtained from Residues of Different Oilseeds. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 3444-3452.
23. Ursini F, Maiorino M, Marazzoni P, Roveri A, Pifferi G. A novel antioxidant flavonoid (idb 1031) affecting molecular mechanisms of cellular activation. *Free Rad Biol Med* 1994; 16(5): 547-553.

**Aline Agusti Buligon** — Departamento de Farmácia Industrial, Universidade Federal de Santa Maria, Prédio 26, sala 1411, Santa Maria/RS. Telefone:(55) 3220-9618

**E-mail:** alineboligon@hotmail.com,

Recebido em 03 de fevereiro de 2011.

Aceito em 16 de junho de 2011.

## **ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS CASCAS E DO MIOLO DA RAIZ DE URERA BACCIFERA (L.) GAUDICH (URTICACEAE)**

**Amanda Leitão Gindri\***; **Michele da Silva\*\***; **Marília Buss de Marchi\*\***; **Lucas Scherer Brum\*\***; **Margareth Linde Athayde\*\*\***; **Solange Cristina da Silva Martins Hoelzel\*\*\*\***

**RESUMO:** *Ureria baccifera* (L.) Gaudich, conhecida popularmente como Urtiga-brava, ocorre desde a América Central até a Argentina. Testes farmacológicos já mostraram a atividade analgésica e anti-inflamatória de extratos aquosos desta planta em ratos, no entanto não há registros na literatura de seus constituintes químicos. O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise fitoquímica da raiz de *Ureria baccifera*. Os resultados dos metabólitos doseados no extrato bruto das raízes foram: polifenóis totais: 29,76 + 1,5 mg/g de extrato, flavonóides: 16,42 + 0,1 mg/g de extrato; taninos condensados: 19,11 + 0,77 mg/g de extrato e alcalóides totais: 1,58 + 0,02 mg/g de extrato. No teste de capacidade antioxidante frente ao radical DPPH a planta deste estudo obteve um valor de IC<sub>50</sub> 188,57 mg/g de extrato. Os testes qualitativos aplicados nos extratos da casca e no miolo da raiz apresentaram resultados positivos para heterosídeos flavonoídicos e purinas apenas na casca, heterosídeos saponínicos apenas no miolo e taninos e mucilagens na casca e no miolo da raiz. Estes resultados estão sendo descritos pela primeira vez para esta planta.

**Descritores:** *Ureria baccifera*; Polifenóis totais; Alcalóides; Flavonóides; Taninos; Antioxidante.

## **PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE STEAM AND THE CORE OF THE ROOT FROM URERA BACCIFERA (L.) GAUDICH (URTICACEAE)**

**ABSTRACT:** *Ureria baccifera* (L.) Gaudich popularly known as Nettle, occurs from Central America to Argentina. Pharmacological tests have shown the analgesic and anti-inflammatory effect of aqueous extract of this plant in rats, however there aren't records in literature of their chemical constituents. The objective of this work was the phytochemical analysis of the root of *Ureria baccifera*. The results of the metabolites assayed in the crude extract of the roots were: total phenolics: 29.76 + 1.5 mg/g of plant extract; flavonoids: 16.42 + 0.1 mg/g of plant extract; condensed tannins: 19.11 + 0.77 mg/g of extract and alkaloids: 1.58 + 0.02 mg /g extract. In the test of antioxidant capacity against the DPPH radical, the plant of this study obtained an IC<sub>50</sub> value of 188.57 mg/g of extract. The qualitative assays showed positive results for flavonoids and purines in the stem root, saponins only in the core and tannins and mucilage in the both parts of the root. These results are been described for the first time to this plant.

**Descriptors:** *Ureria baccifera*; Nettle; Phenolic compounds; Alkaloids; Flavonoids; Condensed tannins; Antioxidant capacity.

\*Aluna do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFSM. Santa Maria - RS, Brasil.

\*\*Graduados em Farmácia pelo Centro Universitário Franciscano, Santa Maria - RS, Brasil

\*\*\*Professora adjunta da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, Brasil.

\*\*\*\* Professora adjunta do Centro Universitário Franciscano, Santa Maria – RS, Brasil

## **Introdução**

Tão antigo quanto a espécie humana, o uso de plantas para o tratamento e cura de enfermidades ocorre ainda hoje desde as regiões mais pobres do país até as grandes cidades brasileiras. As plantas com uso medicinal são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais<sup>1</sup>.

À família Urticaceae pertencem plantas predominantemente herbáceas, contendo pêlos urticantes em certos gêneros, dentre eles *Urtica* e *Urera*<sup>2</sup>. *Urera baccifera* (L.) Gaudich, planta conhecida popularmente como urtiga-brava ou urtigão, é utilizada pela população para diversas condições inflamatórias através de infusão ou uso tópico, possuindo também um efeito rubefaciente usado em dores reumáticas<sup>3</sup>.

Este tipo de arbusto lenhoso ocorre desde a América Central até a Argentina, incluindo a região andina. Estudos realizados com o extrato aquoso de *U. baccifera* mostraram a atividade analgésica e anti-inflamatória em ratos. Outras espécies da família Urticaceae apresentaram efeitos antiviral, hipoglicemiante e atividade cardiovascular, no entanto, não há registros na literatura de seus constituintes químicos<sup>4</sup>.

O presente trabalho teve como objetivos a realização de doseamento de polifenóis totais, flavonóides, taninos condensados e alcalóides, bem como a avaliação da capacidade antioxidante frente ao radical DPPH do extrato bruto da raiz e uma análise fitoquímica das cascas e do miolo das raízes de *U. baccifera*, visando uma pesquisa preliminar das substâncias presentes na planta, o que leva a acrescentar mais conhecimentos sobre esta espécie tão pouco estudada e bastante utilizada popularmente nesta região.

## **Material e métodos**

### **Coleta e extração do material vegetal:**

As raízes da planta *Urera baccifera* foram coletadas no município de Santa Maria, em agosto de 2007. Para a obtenção do extrato bruto, uma parte das raízes (500 g) foi seca em estufa de ar circulante, triturada em moinho de pás e colocada em maceração com solvente hidroalcolólico (etanol:água 70:30), numa concentração de 30 g/%, com agitação diária e renovação do solvente semanalmente, por 4 semanas. Para a obtenção dos extratos de casca e miolo da raiz para a análise fitoquímica, essas foram separadas manualmente, secas em estufa de ar circulante e trituradas em moinho de pás. Após este processo as cascas (2,971g) e o miolo (2,986g) foram submetidas à extração em aparelho de Soxhlet utilizando etanol 95°GL como solvente. Após resfriado, o extrato hidroalcolólico foi concentrado em rotavapor à temperatura de 40°C.

### **Avaliação da capacidade antioxidante:**

Para a avaliação da capacidade antioxidante foi utilizado o método colorimétrico do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), segundo Choi e colaboradores (2002)<sup>5</sup>, onde a amostra foi avaliada nas concentrações 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62 e 7,81µg/mL. O ensaio foi realizado em triplicata e a porcentagem de inibição do radical DPPH calculada através da equação 1, descrita a seguir:

$$\% \text{ inibição} = 100 - \frac{[(\text{Abs. da amostra} - \text{Abs. do branco}) \times 100]}{\text{Abs. do controle}}$$

**Equação 1** - Cálculo da porcentagem de inibição. Onde: Abs. da amostra é a absorvância do extrato bruto; Abs. do branco é a absorvância extrato bruto sem adição do DPPH e Abs. controle é a absorvância da solução de DPPH em etanol.

Após os cálculos foi construído um gráfico contendo a porcentagem de inibição versus concentração do extrato e calculada a equação da reta, que foi utilizada para o cálculo do IC<sub>50</sub> (concentração efetiva para obter 50% de atividade antioxidante da planta frente ao radical DPPH).

#### ***Determinação de polifenóis totais***

O conteúdo de polifenóis totais foi avaliado através do método colorimétrico descrito por Chandra e Mejia (2004)<sup>6</sup>, que utiliza o reagente Folin Ciocalteau 2N, leitura em espectrofotômetro à 730 nm e a amostra na concentração de 0,150 mg/mL, diluída em etanol e em triplicata. O teor de polifenóis totais foi calculado através da confecção de curva analítica de calibração utilizando o ácido gálico como referência em um intervalo de concentração de 0,001 a 0,03 mg/mL.

#### ***Determinação de flavonóides***

O doseamento de flavonóides foi realizado conforme o método colorimétrico descrito por Woisky e Salatino (1998)<sup>7</sup>. Esta metodologia utiliza uma solução de cloreto de alumínio 2% e leitura em espectrofotômetro a 420 nm. As amostras foram preparadas na concentração de 0,150 mg/mL, em triplicata. Para o cálculo do teor de flavonóides foi utilizada uma curva de calibração de quercetina no intervalo de 2 a 18 µg/mL.

#### ***Determinação de taninos condensados***

A determinação de taninos condensados seguiu o método colorimétrico descrito por Morrison e colaboradores (1995)<sup>8</sup>, o qual utiliza uma solução de ácido clorídrico 8% e uma solução de vanilina 1%. A amostra foi preparada na concentração de 25 mg/mL e a leitura realizada em 500 nm. O ensaio foi realizado em triplicata e para o teor de taninos condensados foi utilizada uma curva de calibração com catequina no intervalo de 2,5 a 200 mg/mL.

#### ***Determinação de Alcalóides totais***

Para o doseamento de alcalóides totais foi utilizada a metodologia de Oliveira e colaboradores (2006)<sup>9</sup> a qual emprega o reagente de Dragendorff e tiouréia, e leitura em espectrofotômetro em 435 nm. A amostra foi preparada na concentração de 60 mg/mL e o teste foi realizado em triplicata. Para o cálculo do teor de alcalóides foi utilizada uma curva analítica com nitrato de bismuto, no intervalo de 0,01 a 0,09 mg/mL.

#### ***Análise fitoquímica qualitativa***

A análise fitoquímica qualitativa da casca e do miolo das raízes foi realizada conforme metodologias descritas em publicações especializadas<sup>10</sup>, seguindo uma série de reações de caracterização, tais como: gomas (reação de precipitação com ácido acidulado, reação com acetato de chumbo e reação com cloreto férrico); mucilagens (índice de entumescimento); heterosídeos cardiotônicos (núcleo esteroidal: reação de Liebermann-Buchard; anel lactônico

pentagonal: reação de Kedde e reação de Baljet; glicona, presença de açúcares e desoxiaçúcares: reação de Keller-Killiani e reação de Xantidrol); heterosídeos antraquinônicos (reação de Borntraiger e pesquisa do tipo de ligação); heterosídeos flavonoidicos (reação de Shinoda e reação com hidróxidos alcalinos); heterosídeos saponínicos (determinação do índice de espuma); taninos (reação com sais de ferro, reação com acetato de chumbo, reação com gelatina e reação com acetato de cobre); alcalóides (reações de Dragendorf, Meyer e Bertrand) e purinas (reação da murexida).

## Resultados e Discussões

No teste de capacidade antioxidante frente ao radical DPPH foi obtido um  $IC_{50}$  de 188,57 mg/g. Este valor evidencia uma modesta capacidade antioxidante do extrato bruto das raízes, o que é confirmado por Martins e colaboradores (2006)<sup>11</sup>, que testaram o extrato etanólico e as frações n-hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol dos galhos desta planta, sendo obtido uma boa atividade antioxidante para as frações diclorometano e acetato de etila (37,05 e 57,30 g/ml respectivamente) e uma baixa atividade antioxidante para os outros extratos (>1000 g/ml). Entretanto, Mannion e Menezes (2010)<sup>12</sup>, analisando o extrato etanólico das partes aéreas de *U. baccifera* e partições deste em hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol, obtiveram como melhor valor de capacidade antioxidante frente ao DPPH, um  $EC_{50}$  = 120,16 mg/g na fração em acetato de etila, classificando esta atividade como alta.

Os resultados obtidos para os doseamentos de polifenóis totais, flavonóides, taninos condensados e alcalóides estão expressos na Tabela 1, juntamente com a equação da reta obtida com cada substancia química de referencia e seu coeficiente de correlação.

**Tabela 1** — Resultados obtidos no doseamento de polifenóis totais, flavonóides, taninos condensados e alcalóides para a raiz de *Urera baccifera*

Teste	Resultado (mg/g) + DP*	Equação da Reta	Coefficiente de correlação (R)
<b>Polifenóis totais</b>	29,76 + 1,5	$y = 30,767x - 0,0087$	0,9992
<b>Flavonóides</b>	16,42 + 0,1	$y = 0,0402x + 0,001$	0,9998
<b>Taninos condensados</b>	19,11 + 0,77	$y = 0,0015x + 0,0005$	0,9968
<b>Alcalóides totais</b>	1,58 + 0,02	$y = 2,2783x + 0,0361$	0,9997

\*DP= Desvio padrão da média

Os valores obtidos para polifenóis totais e flavonóides neste estudo foram semelhantes aos descritos por Mannion e Menezes (2010)<sup>12</sup> nas partes aéreas de *U. baccifera*, uma vez que coincidem com o intervalo de valores obtidos para as diferentes partições efetuadas por estes autores. Já os valores obtidos para taninos condensados e alcalóides, por serem descritos pela primeira vez na espécie, não permitiram uma comparação direta com outros autores. Após a quantificação dos polifenóis totais, flavonóides, taninos condensados e alcalóides no extrato bruto da raiz, foi realizada a análise fitoquímica comparativa para verificar se havia diferença qualitativa na composição dos extratos da casca e do miolo da raiz da planta.

*U. baccifera* apresentou resultados positivos para heterosídeos flavonoidicos e purinas apenas na casca, heterosídeos saponínicos apenas no miolo e taninos e mucilagens na casca e no miolo da raiz. A tabela 2 apresenta os resultados obtidos nos testes.

**Tabela 2** — Resultados obtidos para cada classe de metabólito nas duas partes da raiz.

Testes	Casca	Miolo
Gomas	-	-
Mucilagens	+	+
Heterosídeos cardiotônicos	-	-
Heterosídeos antraquinônicos	-	-
Heterosídeos flavonoídicos	+	-
Heterosídeos saponínicos	-	+
Taninos	+	+
Alcalóides	-	-
Purinas	+	-

Em análise fitoquímica preliminar, os resultados negativos não implicam necessariamente na ausência dos metabólitos secundários na parte da planta, podendo ocorrer que a quantidade dos mesmos esteja pequena para sua detecção por reações qualitativas<sup>13</sup>. O baixo valor encontrado no doseamento de alcalóides totais (Tabela I) e a ausência de resultado positivo nos testes de alcalóides totais (Tabela II) corroboram esta afirmação.

Chaurasia e Wichtl (1987)<sup>14</sup> isolaram flavonóides glicosilados nas flores da *Urtica dióica* (Urticaceae), planta da mesma família de *U. baccifera*. Akbay e colaboradores (2003)<sup>15</sup> isolaram quercetina, canferol e isoramnetina da mesma planta. Os resultados obtidos por estes autores reafirmam a positividade para flavonóides obtida neste trabalho.

Conforme Özen e Korkmaz (2003)<sup>16</sup> vários metabólitos diferentes já foram identificados em *U. dióica*, entre eles: glicopiranosídeos, glicoproteínas, proteínas, flavonóides glicosilados, carotenóides, bem como compostos biologicamente ativos, tais como aminoácidos, ácido cafeico, ácido málico e ácido quínico, óleos essenciais, ácido fórmico e acético, histamina, taninos, mucilagem, vitaminas (A, B1, B2, C, K1, ácido fólico). Estes metabólitos podem contribuir para os efeitos observados no uso popular das plantas da família Urticaceae.

As mucilagens possuem ação laxativa, atuando também como anti-diarréicos, devido à sua natureza coloidal, impedindo a ação de substâncias irritantes e até de bactérias sobre a mucosa. Aos heterosídeos flavonoídicos são atribuídas propriedades antitumorais, anti-inflamatórias, antioxidante e antivirais. As saponinas apresentam atividades anti-helmíntica, ictiotóxica, hipocolesterolemizante e anti-inflamatória descritas na literatura, bem como os taninos que apresentam atividade contra o reumatismo, problemas renais e processos inflamatórios em geral. As purinas podem apresentar efeitos sobre o sistema nervoso central e sistema cardiovascular, entre outros<sup>17</sup>. Tendo em vista as ações farmacológicas descritas na literatura para estes metabólitos, esta planta é promissora para mais estudos que comprovem sua atividade analgésica e anti-inflamatória.

## Conclusão

A quantificação de polifenóis totais, flavonóides, taninos condensados e alcalóides, bem como a análise da capacidade antioxidante nas raízes da planta foram descritas pela primeira vez na literatura neste trabalho. Este estudo que determinou o perfil fitoquímico da casca e do miolo da raiz de *U. baccifera* caracterizou-se positivo para vários testes realizados, o que levou a uma maior clareza a respeito das classes de metabólitos secundários presentes na raiz. Além disso, permitiu evidenciar diferenças qualitativas nos resultados de purinas, heterosídeos flavonóides e heterosídeos saponínicos. Essa espécie apresenta seu uso popular nesta região principalmente como anti-inflamatória e para o tratamento de infecções micóticas da pele, o que pode estar relacionado com a atividade das substâncias encontradas nesta análise.

## Agradecimentos

Ao Centro Universitário Franciscano por ceder sua estrutura para a realização das análises fitoquímicas e pela formação dada aos profissionais que elaboraram este trabalho. A UFSM e ao Programa de Pós-Graduação Ciências Farmacêuticas pela realização dos doseamentos complementares.

## Referências Bibliográficas

- 1 - Maciel MAM, Pinto AC, Veiga Jr VF, Grynberg NF, Echevarria, A. Plantas Medicinais: A Necessidade de Estudos Multidisciplinares. *Quím Nova*. 2002; 25(3):429-38.
- 2 - Joly, AB. Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal. 12a ed. São Paulo: Companhia Editora Vegetal; 1998.
- 3 - Badilla B, Mora G, Lapa AJ, Emim JAS. Anti-inflammatory activity of *Urera baccifera* (Urticaceae) in Sprague-Dawley rats. *Rev Biol Trop*. 1999; 47(3):365-71.
- 4 - Martins FA, Gomes MM da R, Nogueira FLP, Martins GR, Romanos MTV, Kaplan MAC, et al. In vitro inhibitory effect of *Urera baccifera* (L.) Gaudich. Extracts against herpes simplex. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2009; 3(11):581-4
- 5 - Choi, CW, Kim, SC, Hwang, SS, Choi, BK, Ahn, HJ, Lee, MY, et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoid by assay-guided comparison. *Plant Science*. 2002; 163:1161-8.
- 6 - Chandra, S, Mejia, EG. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to *Mate* (*Ilex paraguayensis*) and *Green* (*Camellia sinensis*) Teas. *J Agric Food Chem*. 2004; 52:3583-9.
- 7 - Woisky, RG, Salatino, A. Analysis of própolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J Apic Res*. 1998; .37(2):99-105.
- 8 - Morrison, IM, Asiedu, EA, Stuchbury, T, Powell, AA. Determination of lignin and tannin contents of Cowpea seed coats. *Ann Bot*. 1995; 76 (3):287-290
- 9 - Oliveira, MAC, Albuquerque, MM, Xavier, HS, Strattmann, RR, Grangeiro Junior, S, Queiroz, AT. Desenvolvimento e validação de metodologia para quantificação de alcalóides totais como berberina em fitoterápico contendo *Berberis vulgaris* L. *Rev Bras Farmacogn*. 2006; 16 (3):357-64
- 10 - Moreira EA. Contribuição para o estudo fitoquímico de *Lobelia hassleri* A. ZAHLB e *Lobelia stellfeldii* R. Braga. *Companulaceae. Trib Farm*. 1979; 47(1):13-39.
- 11 - Martins, GR, Nogueira, FLP, Menezes, FS, Kaplan, MAC. Atividade antioxidante do extrato etanólico e suas partições obtidas dos galhos de *Urera baccifera* Gaudich. Através do ensaio com DPPH. 29ª Reunião Anual da

Sociedade Brasileira de Química, 2006.

12 - Mannion, F e Menezes, FS. Antioxidant activity of *Urera baccifera* Gaud extracts. The Trinity College Dublin Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences. 2010; 2(1):8-9

13 - Boligon, AA, Feltrin, AC, Janovik, V, Frohlich, JK, Athayde, ML. Estudo fitoquímico das cascas do tronco de *Scutia buxifolia* Reissek. Saúde, 2009; 35(2):4-6.

14 - Chaurasia, N. & Wichtl, M. Flavonolglykoside aus *Urtica dioica*. *Planta Med.* 1987:432-4.

15 - Akbay, P., Basaran, A.A., Undeger, U., Basaran, N. In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytotherapy Research.* 2003; 17:34-7.

16 - Özen T., Korkmaz H. Modulatory effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) leaf extract on biotransformation enzyme systems, antioxidant enzymes, lactate dehydrogenase and lipid peroxidation in mice. *Phytomedicine.* 2003; 10:405-15.

17 - Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR., organizadores. *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 6 ed, 1 reimp. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora UFSC; 2010.

#### **Endereço para correspondência**

**Amanda Leitão Gindri** - Rua Benjamin Constant, nº 930, apto 114. Santa Maria, RS. CEP 97.050-020  
Telefones: (55) 3317 – 7163 e (55) 9653 - 7163

**E-mail:** amandagindri@terra.com.br

Recebido em 02 de março de 2011.

Aprovado em 12 de junho de 2011.

## **SOROPREVALÊNCIA PARA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE C ENTRE INDIVÍDUOS ATENDIDOS NO LABORATÓRIO MUNICIPAL DE SANTA MARIA- RS**

*Renize Rosa Lubini\*, Sandra Trevisan Beck\*\**

**RESUMO:** Para determinar a soroprevalência para infecção pelo vírus da Hepatite C, foram analisados os resultados dos testes sorológicos para o marcador anti-HCV em 1416 indivíduos atendidos no Laboratório Municipal de Santa Maria-RS, no período de Julho de 2008 a julho de 2010. A frequência do marcador anti-HCV foi de 3,9%. Em relação ao sexo, entre os indivíduos reagentes, 44% são do sexo feminino e 56% do sexo masculino. A média de idade nos dois grupos foi semelhante, sendo de 42 anos no sexo feminino (intervalo de 6-68 anos) e 40 anos no sexo masculino (intervalo de 1-71 anos). Pela prevalência sorológica encontrada, a infecção pelo vírus da hepatite C no município é discretamente maior que a relatada por outros estudos em outras regiões do Brasil, com faixa etária sugerindo infecção em um passado recente. Políticas públicas para identificação dos indivíduos infectados precisam ser intensificadas para conter a transmissão deste agente infeccioso.

**Descritores:** Hepatite C; Anticorpos; Prevalência.

## **SEROPREVALENCE OF HEPATITIS C INFECTION AMONG INDIVIDUALS ASSISTED AT THE MUNICIPAL LABORATORY IN SANTA MARIA-RS**

**ABSTRACT:** We analyzed the results of serological tests for anti-HCV antibodies of 1416 individuals attended at the Municipal Laboratory in Santa Maria-RS between July of 2008 to July of 2010 to determine the seroprevalence of Hepatitis C infection.. The frequency of anti-HCV marker was 3,9%. Regarding genre , 44% were female and 56% male. The mean age for both groups was similar, being 42 years old for females (range 6-68 years old) and 40 years old for males (range 1-71 years old). The seroprevalence of hepatitis C infection in Santa Maria is slightly higher than that reported by other studies in other regions of Brazil, with range of age suggesting infection in the recent past. Public policies for identification of infected individuals must be intensified to stop transmission of this infectious agent.

**Descriptors:** Hepatitis C; Antibodies; Prevalence.

\* Acadêmica do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

\*\* Professora Adjunta do Departamento de Análises Clínicas e toxicológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

## Introdução

A Hepatite C é uma doença infecciosa viral, contagiosa, tendo como causador o vírus da hepatite C (HCV), o qual provavelmente foi responsável por aproximadamente 90% dos casos de hepatite transmitida por transfusão de sangue sem agente etiológico reconhecido, anteriormente chamado de Hepatite Não A Não B. Aproximadamente, 80% das pessoas que se infectam não conseguem eliminar o vírus, evoluindo então para formas crônicas. O restante (20%) consegue eliminá-lo dentro de um período de seis meses do início da infecção<sup>1</sup>

O vírus provoca uma infecção persistente, embora alguns indivíduos controlem a infecção de forma espontânea. A coordenação das várias funções efetoras imunológicas é necessária para controlar o HCV<sup>2</sup>. O sucesso das respostas imunológicas parece ser multiespecífico e sustentado, incluindo um papel importante para linfócitos T CD4<sup>+</sup>. Algumas células TCD8<sup>+</sup> mostram reduzida capacidade de secretar citocinas antivirais por período temporário ou em longo prazo. A transmissão do vírus da hepatite C ocorre principalmente por exposição parenteral através de agulhas ou outros objetos perfurantes. A transfusão de sangue e derivados, procedimentos odontológicos, cirúrgicos e de hemodiálise, realizados sem atender às indicações das normas de biossegurança, bem como o uso de drogas injetáveis, podem levar à infecção. A transmissão perinatal também pode ocorrer, em 3,6% a 35,55% dos casos, sendo que esta infecção dependerá principalmente da quantidade de vírus circulante durante o parto e também da co-infecção com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Em risco menor que os citados, a transmissão por saliva, leite materno, sêmen, secreção vaginal, também pode ocorrer<sup>3</sup>.

Há estimativa de que 3% da população mundial estejam infectadas com o vírus, sendo este o principal motivo dos casos de cirrose e, eventualmente, o causador de hepatocarcinoma. Esta proporção deve aumentar segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a qual afirma que há expectativa de que ocorram 4 milhões de novos casos a cada ano,<sup>4,5</sup>. Além disso, há dados referentes ao ano 2000 que relatam aproximadamente duas vezes mais homens infectados do que mulheres (WHO, 2000)<sup>5</sup>.

Com base em dados da rede de hemocentros, em 2004, a distribuição de casos de HCV variou entre as regiões brasileiras: 2,1% no Norte; 1% no Nordeste; 1,2% no Centro-Oeste; 1,4% no Sudeste e 0,7% no Sul<sup>6</sup>.

O diagnóstico laboratorial do vírus HCV pode ser realizado por análises sorológicas, porém, os anticorpos específicos contra o vírus podem demorar até 6 semanas para serem detectados no sangue dos pacientes. A investigação inicial da infecção pelo HCV consiste na realização de exames imunoenzimáticos (ELISA) para detecção de anticorpos específicos contra proteínas virais, sendo o anti-HCV de 3ª geração (ou ELISA-III) o teste de triagem sorológica, com alta sensibilidade (maior que 97%) e especificidade próxima de 95%. Embora esse teste seja muito sensível para rastreamento de soropositivos para HCV e tenha quase que eliminado a ocorrência de hepatite pós-transfusional, seu resultado pode mostrar-se falso-negativo. Isto ocorre devido à soroconversão (presença de anticorpos detectáveis) ocorrer aproximadamente 12 semanas após a exposição inicial ao vírus. Então, no período de “janela imunológica” (doença presente, com anticorpos ausentes), os testes que pesquisam apenas anticorpos, resultarão negativos<sup>7</sup>.

Atualmente existem disponíveis comercialmente os ensaios de 4ª geração. Esses são testes imunoenzimáticos que detectam não só anticorpos, mas também antígenos virais circulantes, os quais aparecem precocemente na fase aguda da doença, diminuindo a chamada janela sorológica e também reduzindo o número de resultados indeterminados<sup>8</sup>.

As reações falso-positivas também podem ocorrer, embora com pouca frequência, devido à excelente especificidade dos reagentes disponíveis no mercado. A confirmação de um ELISA positivo pode ser realizada por testes suplementares como o Immunoblot recombinante (RIBA), mais específicos e geralmente empregados para verificar falso-positivos em indivíduos com baixo risco de infecção<sup>9</sup>. A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma das técnicas de biologia molecular mais utilizada, que amplifica parte do genoma do vírus, sendo extremamente sensível<sup>10</sup>. Este teste, uma vez que detecta o genoma viral, permite confirmar a infecção pelo HCV. O teste de PCR pode ser qualitativo para detecção do vírus ou quantitativo para quantificação do número de cópias virais circulantes ou carga viral<sup>11</sup>.

Uma vez que os indivíduos atendidos no Laboratório Municipal de Santa Maria- RS provêm de diferentes áreas do município, e podem representar uma amostragem da população geral, o presente trabalho teve por objetivo determinar a soroprevalência da infecção pelo vírus da Hepatite C entre os indivíduos que realizaram sorologia para detecção de anticorpos anti-HCV.

### **Material e métodos**

Foram analisados os resultados de 1416 sorologias para HCV no período de Julho de 2008 a julho de 2010 realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Prefeitura de Santa Maria - (CEDAS). O levantamento dos dados foi obtido a partir de registros arquivados no referido laboratório.

Os testes sorológicos foram realizados utilizando equipamento automatizado AXSYM (Abbott ®), e reagentes comerciais aprovados pela ANVISA, pelo método de Ensaio Imunoenzimático por Micropartículas (MEIA) para detecção qualitativa do anticorpo para o vírus da Hepatite C em soro ou plasma humano.

Para verificar a intensidade da resposta humoral dos indivíduos testados, os resultados sorológicos obtidos foram expressos em forma de index, onde a densidade ótica do resultado obtido com a amostra testada foi dividida pela densidade ótica definida como ponto de corte da reação (cut off). Valores maiores que 1.0 foram considerados reagentes.

### **Considerações éticas**

Os dados foram obtidos após avaliação e autorização para realização do projeto pela Secretaria de Município de Saúde de Santa Maria e Comitê de Ética da UFSM sob CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0174. 0.243.000-10.

### **Resultados**

Na análise inicial (n=1416), verificou-se que 1359 (96%) resultaram não reagentes para sorologia anti-HCV. Para estes pacientes, o resultado foi liberado, sem necessidade da análise de uma segunda amostra. Para os 57 pacientes, com resultado reagente (4%), foi solicitado coleta de uma nova amostra para repetição do teste sorológico. Apenas um paciente não

compareceu para a segunda coleta, e outro teve o resultado da segunda amostra não reagente. O resultado sorológico foi então confirmado como reagente em 55 dos casos (3,9%). (Figura 1)

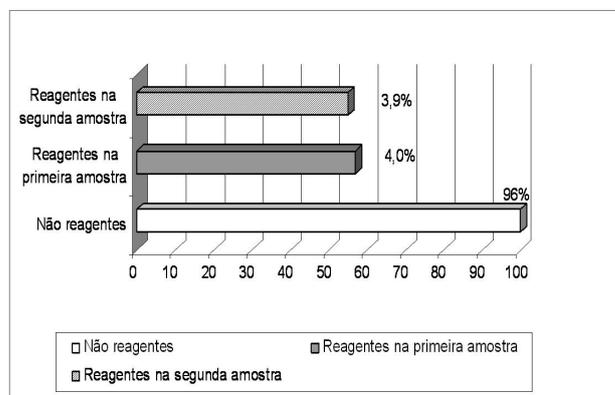


Figura 1 — Resultados sorológicos encontrados para anticorpos anti-HCV nas amostras estudadas

Em relação ao sexo, entre os indivíduos reagentes, 44% eram do sexo feminino e 56% do sexo masculino. A média de idade nos dois grupos foi semelhante, sendo de 42 anos no sexo feminino (intervalo de 6-68 anos) e 40 anos no sexo masculino (intervalo de 1-71 anos).

Considerando a intensidade da resposta sorológica da primeira amostra testada, pode-se verificar que a maior parte dos pacientes apresentava resposta sorológica com índice maior que 2,0 (82%). Apenas 10 pacientes apresentaram índice entre 1,0 e 2,0, sendo três deles com valor muito próximo ao ponto de corte da reação (entre 1-1,5) e, portanto, podendo ser considerado fracamente reagente (Figura 2).

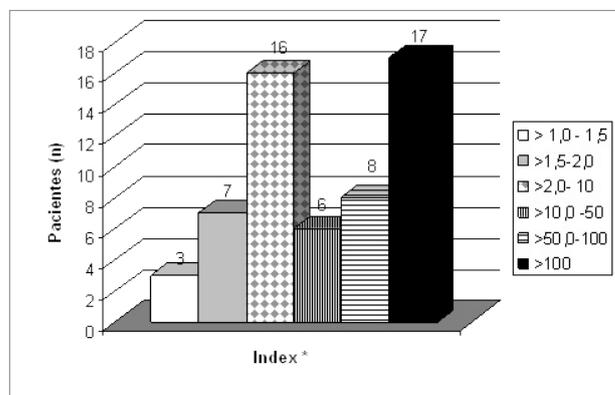


Figura 2 — Índice sorológicos encontrados entre os indivíduos reagentes para anticorpos anti-HCV.

\*Índice = valor de leitura da amostra / valor do ponto de corte da reação

Teste reagente = índice > 1,0

## Discussão

Um dos maiores problemas da infecção pelo vírus da Hepatite C (HCV) é ser frequentemente assintomática. Apesar de silenciosa, esta infecção é uma das principais causas de cirrose e hepatocarcinomas e a principal indicação de transplante hepático<sup>12</sup>. Em uma pesquisa realizada pela Sociedade Brasileira de Hepatologia para analisar a "Epidemiologia do vírus C no Brasil" foi observada a prevalência de anti-HCV em pacientes com diferentes doenças hematológicas (2,7 a 51%), pré-doadores de sangue (1,23%) e hemodialisados (38,35%), entre outros. Foi observada também uma importante diferença na taxa de positividade em politransfundidos, antes (18,%) e depois de 1991 (1,38%)<sup>13</sup>.

A prevalência do vírus no Brasil varia principalmente de acordo com as características demográficas e sócio-econômicas da população estudada, sendo a região norte a de maior endemicidade<sup>14</sup>. Quando voltados para segmentos específicos da população, os resultados demonstram ampla variação desta medida, incluindo valores como 1,1% a 2,4% para a população geral na região amazônica<sup>15</sup>, 15% entre alcoólatras estudados em Porto Alegre<sup>16</sup>, chegando a 56% entre hemofílicos com idade superior a 10 anos na Bahia<sup>17</sup>. Já em grupos de risco, observa-se alta prevalência (48,1% a 51,9%), entre hemodialisados<sup>18</sup>.

A prevalência de 4% de indivíduos com resultado reagente na primeira amostra, encontrada no presente estudo (figura 1), foi pouco superior que à descrita em estudo realizado no estado do Pará, onde a prevalência do anticorpo anti-HCV foi de 3,6%<sup>19</sup>. Esta porcentagem também foi superior à estimativa mundial, que até 2007 era de 2,2%<sup>20</sup>. Comparando com os dados apresentados pelo Ministério da Saúde em 2004<sup>21</sup>, onde a infecção já havia atingido 2% da população brasileira, percebe-se que a porcentagem de indivíduos infectados pelo vírus vem aumentando de forma gradual.

Apesar de não ter sido realizado o teste confirmatório RIBA, para as amostras com resultados reagentes para anticorpos anti-HCV, pode-se estimar que o índice de resultados falso-positivos foi muito baixo. Esta conclusão baseia-se em estudo realizado por Contreras e colaboradores em 2008<sup>22</sup>, para confirmar pesquisa de anticorpos anti-HCV sem necessidade de um teste complementar. Os autores demonstraram que, utilizando o ensaio da Ortho VITROS anti-HCV de terceira geração, em amostras de doadores de sangue, um índice igual a 4,0 confirmaria um resultado verdadeiramente positivo, relatando que pacientes com índice inferior a 2,0 raramente apresentavam viremia. Como no presente estudo, a maior parte dos pacientes apresentou um índice sorológico elevado, embora realizado com reagente diferente do estudo citado, a probabilidade dos resultados de ELISA ser verdadeiros é alta. Porém, realização do teste da PCR continua sendo importante, não só para a confirmação da infecção, principalmente nos pacientes apresentando índice entre 2,0 e 4,0, como para acompanhamento da eficácia do tratamento, quando este é instituído.

Quando os resultados reagentes foram analisados segundo o sexo, a maior prevalência do marcador pesquisado foi encontrada em homens (56% dos casos), indicando que estes podem ter tido maior exposição ao vírus HCV. Porém, não há evidências que comprovem uma maior suscetibilidade desse sexo à infecção viral. A prevalência maior no sexo masculino se deve, provavelmente, devido ao comportamento sexual. Um estudo realizado no Hemocentro de Ribeirão Preto- SP também evidenciou o predomínio de homens (93%) para os resultados reagentes quanto à sorologia para HCV. Contudo isto pode ser simplesmente um viés amostral, uma vez que a maior parte dos doadores de sangue é do sexo masculino<sup>23</sup>. Em pesquisa realizada para traçar um panorama da infecção por hepatite C no estado de Santa Catarina e em Florianópolis, no sexo masculino foi encontrada uma prevalência de 69,59% e 69,54% respectivamente<sup>24</sup>. O mesmo pôde-se observar em outros achados, como nas populações de São Paulo (69,3%) e Belém (74,1%)<sup>25</sup>.

Em relação à faixa etária, no grupo estudado a média de idade em ambos os sexos foi de 40 a 42 anos. Uma análise idade-específica de dados de prevalência identificou três padrões gerais de transmissão do HCV, na primeira delas a maioria das infecções são encontradas em indivíduos com idade entre 30-49 anos, o que indica que o risco de transmissão foi maior em um passado relativamente recente (10-30 anos), e principalmente afetando adultos jovens, semelhante ao encontrado no presente estudo. Outros estudos realizados no Brasil confirmam esta tendência, como o realizado no laboratório público do Pará, onde a faixa etária com maior

prevalência foi entre 30 e 50 anos de idade<sup>19</sup>. Um estudo feito entre doadores de sangue, também indica maior prevalência de soropositivos para hepatite C entre indivíduos com 26-54 anos de idade<sup>23</sup>. Contudo este grupo não é um indicador fiel da soroprevalência geral, pois existe uma idade mínima (18 anos) para que o indivíduo possa ser doador, sendo assim uma amostra selecionada. O segundo padrão de transmissão está presente em países como o Japão e Itália, onde a maioria das infecções é encontrada em pacientes idosos, o que mostra que o risco de transmissão foi em um passado distante. Já em países com o terceiro padrão, como o Egito, as altas taxas de infecção são observadas em todas as faixas etárias, indicando um elevado risco em curso para a aquisição da infecção pelo HCV. Nos dois últimos grupos a contaminação de equipamentos para administrar injeções e procedimentos inseguros de saúde são meios importantes de transmissão<sup>26</sup>.

Devido à similaridade em suas rotas de transmissão (via parenteral), a co-infecção do HCV em pessoas portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV) é freqüentemente observada, principalmente em pacientes que adquiriram HIV por uso de drogas injetáveis ou transfusão sanguínea. Nos Estados Unidos e Europa, estima-se que 30% dos indivíduos com HIV estejam co-infectados com HCV, no Brasil, a prevalência depende da área geográfica considerada, variando de 8,9% a 54%<sup>27</sup>.

Estes dados corroboram a importância do conhecimento da infecção por HCV na população geral, e a necessidade destes indivíduos serem também pesquisados em relação à infecção pelo HIV. Uma vez identificado o indivíduo infectado pode ser evitada a transmissão do agente infeccioso, colaborando para o controle da doença na população geral.

### **Referências Bibliográficas**

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional para a Prevenção e o Controle das Hepatites Virais. Manual de Aconselhamento em Hepatites Virais, 2005. Disponível em: [http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/politicas/hepatites\\_aconselhamento.pdf](http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/politicas/hepatites_aconselhamento.pdf). Acesso em 26 de maio de 2010.
2. KLENERMAN, P.; LUCAS, M.; BARNES, E.; HARCOURT, G. Immunity to hepatitis C virus: stunned but not defeated. *Microbes Infect.*, 2002; 4: (1): 57-65.
3. STRAUSS, E. Hepatite C. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2001; 34(1): 69-82.
4. CIMERMAN, S. Hepatite C: A epidemia silenciosa. 2005. Disponível em: [http://www.lincx.com.br/lincx/saude\\_a\\_z/outras\\_doencas/hepatite.asp](http://www.lincx.com.br/lincx/saude_a_z/outras_doencas/hepatite.asp). Acesso em 25 de maio de 2010.
5. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Hepatitis C. Disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrlyo2003/en/index4.html#endemicity>. Acesso em 06 de junho de 2010.
6. ROSINI, N.; MOUSSE, D.; SPADA, C.; TREITINGER, A. Seroprevalence of HbsAg, Anti- HbC and Anti-HCV in Southern Brazil, 1999-2001. *Braz J Infect Dis*, 2003; 7(4): 262-267.
7. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis C: *Hepatology*, 2002; 19: 3 – 20.
8. SHAH, D. O.; CHANG, C. D.; JIANG, L. X.; CHENG, K.Y.; MUERHOFF, A. S.; GUTIERREZ, R.A.; LEARY, T.P.; et al. Combination HCV core antigen and antibody assay on a fully automated chemiluminescence analyzer. *Transfusion*; 2003; 43:1067-1074.
9. KIM YS, LEE HS, AHN YO. Factors associated with positive predictability of the anti-HCV ELISA method with confirmatory RT-PCR. *J Korean; Med Sci.* 1999;14(6):629-34.

10. NOLTE, F.S.; FRIED, M.W.; SHIFFMAN, M.L.; FERREIRA-GONZALEZ, A.; GARRETT, C.T.; SCHIFF, et al. Prospective Multicenter Clinical Evaluation of Amplicor and Cobas Amplicor Hepatitis C Virus Tests. *J Clin Microbiol*, 2001; 39: 4005-4012.
11. GERMER, J. J. & ZEIN, N. N. Advances in the molecular diagnosis of hepatitis C and their clinical implications. *Mayo Clin Proc*, 2001;76: 911-920.
12. VELOSA, J.; MARINHO, R.; GOUVEIA, A. Factores de risco para o carcinoma hepatocelular em doentes com cirrose hepática. *J Port Gastroenterol*, 1994; 1: 1-10.
13. SBH –Relatório do Grupo de Estudos da Sociedade Brasileira de Hepatologia. Epidemiologia da infecção pelo vírus da Hepatite C no Brasil. Disponível em: [http://www.fmt.am.gov.br/trabalhos/anais/virologia/infec\\_brasil.htm](http://www.fmt.am.gov.br/trabalhos/anais/virologia/infec_brasil.htm). Acesso em 12 de novembro de 2010.
14. FERREIRA, C.T.; SILVEIRA, T.R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. *Rev Bras Epidemiol.*, 2004;7: 473-487.
15. TAVARES-NETO, J.; ALMEIDA, D.; SOARES, M.C.; UCHOA, R.; VIANA, S.; DARUB, R. et al. Seroprevalence of hepatitis B and C in the western Brazilian Amazon region (Rio Branco, Acre): a pilot study carried out during a hepatitis B vaccination program. *Braz J Infect Dis*. 2004; 8: 133-139.
16. GALPERIM, B.; CHEINQUER, H.; STEIN, A.; FONSECA, A.; LUNGE, V.; IKUTA, N. Prevalence of hepatitis C virus in alcoholic patients: role of parenteral risk factors. *Arq Gastroenterol*, 2006; 43 (2): 81-84.
17. SILVA, L.K.; SILVA, M.B.S.; LOPES, G.B.; RODART, I.F.; COSTA, F.Q.; SANTANA, N.P. et al. Prevalence of hepatitis C virus infection and HCV genotypes among hemophiliacs in the State of Bahia, Northeastern Brazil: analysis of serological and virological parameters. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2005; 38(6): 496-502.
18. FABRIZI F, MARTIN P. Health care associated transmission of hepatitis B and C viruses in hemodialysis units. *Clin Liver Dis*, 2010; 14: 49-60.
19. AQUINO, J.A.; PEGADO, K.; BARROS, L.; MACHADO, L. Soroprevalência de infecções por vírus da hepatite B e vírus da hepatite C em indivíduos do Estado do Pará. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2008; 41(4): 334-337.
20. ALTER MJ. Epidemiology of viral hepatitis C infection. *World J Gastroenterol*, 2007;13(17):2436-41
21. BRASIL, Ministério da Saúde. Programa Estadual de DST/AIDS divisão de Vigilância Epidemiológica. Boletim Epidemiológico DST/AIDS. Ano II, n. 01, 2004. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvsm/periodicos/03boletim\\_588906.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvsm/periodicos/03boletim_588906.pdf). Acesso em 25 de maio de 2010.
22. CONTRERAS, A. M.; TORNERO-ROMO, C.M.; TORIBIO, J.G.; CELIS, A.; OROZCO-HERNÁNDEZ, A.; RIVERA, P.K.; MENDEZ, C.; et al. Very Low Hepatitis C Antibody Levels Avoid Supplemental Testing. *Transfusion*, 2008; 48: 2540-2548.
23. VALENTE, V.B.; COVAS, D.T.; PASSOS, A.D.C. Marcadores sorológicos das hepatites B e C em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2005; 38: 488-492.
24. GONÇALVES, S.; DAMINELLI, E.N.; SPADA, C.; HAAS, P. Panorama da Hepatite C no estado de Santa Catarina e na cidade de Florianópolis. *RBCA*, 2008; 40(1): 57-60
25. MONTEIRO, M.R.C.C. Estudo soro epidemiológico dos vírus da hepatite B e hepatite C em portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana/Sida na cidade de Belém, Pará – Brasil. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 2002.
26. WASLEY, A.; ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis*, 2000; 20: 1–16.
27. CARVALHO, F. H. P.; COELHO, M.R.C.D.; VILELLA, T.A.S.; SILVA, J.L.A.; MELO, H.R.L. Co-infecção HIV/HCV em hospital universitário de Recife, Brasil. *Rev Saúde Pública*, 2009; 43(1): 133-39.

Recebido em 15 de fevereiro de 2011.  
Aprovado em 10 de junho de 2011.

*Saúde (Santa Maria)*, v.36, n.2, p. 71-78,  
jul./dez. 2010.

Soroprevalência para infecção pelo vírus da  
hepatite c entre indivíduos atendidos no  
Laboratório Municipal de Santa Maria- RS

**RISCO DE ZOONOSE POR PARASITOS DO TRATO DIGESTÓRIO DE JUNDIÁS (RHAMDIA QUELLEN) COLETADOS EM RESERVATÓRIO DE ÁGUA DA REGIÃO CENTRAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**Mário Luiz de la Rue\***; **Lilian Varini Ceolin\***; **Carina de Castro Gabriel\***; **Bernardo Baldisserotto\*\***; **Alexssandro Geferson Becker\*\***; **Francis de Mattos Almeida\*\*\***; **Joaber Pereira Junior\*\*\***

**RESUMO:** A zoonose causada por larvas da família Anisakidae, através da ingestão de carne crua de peixes, pode trazer alterações patológicas no Sistema Digestório. Desta maneira, cinquenta e três peixes jundiá (*Rhamdia quelen*) foram coletados do Reservatório Costa e Silva, utilizado para captação de água para abastecimento da cidade de Santa Maria (RS), entre setembro de 2005 e agosto de 2006. Dentre esses peixes, foi observada infecção por parasitos gastrintestinais em 41 indivíduos (77,35%), havendo classificação dos parasitos como pertencentes à família Anisakidae, e 1 indivíduo como do gênero *Contracaecum*. A análise dos dados justifica a importância no controle sanitário de pescados de modo a evitar riscos aos seres humanos

**Descritores:** Jundiá; Anisakiase; *Contracaecum*; Zoonose

**ZOONOSIS RISK DUE TO GASTROINTESTINAL PARASITES OF JUNDIAS (RHAMDIA QUELLEN) COLLECTED IN A WATER CAPTATION DAM IN THE CENTRAL REGION OF RIO GRANDE DO SUL**

**ABSTRACT:** Zoonosis caused by larvae from the Anisakidae family, due to ingestion of raw fish meat could bring pathological alterations in the digestive system. This way, fifty three jundias (or silver catfish) (*Rhamdia quelen*) were collected from the Costa e Silva dam which is used for water captation to the provision of Santa Maria City (RS), between September 2005 and August 2006. Gastrointestinal parasites infection were observed in 41 individuals (77,35%), belonging to Anisakidae family, and one individual belonging to the *Contracaecum* species. Data analysis justify the importance of sanitary control in fishes to avoid human risk.

**Descriptors:** Jundiá; Anisakiasis; *Contracaecum*; Zoonosis.

\*\* Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Maria

\*\* Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria

\*\*\* Departamento de Ciências Morfobiológicas, Fundação Universidade Federal do Rio Grande

Anisaquiase é uma zoonose causada por larvas infectantes de nematóides pertencentes à família Anisakidae. Essa parasitose pode implicar em infecção em humanos, hospedeiros acidentais, e é adquirida pela ingestão de peixe cru ou mal cozido que contém o terceiro estágio larval<sup>2</sup>. As espécies *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens* e *Contracaecum osculatatum* são as mais relevantes em saúde pública. Essas larvas, após serem ingeridas, podem penetrar no tecido do trato gastrointestinal, ocasionalmente perfurando-o. Entre os sintomas clínicos mais comuns podem ser citados: febre, cólicas, eosinofilia além de granulomas intestinais que podem causar obstrução intestinal, somente removida por meio de cirurgia<sup>3,5</sup>.

Neste trabalho foram realizadas coletas destinadas ao estudo parasitológico do aparelho gastrointestinal dos peixes jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824), no reservatório Rodolfo Costa e Silva (29°30'61"S, 53°44'20"W), utilizado para captação de água para abastecimento da cidade de Santa Maria, entre setembro de 2005 e agosto de 2006. Os peixes foram capturados no período da manhã com rede e levados para a sede do CIPAM (Comitê de Integração de Políticas Ambientais), na própria barragem, onde foram pesados, medidos, verificado o sexo e realizada a necropsia. O estômago e o intestino de cada peixe foram pesados e acondicionados em recipientes adequados. No mesmo dia, no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria, as amostras foram analisadas e os parasitos encontrados, fixados em álcool 70% aquecido a aproximadamente 65° C para posterior identificação, conforme descrito em Eiras et al (2002) e Berenguer (2006). Esta foi realizada dentro de um período máximo de sete dias. Todo protocolo de atividades foi aprovado pelo Comitê Interno de Ética em Experimentação Animal sob nº 17/2006

Ao todo foram coletados 53 peixes (18 machos e 35 fêmeas) com peso e tamanhos médios de 860 g e 39 cm de comprimento, respectivamente. Foi observada infecção por parasitos gastrintestinais em 41 indivíduos (77,35%). Posteriormente foram identificados os parasitos, todos pertencem à família Anisakidae, porém o gênero não pode ser confirmado, pois não foi possível a visualização de certas estruturas para esta comprovação. Apenas um foi classificado como pertencente ao gênero *Contracaecum*, pela visualização do poro excretor, que se localiza antes do anel nervoso. Devido ao escasso número de parasitos encontrados durante o período estudado, não se pôde avaliar alterações no número desses, ou se as influências sazonais poderiam estar influenciando a biologia dos peixes ou dos seres vivos a eles atrelados.

Em muitos países onde se tem introduzido a cozinha oriental, e com ela o consumo de alguns peixes crus, acontecem casos esporádicos de anisaquiases<sup>6</sup>, o que justificaria a constante atenção a ser dada a este tipo de alimento como transmissor de parasitas que poderiam caracterizar uma zoonose. No Brasil, a presença destes parasitos em humanos já foi documentada em outras regiões<sup>1</sup>, o que demonstraria sua importância como agente patogênico.

A presença de parasitos da família Anisakidae nos jundiás provenientes do reservatório Rodolfo Costa e Silva demonstrou a existência dos hospedeiros envolvidos no ciclo biológico e condições favoráveis à seu desenvolvimento. Baseado nisto, cuidados sanitários deve ser esclarecidos a população com o propósito de evitar a Anisaquiase e o interesse por esta zoonose deveria ser estimulado.

### **Referências Bibliográficas**

- 1-Amato Neto, V; Amato, JGP; Amato, VS. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v.49, n.4, p. 261-262.
- 2- Atlas A. Parasitologia Clínica. 3ª ed. Santiago de Chile: Mediterrâneo, 1999. 618p.
- 3- Eiras JC; Takemoto RM; Pavanelli GC. Métodos de estudos e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes. Maringá: Editora UEM, 2002.305p.
- 4- Berenguer JG. Manual de Parasitologia: morfologia e biologia dos parasitos de interesse sanitário. Chapecó: Argos, 2006. 602p.
- 5- Mehlhorn, H; Piekarski, G. Grundriß der Parasitenkunde, 6 ed. Heidelberg: Spektrum, 2002.515p.
- 6- Nieuwenhuizen, N. et al. Exposure to the fish parasite Anisakis causes allergic airway hypereactivity and dermatitis. Journal of Allergy and Clinical Immunology, v.117, p.1098-1105, 2006.

### **Contato para correspondência**

**Mário Luiz de la Rue** — Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000 , CEP 97.105-900, Santa Maria, RS. Fone (55) 32208437 FAX: (55) 32208242

**E-mail:** mldelarue@hotmail.com