

CONTROLE MICROBIOLÓGICO DO AMBIENTE INTERNO DE FARMÁCIAS DE MANIPULAÇÃO

Liliane Zanetti Weber¹
Ana Paula Zanini Frasson²

Resumo

Os micro-organismos estão muito presentes em nosso dia a dia, encontrando-se no ar que respiramos, nos alimentos e na água que ingerimos. Eles não são percebidos a olho nu, mas são capazes de deteriorar os medicamentos e causar doenças no ser humano. As condições ambientais podem favorecer o desenvolvimento destes contaminantes quando a umidade do ar e a temperatura estiverem elevadas. A higiene e a limpeza são as armas mais eficazes no controle do ar e no combate às doenças que surgem da respiração do ar contaminado. Os fungos e bactérias são os principais contaminantes microbianos, com as bactérias do gênero *Staphylococcus*, *Salmonella* e *Pseudomonas* revelando-se as mais perigosas, por causarem graves doenças. O controle microbiológico de áreas de manipulação de medicamentos e cosméticos é de grande importância, pois evita problemas relacionados à contaminação microbiana dos produtos manipulados. Devido a isto, o presente trabalho objetivou analisar o nível de contaminação por fungos e bactérias do ambiente interno de três farmácias de manipulação do município de Ijuí/RS com o emprego do método de contagem em placas. Os resultados obtidos mostraram que todas as farmácias apresentaram contaminação, tanto por fungos quanto por bactérias.

Palavras-chave: Bactérias. Fungos. Áreas limpas. *Staphylococcus*.

Microbiological Control In The Internal Environmental Of Handling Pharmacies

Abstract

The microorganisms are present in our daily routine, which can be seen in the breathe air, in the food and water. They are not realized by the naked eye, but they are able to damage the medicines and cause humans diseases. The environmental conditions may favor the development of these contaminants, when the humidity air and temperature are high. The hygiene and cleanliness are the most effective ways to control the quality of air and combat the diseases that arise from breathing contaminated air. The fungi and bacteria are the main microbial contaminants, and the bacteria of the genus *Staphylococcus*, *Salmonella* and *Pseudomonas* is the most dangerous to cause serious diseases. The microbial areas control of medicines and cosmetics handling has great importance because it avoids problems related to microbial contamination of handled products. Considering this, it is aimed to evaluate the contamination level by fungi and bacteria of the internal environment of three handling pharmacies in the city of Ijuí / RS, using the plate count method. The results showed that all studies pharmacies were contaminated either by bacteria or by fungi.

Keywords: Bacteria. Fungi. Clean areas. *Staphylococcus*.

¹ Farmacêutica, acadêmica da Pós-Graduação em Farmácia Magistral da Unijuí. lilianezw@hotmail.com

² Mestre em Ciência e Tecnologia Farmacêuticas, docente do Departamento de Ciência da Saúde da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. afrasson@unijui.edu.br

Os micro-organismos estão cada vez mais presentes em nosso dia a dia, podendo ser encontrados no ar que respiramos, nos alimentos que ingerimos e na água que tomamos (Parker; Hodges, 2005). Estes micro-organismos não são percebidos a olho nu, mas são capazes de causar doenças no ser humano e danificar os medicamentos preparados (Hanlon, 2005). As condições ambientais podem favorecer o desenvolvimento destes contaminantes, especialmente quando a umidade do ar e a temperatura estiverem elevadas. Assim, a higiene e a limpeza são as armas mais eficazes no controle do ar e no combate às doenças que surgem da respiração do ar contaminado (Pinto; Kaneko; Ohara, 2000).

Fungos e bactérias são os principais contaminantes microbianos. Os fungos quando presentes em grande quantidade em formulações podem ocasionar o desenvolvimento de danos quando estas forem aplicadas na pele lesada e, ainda provocar a perda da estabilidade da formulação (Tonin; Barelli; Knorst, 2007).

As bactérias nem sempre apresentam as mesmas características, elas variam em forma, tamanho e virulência. As bactérias patogênicas do gênero *Staphylococcus*, *Salmonella* e *Pseudomonas* estão entre as mais perigosas, pois trazem doenças graves para o ser humano. Os *Staphylococcus* são as bactérias Gram positivas e estão associados ao trato respiratório do homem, ferimentos ou lesões da pele. Salmonelas, bem como coliformes fecais, são indicativos dos hábitos de higiene dos operadores. *Pseudomonas* geralmente estão presentes em áreas úmidas, como pias e drenos, e indicam contaminação indireta provocada por poeira ou água (Pinto; Kaneko; Ohara, 2000; Burton; Engelkirk, 1998).

A contaminação ambiental muitas vezes é ocasionada pelas pessoas que trabalham no local. Movimentos, conversas, tosses e espirros são importantes fontes de contaminação (Parker; Hodges, 2005). Os *Staphylococcus* são micro-organismos transmitidos desta forma e estão presentes principalmente na mucosa nasal, contaminando assim as mãos (Bresolin; Dall'stella; Silva, 2005).

O controle microbiológico de áreas de manipulação de medicamentos e cosméticos é de grande importância, pois evita problemas relacionados à contaminação microbiológica dos produtos manipulados. Essa contaminação pode comprometer a segurança e eficácia desses produtos, e também a garantia da qualidade e confiabilidade do laboratório. As matérias-primas também devem ser consideradas, uma vez que são ótimos meios para o desenvolvimento de bactérias e fungos. Isso posto, constata-se a necessidade do controle da população microbiana nas assim chamadas áreas limpas (González et al., 1990).

O presente trabalho objetiva analisar o nível de contaminação por fungos e bactérias do ambiente interno de três farmácias de manipulação do município de Ijuí/RS.

Material e Métodos

Para a realização da revisão bibliográfica deste estudo foram feitas pesquisas durante o período de janeiro a abril de 2009 na Biblioteca Virtual em Saúde – Bireme, juntamente com as fontes da Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde – Lilacs – Saúde na Adolescência – Adolec – e Scientific Electronic Library Online – SciELO –, nos quais foram encontrados somente sete artigos sobre o assunto “contaminação microbiológica de áreas limpas”, e destes, apenas dois foram utilizados. Para complementar a revisão bibliográfica consultou-se também livros disponíveis na Biblioteca da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí –, assim como artigos de periódicos de circulação nacional.

O estudo foi realizado em três farmácias de manipulação do município de Ijuí/RS, as quais são consideradas modelos de laboratórios nesta cidade. Nelas aplicaram-se placas de petri 100 x 20 mm, contendo meio de cultura Ágar Caseína-Soja (Meio I) e Ágar Sabouraud-dextrose (Meio II), para verificar o número de micro-organismos viáveis (bactérias

e fungos, respectivamente) presentes nos ambientes internos destas farmácias. Todo o material utilizado foi esterilizado em autoclave e os procedimentos foram realizados assepticamente, em capela de fluxo laminar.

Foram esterilizadas e preparadas 34 placas contendo 16 ml de cada meio de cultura, quantidade suficiente para a distribuição nos locais predeterminados nas farmácias, um controle negativo (branco) e um controle positivo. Logo após o preparo das placas, no controle positivo inoculou-se *Staphylococcus aureus* e *Saccharomyces cerevisiae* nas placas contendo Meio I e Meio II, respectivamente, com o auxílio de uma alça de platina, próximo à chama. Então, as placas referentes aos controles positivo e negativo foram levadas à estufa (Farmacopéia Brasileira, 1988). As demais placas foram levadas às farmácias e distribuídas sobre as bancadas da área interna, incluindo a sala de manipulação de líquidos e semisólidos, sala de sólidos, sala de pesagem, sala de controle da qualidade, sala de estudos e no almoxarifado. As placas permaneceram abertas por 60 minutos e, em seguida foram fechadas e levadas para a estufa. As placas contendo meio I foram incubadas por 5 dias

à temperatura de 30°-35° C e as placas contendo meio II permaneceram por 7 dias à temperatura 20°-25° C.

Após o período de incubação realizou-se a contagem a olho nu das colônias crescidas em cada placa e em cada ambiente das diferentes farmácias. Para as colônias de bactérias com aspecto semelhante às de *Staphylococcus aureus* realizou-se a coloração de Gram.

Resultados e Discussão

Os resultados da avaliação microbiológica do ambiente interno das três farmácias de manipulação do município de Ijuí-RS estão demonstrados nas Tabelas 1 e 2.

De acordo com estes resultados pôde-se constatar que todas as salas das farmácias apresentaram contaminação tanto por bactérias quanto por fungos, tornando-se assim possível uma comparação entre os ambientes nos três estabelecimentos.

Tabela 1: Valores de unidades formadoras de colônias para bactérias obtidas nas três diferentes farmácias de manipulação do município de Ijuí-RS

UFC/Bactérias											
Local											
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	E1	E2	F1	F2
Farmácia 1	40	24	14	10	11	24	10	34	38	11	15
Média UFC/Sala	32		12		17,5		10	36		13	
Farmácia 2	17	10	14	17	21	14	12	90	23	14	10
Média UFC/Sala	13,5		15,5		17,5		12	56,5		12	
Farmácia 3	60	23	25	18	17	22	8	21	17	17	8
Média UFC/Sala	41,5		21,5		19,5		8	19		12,5	

A – Sala de líquidos e semisólidos; B – Sala de pesagem; C – Sala de sólidos; D – Sala de estudos; E – Almoxarifado; F – Sala de Controle de Qualidade

Fonte: Tabela construída com dados da pesquisa.

É importante salientar que algumas placas com meio de cultura para crescimento bacteriano desenvolveram colônias com características morfológicas de fungos, assim como algumas placas com meio de cultura para fungos possuíam colônias de bactérias.

Nas placas com o meio de cultura próprio para o crescimento de bactérias observou-se que nas farmácias 1 (32 UFC) e 3 (41,5 UFC) houve uma maior contaminação na sala de manipulação de líquidos e semisólidos em relação à farmácia 2 (13,5 UFC). Este resultado pode estar associado à presença de pessoas manipulando na hora da aplicação das placas, tendo em vista que na farmácia 2 durante o estudo não havia pessoas no laboratório. Segundo Parker e Hodges, (2005), a maior fonte de contaminação microbiana é da equipe que manipula fórmulas, posto que, em geral, são as pessoas que geram as bactérias que são transportadas pelo ar. Cabe ressaltar que esta contaminação pode ter sido também ocasionada pela presença de uma pia para lavagem de vidrarias próximo de uma das placas aplicadas (A1), pois conforme Pinto, Kaneko e Ohara (2000), objetos que contêm água e acúmulo de resíduos favorecem a multiplicação de contaminantes.

Outra sala com maior contaminação bacteriana foi o almoxarifado da farmácia 2 (56,5 UFC) em comparação com as outras duas. Isto provavelmente esteja relacionado com a presença de uma janela neste ambiente, a qual dá acesso à área suja e que permaneceu aberta durante todo o período de aplicação da placa. Ambientes como almoxarifados devem possuir área fresca e com baixa umidade (Brasil, 2007), para não favorecer a contaminação microbiana das matérias-primas. Para tanto é fundamental que essas salas possuam climatizadores e desumidificadores de ar. Observou-se que as três farmácias possuíam esses dois aparelhos e estavam com a umidade em torno de 50%, índice considerado ideal para este local, uma vez que segundo Schneider (2002), os valores da umidade relativa podem variar entre 35%-65%.

Nas salas de pesagem e de manipulação de sólidos (cápsulas) o crescimento bacteriano foi equivalente, observando-se maior contaminação na farmácia 3. Durante a aplicação das placas a maior permanência de pessoas ocorreu na farmácia 3, posto que nas outras não havia trabalho, apenas às vezes entravam rapidamente para realizar alguma atividade.

Os ambientes com menor contaminação por bactérias foram as salas de controle de qualidade e de estudos, nas três farmácias. Cabe salientar que estas salas são utilizadas apenas quando há recebimento de matérias-primas e quando é necessário fazer alguma pesquisa bibliográfica ou algum estudo.

Nas placas com Meio I foram encontradas colônias com características de *Staphylococcus* nas salas de líquidos e semisólidos da farmácia 1, na sala de sólidos da farmácia 2 e nas salas de líquidos, semisólidos, sólidos e de controle de qualidade da farmácia 3. Isto pode estar relacionado com a permanência ou circulação de pessoas nestes locais, dado que a presença de *Staphylococcus* pode ser derivada dos manipuladores (Pinto; Kaneko; Ohara, 2000). Após a realização da coloração de Gram, observou-se que as colônias eram cocos Gram positivos, entretanto não foram realizados testes de confirmação para poder afirmar que seja *S. aureus*, podendo ser outra espécie de *Staphylococcus*. Em estudo realizado por Abreu, Pinto e Oliveira (2003), os autores observaram a presença frequente de *Staphylococcus* sp. nos ambientes analisados, resultado este semelhante ao estudo realizado nestas três farmácias. Em estudo similar publicado por Utescher et al. (2007) em ambientes de produção de vacinas, encontrou-se também uma maior população microbiana de bactérias do gênero *Staphylococcus* e igualmente colônias de fungos. Saliente-se que a maior concentração de micro-organismos ocorreu nos períodos de verão e primavera.

Com relação à contaminação por fungos (Tabela 2), observou-se menor carga fúngica do que bacteriana nas três farmácias.

Tabela 2: Valores de unidades formadoras de colônias para fungos obtidas nas três diferentes farmácias de manipulação do município de Ijuí-RS

	UFC/Fungos										
	Local										
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	E1	E2	F1	F2
Farmácia 1	14	10	8	16	15	5	7	25	4	10	10
Média UFC/Sala	12		12		10		7	14,5		10	
Farmácia 2	9	28	23	20	13	2	8	11	32	20	19
Média UFC/Sala	18,5		16,5		7,5		8	21,5		19,5	
Farmácia 3	40	16	25	40	22	17	10	21	17	17	18
Média UFC/Sala	28		32,5		19,5		10	19		17,5	

A – Sala de líquidos e semisólidos; B – Sala de pesagem; C – Sala de sólidos; D – Sala de estudos; E – Almoarifado; F – Sala de Controle de Qualidade

Fonte: Tabela construída com dados da pesquisa.

Pode-se observar que nas farmácias 1 e 2 a sala com maior crescimento de fungos foi o almoarifado, enquanto que a com menor contaminação foi a sala de estudos, nas três farmácias, o que também foi observado para bactérias. Já na farmácia 3 a sala com maior contaminação foi a de pesagem (32,5 UFC), seguida pela sala de manipulação de líquidos e semisólidos (28 UFC). Confrontando os dados obtidos da contaminação fúngica em relação à por bactérias, pode-se reafirmar que na sala de líquidos e semisólidos a presença constante de pessoas influenciou os resultados. Na sala de pesagem pode-se concluir que além da circulação de pessoas, a presença de um exaustor pode ter ocasionado uma maior contaminação, pois este tem contato indireto com o ambiente externo.

Embora o Meio II seja seletivo para fungos, nas placas contendo este meio, aplicadas na sala de líquidos e semisólidos da farmácia 1, também foram encontradas colônias semelhantes às de *Staphylococcus*. A coloração de Gram confirmou que se tratava de cocos Gram positivos.

Durante a realização do estudo alguns problemas surgiram, como o desenvolvimento de colônias nas placas de controle negativo, tornando-se necessário refazer o teste até a total ausência de contaminantes. Também outra dificuldade encontrada foi a falta de parâmetros para esse tipo de ambiente para possibilitar, assim, uma comparação com os resultados obtidos.

Como as áreas limpas não são áreas estéreis, é esperado que nestes ambientes existam microorganismos contaminantes, no entretanto microorganismos patogênicos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp* e *Pseudomonas aeruginosa* devem estar ausentes.

Conclusão

Com os resultados obtidos deve-se ter uma maior preocupação e cuidado no cumprimento das Boas Práticas de Manipulação, pois se o ar está contaminado, conseqüentemente poderá haver contaminação

dos produtos manipulados, bem como alteração de suas propriedades, e por fim constituir um risco para o usuário.

Referências

- ABREU, C. S. de; PINTO, T. de J. A.; OLIVEIRA, D. C. de. Áreas limpas: estudo de correlação entre partículas viáveis e não-viáveis. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* [online], vol. 39, n. 2, p. 177-184, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S15163322003000200008&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 15 maio 2009.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução – RDC nº 67 de 8 de outubro de 2007*. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/inspecao/farmacias/rdc_67.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2009.
- BRESOLIN, B. M. Z.; DALL’STELLA, J. K.; SILVA, S. E. F. da. Pesquisa sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* na mucosa nasal e mãos de manipuladores de alimentos em Curitiba/Paraná/Brasil. Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR). *Estud. Biolog.*, v. 27, n. 59, abr./jun. 2005. Disponível em: <<http://docs.google.com/gview?a=v&q=cache:IP-gHOdpjsEJ:www2.pucpr.br/reol/index.php/BS%3Fdd1%3D15%26dd99%3Dpdf+Staphylococcus+artigo&hl=pt-BR&gl=br>>. Acesso em: 20 fev. 2009.
- BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, P. G. *Microbiologia para as Ciências da Saúde*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, 289 p.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. Parte I.
- GONZÁLES, M. M. et al. Desenho de um método para a seleção de pontos de amostragem no controle ambiental de áreas limpas. *Revista Brasileira de Farmácia*, vol. 79, p. 11-14, 1990.
- HANLON, Geoff. Fundamentos de microbiologia. In: AULTON, M. *Delineamento de formas farmacêuticas*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 601-624.
- PARKER, Malcolm; HODGES, Norman. Contaminação microbiológica e conservação de produtos farmacêuticos. In: AULTON, M. *Delineamento de formas farmacêuticas*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 659-668.
- PINTO, T. de J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. Contaminação microbiana em produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. In: *Controle microbiológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos*. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 51-73.
- SCHNEIDER, Liane. *Curso garantia da qualidade na farmácia de manipulação*. Porto Alegre: Instituto Magistral, 2002. Apostila.
- TONIN, F. Z.; BARELLI, C.; KNORST, M. T. Avaliação microbiológica de produtos cosméticos manipulados em farmácias do Planalto Médio, RS. *Revista Pharmacia Brasileira*, vol. 19, p. 117-119, 2007.
- UTESCHER, C. L. de A. et al. Microbiological monitoring of clean rooms in development of vaccines. *Braz. J. Microbiol.* [online], vol. 38, n. 4, 2007 [citado 2009-8-15], p. 710-716. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S15173822007000400023&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 15 ago. 2009.