



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CÁPSULAS DE
TETRACICLINA**

YSABEL ARIANNE CORDEIRO FERREIRA LOPES

CUITÉ – PB

2014

YSABEL ARIANNE CORDEIRO FERREIRA LOPES

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CÁPSULAS DE TETRACICLINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité, como requisito obtenção do grau de Bacharelado.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Júlia Beatriz Pereira de Souza

CUITÉ-PB

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

L864a Lopes, Ysabel Arianne Cordeiro Ferreira.

Avaliação da qualidade de cápsulas de tetraciclina. /
Ysabel Arianne Cordeiro Ferreira Lopes. – Cuité: CES, 2014.

67 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro
de Educação e Saúde / UFCG, 2014.

Orientadora: Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza.

1. Tetraciclina. 2. Controle de qualidade. 3. Atividade
antimicrobiana. I. Título.

CDU 615.4

YSABEL ARIANNE CORDEIRO FERREIRA LOPES

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CÁPSULAS DE TETRACICLINAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito à obtenção do grau de Bacharel.

APROVADA EM: 19/ 08 /2014

Prof^a Dr^a Júlia Beatriz Pereira de Souza /UFCG
Orientadora

Prof^a Dr^a Igara Oliveira Lima /UFCG
Examinadora

Prof. Dr. Toshiyuki Nagashima Júnior /UFCG
Examinador

CUITÉ – PB
2014

Dedico aos meus amados pais Antonio Ferreira e Aurea Sylvana. Mãe, seu exemplo de mulher batalhadora e determinada foi que deram, em alguns momentos, a esperança para seguir. Pai, sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinha nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, em especial a minha mãe Aurea Sylvana, pessoa que nunca mediu esforços para que eu conquistasse essa etapa, sempre ao meu lado, incentivando e encorajando a correr atrás do que desejo e nunca deixando de acreditar na minha capacidade, ao meu pai Antonio, que sempre me incentivou.

A minha avó Antônia Ferreira pelo seu carinho, cuidado e a alegria de viver tão empolgante indispensável nas nossas vidas, meus mais lindos agradecimentos.

As minhas primas Yasmin e Yulianne exemplos de dedicação, pessoas maravilhosas que ao longo do tempo, desde a infância fazem parte da minha trajetória de vida.

Aos meus irmãos Antonio e Ysabelle , as minhas sobrinhas Ana Sophia e Alice, meus tios, tias e primos pelo apoio moral e energias positivas transmitidas.

Aos meus amigos de infância (Princesa Isabel) e de hoje (Cuité), representados por Raquel Maia, Erick Marçal e Priscilla Xavier que viram meu crescimento enquanto pessoa, enquanto amiga, enquanto preocupada com minha formação acadêmica, em busca de novas conquistas, novos sonhos.

A minha orientadora Júlia Beatriz por seus ensinamentos, paciência, pelo compromisso com a orientação, e pela oportunidade de poder realizar este trabalho, e aos professores Igara Oliveira e Toshiyuki Nagashima pela participação na banca examinadora.

A minha companheira de convivência Adirliany com quem compartilhei angústias, alegrias, felicidade e tantas outras coisas que uma verdadeira amizade faz. Sempre entendendo meu objetivo, falta de tempo, o cansaço, a necessidade de isolamento que alguns dias exigem, mas nunca deixando de passar seu entusiasmo constante. Obrigada pelo intermitente apoio.

A minha gangue Julia Cristina, Vanessa Domingos, Rafella Moreno e Eriana Marcela, amigas que durante todos esses anos foram capazes de compreender as diferenças, as alegrias, tristezas, as ilusões. Obrigada pelas viagens, farras, momentos inesquecíveis, tão marcantes e momentos de luta, de embate, vocês foram e são únicas, especiais. As minhas melhores companhias. Vocês construíram comigo um sonho que hoje torna realidade.

“A verdadeira sabedoria não acontece enquanto nos consideramos sábios.”
(Hermógenes)

RESUMO

As tetraciclinas são fármacos produzidos por laboratórios farmacêuticos e que se encontram disponíveis no mercado sob várias formas farmacêuticas. O objetivo do presente trabalho foi de avaliar a qualidade destes medicamentos, foram realizados os ensaios físico-químicos de peso médio, desintegração e doseamento físico-químico e microbiológico. Foram analisadas amostras de cápsulas de tetraciclina 500mg. Todos os ensaios para todas as amostras foram procedidos conforme os métodos recomendado pela Farmacopéia Brasileira 2010. Das amostras, todas foram aprovadas. No ensaio de peso médio a massa média da amostra A foi de 0,5323g e para a amostra B a massa media foi de 0,5398g. No teste de desintegração as amostras desintegraram no tempo de 13 minutos para a amostra A e 12 minutos para amostra B. A determinação da potência através do ensaio de difusão em ágar com cilindro empregando *Staphylococcus aureus* como reagente biológico, resultou nas duas amostras potência abaixo do limite especificado de 90 a 125% do valor rotulado, com resultado de 84 e 86%. Estudo comparativo desta metodologia com o método de doseamento por espectrofotometria-ultravioleta (UV) foi realizado. Os resultados para determinação de tetraciclina apresentaram teor de 99,84% para amostra A e 109,56% para a mostra B. Na comparação entre os dois método foi observado resultado satisfatório para o doseamento por escrofotometria-UV, e insatisfatório para o doseamento microbiológico, por apresentar resultado fora dos parâmetros farmacopéicos. A partir destes resultados pode-se concluir então que para os parâmetros de qualidade referentes aos testes físico-químicos de peso médio, desintegração e doseamento por estrofotometria-UV todas as amostras apresentaram-se dentro dos limites de aceitabilidade, para o doseamento por difusão em ágar as amostras apresentaram resultados fora dos limites estabelecidos na farmacopéia.

PALAVRAS-CHAVE: Tetraciclina, Controle de qualidade, Atividade antimicrobiana

ABSTRACT

Tetracyclines are produced by pharmaceutical agents and which are available in the market in various dosage forms. The objective of this study was, assays were performed, physico-chemical medium weight, disintegration e assay physicochemical and microbiological. Were analyzed samples of tetracycline capsules. All assays for all samples were preceded by the methods recommended by the Brazilian Pharmacopoeia (2010). Samples, all were approved. In the assay medium weight average sample weight A was 0.5323g and the sample B media mass was 0.5398g. In the disintegration test samples disintegrated in 13 minutes time for the sample A and 12 minutes for sample B. The determination of power through the agar diffusion assay employing diving *Staphylococcus aureus* as a biological reagent, power resulted in the two samples below the limit specified 90 to 125% the labeled amount, with the result 84 and 86%. Comparative study of this method with the method of determination by spectrophotometry - UV was performed. The results presented for determining the content of tetracycline 99,84% for comp A and 109,56% for comp B. In comparing the two method satisfactory result was observed for dosing by escrofotômetria-UV, and unsatisfactory for the microbiological assay, by presenting results outside the pharmacopoeial parameters. From these results it can be concluded then, that for the physico-chemical quality parameters regarding the tests of average weight, disintegration and spectrophotometric-UV assay for all samples were within the limits of acceptability for the assay by agar diffusion results obtained were outside the limits in pharmacopoeia.

KEYWORDS: Tetracycline, Quality Control, Antimicrobial Activity

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Principais mecanismos de ação antibiótica	21
Figura 1 - Estrutura química das tetraciclinas	26
Figura 2 - Estruturas das principais tetraciclinas usadas na clínica médica e em fase de testes clínicos (PTK-0796)	26
Figura 3 - Aspectos relacionados à relação entre estrutura e atividade para tetraciclinas	28
Figura 4 - Esquema mostrando o mecanismo de ação das tetraciclinas	29
Quadro 2 – Indicações das tetraciclinas	30
Figura 5 - Estrutura química do cloridrato de tetraciclina	32
Figura 6 - Padronização do inóculo	45
Figura 7 - Preparo das soluções e teste de potência antimicrobiana	46
Figura 8 – Doseamento por espectrofotometria ultravioleta visível	47
Figura 9 - Gráfico com resultado do ensaio de determinação de peso médio da amostra A de cápsulas de tetraciclina	49
Figura 10 - Gráfico com resultado do ensaio de determinação de peso médio da amostra B de cápsulas de tetraciclina	49
Figura 11 – Halos de inibição obtidos no ensaio de potência (delineamento 3 x 3) – nas concentrações 150 µg/mL , 300 µg/mL , 600 µg/mL com as amostras A e B	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultado dos testes de peso médio	48
Tabela 2 - Resultado dos testes de desintegração	50
Tabela 3 - Resultado dos testes de doseamento por UV	51
Tabela 4 - Diâmetros dos halos para o ensaio de potência (delineamento 3 x 3) – nas concentrações 150 µg/mL , 300 µg/mL , 600 µg/mL Amostra A	54
Tabela 5 - Diâmetros dos halos para o ensaio de potência (delineamento 3 x 3) – nas concentrações 150 µg/mL , 300 µg/mL , 600 µg/mL Amostra B	55

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>C. difficile</i> -	<i>Clostridium difficile</i>
min. -	Minuto
<i>S. aureus</i> -	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>P. aeruginosa</i> -	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Tet. -	Transmembranares

LISTA DE SIGLAS

ANVISA -	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CV -	Coefficiente de Variação
DEF -	Dicionário de especialização farmacêutica
DNA -	Ácido desoxirribonucleico
DP -	Desvio Padrão
DPR -	Desvio Padrão Relativo
FDA -	Administração Federal de Alimentos e Medicamentos
HPLC-UV -	High-performance liquid chromatography
ISC -	Infecções do Sítio Cirúrgico
ITU -	Infecção do trato urinário
M -	Molar
MRSA -	Methicillin-resistant Staphylococcus aureus
MS -	Ministério da Saúde
N -	Numero das unidades pesadas
PABA -	Ácido para-aminobenzoico
PBPs -	Penicilin-binding -protein
pH -	Potencial de hidrogénio
Pi -	Pesos individuais das unidades
RNA -	Ácido ribonucleico
RNA _m -	Ácido ribonucleico mensageiro
RNA _t -	Ácido ribonucleico transportador
rpm -	Rotação por minuto
SIADH -	Síndrome inadequada do hormônio antidiurético
USP -	The united states pharmacopeia
UTI -	Unidade de Terapia Intensiva
UV -	Ultravioleta visível

LISTA DE SÍMBOLOS

% -	Por cento
Σ -	Somatória
°C -	Grau Celsius
μ L -	Microlitro
50S -	Subunidade do ribossomo
C10 -	Carbono na posição 10
C11 -	Carbono na posição 11
C12 -	Carbono na posição 12
C2 -	Carbono na posição 2
$C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ -	Cloreto de tetraciclina
C4 -	Carbono na posição 4
C6 -	Carbono na posição 6
C7 -	Carbono na posição 7
C8 -	Carbono na posição 8
C9 -	Carbono na posição 9
Ca^{2+} -	Íon de Cálcio
cm -	Centímetro
m/v -	Massa/volume
mg -	Miligrama
Mg -	Magnésio
mL -	Mililitro
nm -	Nanômetro
TM -	Trade Mark, Marca do Produto
B -	Beta
μ g -	Micrograma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 FUDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 Infecção	18
2.1.1 Tipos de infecções comunitárias	18
2.1.2 Tipos de infecções hospitalares	19
2.2 Antibioticoterapia	20
2.2.1 Resistência bacteriana	22
2.3 Tetraciclina	25
2.3.1 Generalidades	25
2.3.1.1 Síntese química e relação entre estrutura e atividade das tetraciclina	27
2.3.2 Farmacologia	29
2.3.2.1 Mecanismo de ação e resistência	29
2.3.2.2 Indicação clínica e aspectos farmacocinéticos	30
2.3.3 Características físico-químicas	32
2.4 Forma farmacêutica cápsulas	32
2.5 Características de qualidade	34
2.5.1 Controle de qualidade de formas farmacêuticas sólidas	35
2.5.1.1 Identificação do princípio ativo	36
2.5.1.2 Determinação de peso médio	37
2.5.1.3 Teste de desintegração	37
2.5.1.4 Doseamento	38
2.5.1.4.1 Método biológico	39
2.5.1.4.2 Método doseamento físico-químico	40
3 OBJETIVOS	41
3.1 Objetivo Geral	41
3.2 Objetivos Específicos	41
4 MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1 Material	42
4.1.1 Amostras	42

4.1.2 Microorganismos teste	42
4.1.3 Reagentes e meios de cultura	42
4.1.4 Equipamentos e acessórios	42
4.2 Métodos	43
4.2.1 Determinação de peso médio	43
4.2.2 Teste de desintegração	44
4.2.3 Teste de potência antimicrobiana	44
4.2.3.1 Preparo de culturas estoques	44
4.2.3.2 Padronização do inóculo	45
4.2.3.3 Preparo da amostra	45
4.2.4 Doseamento por espectrofotometria ultravioleta visível	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Determinação do peso médio	48
5.2 Teste de desintegração	50
5.3 Doseamento por espectrofotometria ultravioleta visível	51
5.4 Doseamento microbiológico	52
6 CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

Os antibióticos fazem parte de uma classe de fármacos fundamentais para a saúde pública, sendo extensivamente comercializados no Brasil. Incluído nesta classificação está o grupo das tetraciclinas, essa classe possuem diversas propriedades favoráveis, tais como, amplo espectro de ação, baixa toxicidade, baixo custo, e podem ser na maioria dos casos, administradas por via oral. Apesar da resistência microbiana e do desenvolvimento de novos antibióticos terem desbancado grande parte das indicações iniciais, ainda são bastante úteis na clínica médica e tem sido usada no tratamento de diversos tipos de infecções. São fármacos de escolha no tratamento de infecções por *Rickettsia*, *Chlamydia pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae*. Indicadas com frequência no tratamento auxiliar da cólera e diarreia, e topicamente no tratamento de acne e rosácea. Além do uso em humanos, tetraciclinas são utilizadas na terapia animal para tratar infecções e promover o crescimento (CHOPRA; ROBERTS, 2001).

Tendo como referência o Dicionário de Especialidades Farmacêuticas (DEF), as preparações farmacêuticas comerciais contendo tetraciclina são produzidas por diversos laboratórios e se apresentam, em sua maioria, na forma de cápsulas, sendo substância ativa única.

Métodos adequados relacionados com a produção, controle, armazenamento e distribuição devem ser inseridos, para que os medicamentos produzam a atividade terapêutica desejável. Nesse contexto, fatos como, falhas do sistema de qualidade na indústria farmacêutica ou fiscalização inadequada dos produtos inseridos no mercado, podem tornar possível o consumo de medicamentos com ação terapêutica comprometida ou totalmente ausente ou que induzam a efeitos nocivos inesperados. Então, baseado no sentido preventivo, é indispensável estabelecer políticas e procedimentos para garantir a qualidade do produto, envolvendo os diversos setores relacionados com a produção. Além da importante atuação do Sistema de Vigilância Sanitária influente e consciente, com ações que demarquem no sentido de uma política nacional de saúde envolvendo os medicamentos (YAMAMOTO 1999).

A escolha da metodologia para a realização do controle de qualidade depende principalmente das condições técnicas disponíveis e da aplicabilidade à determinada fórmula farmacêutica. No que se refere à quantificação do princípio ativo, métodos físico-químicos ou microbiológicos podem ser empregados na determinação de antibióticos, sendo recomendado em compêndios oficiais.

Dessa forma do ponto de vista da Vigilância Sanitária os ensaios realizados atendem ao binômio: eficácia e segurança. Por sua vez são importantes por permitir verificar a correlação da equivalência entre os medicamentos analisados.

Considerando que as preparações farmacêuticas orais sólidas são as formas de administração e apresentação mais utilizadas, a identificação de problemas tendo como ferramenta a avaliação analítica de resultados de testes físico-químicos de peso médio, desintegração e doseamento físico-químico e microbiológico, permite fornecer dados para a execução de programas específicos visando apontar possíveis riscos sanitários.

Os resultados dos ensaios realizados irão nortear as ações fiscalizadoras dando subsídios para dirimir dúvidas quanto à qualidade mínima desses produtos em relação à ocorrência de falta de eficácia terapêutica ou efeito tóxico.

Portanto, mais do que informar sobre identidade, atividade, teor, pureza, eficácia e inocuidade os ensaios são uma ferramenta que possibilita a verificação de possíveis correlações *in vivo* – *in vitro*, detectar desvios de fabricação, verificar a uniformidade durante a produção do lote, reprodutibilidade lote a lote e minimiza o risco de falta de bioequivalência entre lotes (BRANDÃO, 2006). Assim o presente estudo teve como objetivo verificar a qualidade de cápsulas de tetraciclinas disponíveis para comercialização.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Infecção

O Ministério da Saúde (MS), por meio da Portaria MS 2.616/98, define dois tipos de infecções: infecções comunitárias e hospitalares.

Infecção comunitária é aquela que já está presente ou em período de incubação no momento de entrada do paciente num hospital, desde que não esteja relacionada com uma internação anterior no mesmo hospital. Diferentemente da infecção comunitária, a infecção hospitalar é aquela adquirida dentro de um ambiente hospitalar, isto é, após a admissão do paciente e cuja manifestação ocorreu durante a internação ou após a alta, podendo ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares (BRASIL, 1998).

2.1.1 Tipos de infecções comunitárias

As infecções respiratórias estão entre as principais causas de consultas médicas, ademais de estar entre as três primeiras causas de morte entre crianças de cinco anos, motivo pelo qual é considerado um problema de saúde pública. (CASTELLO et al., 2008).

A faringoamigdalite aguda apresenta diversos agentes etiológicos. Embora, a maioria seja de origem viral (Influenza A e B, Adenovírus, Rinovírus, Coronavírus, Enterovírus, dentre outros), várias bactérias (*Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Yersinia enterocolitica*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Corynebacterium ulcerans*, *Treponema pallidum*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, dentre outras) também podem ser o agente causal da faringoamigdalite. O agente bacteriano presente em mais de 15% das faringoamigdalites é o *Streptococcus pyogenes*. A conduta terapêutica depende da etiologia da síndrome (MATOS et al., 2006).

A infecção do trato urinário (ITU) está entre as mais comuns doenças infecciosas diagnosticadas, perdendo em frequência somente para as infecções respiratórias. É uma patologia frequente que ocorre em todas as idades (MACEDO et al., 2005). A ITU pode se caracterizar em infecção do trato urinário “baixo” (cistite) caracterizada por presença de bactérias na bexiga; “alto” (pielonefrite aguda) oriundo de um processo inflamatório agudo nas estruturas renais; bacteriúria de baixa contagem reflexo de uma ITU precoce ou diluição da urina em virtude da alta ingestão de líquidos (HEILBERG; SCHOR, 2003).

As infecções cutâneas são bastante presentes na comunidade e comumente relacionados à quebra da barreira de proteção da pele, deixando oportunidade para os microrganismos habituais da pele se desenvolver de forma patogênica. (GELATTI et al., 2009).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria que está intimamente relacionada às afecções cutâneas, uma vez que é frequentemente encontrada na pele de pessoas saudáveis. No entanto, a colonização assintomática é muito mais frequente que a infecção clínica. Cerca de 25 a 50% da população saudável em geral apresenta colonização por este microrganismo com alto índice entre os profissionais de saúde (BREZZO et al., 2006).

Responsável por infecções simples como espinhas e furúnculos e por infecções de maiores repercussões (pneumonias, meningites, septicemias e outras). Esta bactéria é um dos agentes etiológicos de maior significância nas infecções cutâneas comunitárias devido a sua grande capacidade de resistência aos agentes antimicrobianos e de adaptação ao ambiente (SANTOS et.al, 2007).

2.1.2 Tipos de infecções hospitalares

Normalmente os sítios de infecção hospitalar mais atingidos são o trato urinário, trato respiratório, infecção da corrente sanguínea e infecções de sítio cirúrgico (GOERING et al., 1999).

As infecções urinárias são aquelas que ocorrem com maior frequência no ambiente hospitalar, devido à necessidade de instrumentação no trato urinário, tanto para diagnóstico quanto para drenagem de urina (MENEZES et al., 2005).

A multiplicação dos microrganismos deve-se às técnicas de assepsia incorreta, utilização indiscriminado e abusivo de cateteres, traumatismo durante e após o processo. O tempo da permanência do cateter no paciente, aliado ao fato de estar continuamente aberto, possibilita a migração bacteriana no seu interior, pelo fluxo contrário da urina (BRASIL, 2000).

A pneumonia hospitalar está associada com as maiores taxas de mortalidade quando comparada às outras infecções hospitalares. Quando ela ocorre até o quarto dia, é considerada precoce, quando tem início a partir do quinto dia, é considerada tardia; essa classificação é muito importante para diferenciar o agente etiológico e para decidir a terapêutica a ser aplicada (CARRILHO et al., 2004).

As principais causas estão relacionadas à pacientes submetidos à intubação traqueal e a ventilação mecânica. Uma das consequências importantes da pneumonia hospitalar é o aumento do tempo de internação, tanto em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) como em enfermarias (BRASIL, 2000).

Os principais microrganismos responsáveis pela pneumonia hospitalar são: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella spp* e *Enterobacter spp* (BRASIL, 2000).

Infecções do Sítio Cirúrgico (ISC) – É uma das principais infecções relacionadas à assistência da saúde no Brasil, ocupando a terceira posição entre todas as infecções (BRASIL, 2009).

As ISC ocorrem no procedimento da incisão cirúrgica, devido ao rompimento da barreira epitelial, desencadeando várias reações sistêmicas e facilitando a ocorrência de infecções. No campo operatório, ocorre hipóxia, alteração do pH e deposição de fibrina, destacando o local da incisão cirúrgica em relação à ocorrência de hiperemia, calor, rubor, deiscência, presença de secreção purulenta no local da incisão (OLIVEIRA; CARVALHO, 2007).

Os microrganismos mais frequentes de ISC são os comuns da pele do paciente: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e outros *Staphylococcus coagulase-negativa*. Em cirurgias abdominais, predomina as enterobactérias e *Enterococcus sp*. Em pacientes com queimadura, o *S. aureus* é o mais comum, seguido da *Pseudomonas aeruginosa*. A ocorrência de bactérias Gram-negativas e *Enterococcus sp*. aumenta com o tempo de internação (VRANJAC, 2005).

As principais fontes de transmissão de infecção do paciente no centro cirúrgico são: o próprio paciente, os funcionários do centro cirúrgico, o ambiente e os equipamentos (OLIVEIRA; CARVALHO, 2007).

2.2 Antibioticoterapia

Antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias. Podem ser classificados como bactericidas, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (WALSH, 2003).

Os antibióticos de origem natural e seus derivados semissintéticos compreendem a maioria dos antibióticos em uso clínico e podem ser classificados em β -lactâmicos

(penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas, oxapeninas e monobactamas), tetraciclina, aminoglicosídeos, macrolídeos, peptídicos cíclicos (glicopeptídeos, lipopeptídeos), estreptograminas, entre outros (lincosamidas, cloranfenicol, rifamicinas). Os antibióticos de origem sintética são classificados em sulfonamidas, fluoroquinolonas e oxazolidinonas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Os principais mecanismos de ação antibiótica destes agentes terapêuticos estão listados no Quadro 1.

Em contato com os vários tecidos do corpo, não devem influenciar a função do órgão ou tecidos bem como não ter efeitos danosos, devem ter bom gosto, ser estáveis, solubilidade livre, baixa de excreção e ter ótima difusão. Todos estes fatores levaram a novos estudos sobre o modo de ação dos antibióticos (SERRA, 2002).

A descoberta dos antibióticos e sua evolução na humanidade foram fatos que marcaram a história da ciência, principalmente da saúde trazendo consigo muitos benefícios que vão desde a cura de simples infecções até o prolongamento da expectativa de vida das pessoas ao longo de muitos anos. Ao longo da evolução da humanidade, foram relatadas várias tentativas do uso de substâncias e materiais com a finalidade de secar lesões supurativas, curar febres, melhorar as dores entre outras situações, porém a medicina naquela época era meramente observacional, ou seja, a clínica era o único e o mais importante recurso diagnóstico que existia (TEXEIRA, 2012).

Quadro 1 - Principais mecanismos de ação antibiótica

Antibióticos	Alvo	Mecanismo de Ação
β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas, monobactamas)	Enzima Transpeptidase	Inibição da formação de ligação cruzada entre cadeias de peptidoglicano, impedindo a formação correta da parede celular bacteriana.
β -lactâmicos (oxapeninas, sulfoxapeninas)	Enzima β -lactamase	Inibição da enzima de resistência bacteriana, que degrada antibióticos β -lactâmicos.
Macrolídeos, lincosamidas, estreptograminas (dalfopristina e quinupristina), cloranfenicol, oxazolidinonas (linezolida)	Subunidade ribossômica 50S	Inibição da síntese proteica bacteriana.

Quadro 1 - Principais mecanismos de ação antibiótica (continuação)

Aminoglicosídeos, tetraciclina	Subunidade ribossômica 30S	Inibição da síntese proteica bacteriana.
Glicopeptídeos (vancomicina, teicoplanina)	Dipeptídeo terminal D-Ala-D-Ala do peptideoglicano	Complexação com as cadeias peptídicas não ligadas e bloqueio da transpeptidação, impedindo a formação correta da parede celular bacteriana.
Peptídeos não ribossomais (bacitracina, gramicidina C, polimixina B)	Membrana plasmática	Afetam permeabilidade da membrana bacteriana por facilitarem o movimento descontrolado de íons através da membrana.
Lipodepsipeptídeos (daptomicina)	Membrana plasmática	Afeta permeabilidade da membrana bacteriana e bloqueia síntese de ácido pipoteicoico, componente da membrana externa de bactérias Gram positivo.
Rifampicina	RNA polimerase dependente de DNA	Inibição da síntese de RNA.
Fluoroquinolonas.	Enzima DNA girase	Bloqueio da replicação e reparo do DNA.
Sulfonamidas	Enzima di-hidropteroato sintetase.	Bloqueio da formação de cofatores do ácido fólico, importantes para síntese de ácidos nucleicos.

Adaptado de Walsh (2003)

2.2.2 Resistência bacteriana

Segundo Silveira et. al. (2006) o surgimento de bactérias resistentes a antibióticos pode ser considerado como uma manifestação natural controlada pelo princípio evolutivo da adaptação genética de organismos as mudanças ao ambiente em que habitam. Ainda de acordo com este autor o fato do tempo de duplicação das bactérias ser apenas de 20 minutos, facilita a produção de muitas gerações em apenas algumas horas, e como consequência inúmeras oportunidades para uma adaptação evolutiva. De acordo com Guimarães; Momesso; Pupo (2010) a resistência pode ser considerada um fenômeno ecológico que ocorre como resposta da bactéria frente ao amplo uso de antibióticos e sua presença no meio ambiente.

Desde a sua introdução como drogas, agentes quimioterápicos antimicrobianos, incluindo os antibióticos, alguns agentes sintéticos naturais e alguns semi-sintéticos, e outros, como as sulfonamidas e as quinolonas, têm desempenhado um papel fundamental, junto com medidas preventivas, como vacinação, diminuição da morbidade e mortalidade por doenças

infecciosas. No entanto, a utilização generalizada, mau uso e abuso de antibióticos, não só no tratamento e prevenção de infecções bacterianas em seres humanos, mas também em medicina veterinária, como promotores de crescimento na produção animal e agrícola, exerceu uma pressão de seleção imensa para o surgimento e disseminação de mecanismos de resistência entre diferentes populações bacterianas (GARCIA, 2001).

O fenômeno da resistência bacteriana a diversos antibióticos e agentes quimioterápicos impõe sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas, representando uma ameaça para a saúde pública. Esta resistência prolifera-se rapidamente através de transferência genética, atingindo algumas das principais bactérias Gram-positivas, como enterococos, estafilococos e estreptococos (SILVEIRA et al. 2006). Para Kadosaki et al. (2012) o antibiótico deveria ser prescrito de forma racional, com base em um diagnóstico concreto e não baseado apenas em dados epidemiológicos de determinados agentes etiológicos responsáveis por certas infecções. Porém, o consumo desnecessário e excessivo sem esta cuidadosa avaliação torna mais propício o desenvolvimento desta resistência, tornando-se um problema sério no tratamento das doenças infecciosas.

Segundo Silveira et al. (2006) menciona que para elucidar melhor a resistência bacteriana devem-se ressaltar alguns mecanismos descritos para microrganismos, aqueles mais importantes em bactérias gram-positivas que podem ser classificados em três diferentes grupos:

- a) destruição do antibiótico (resistência a dalfopristina e penicilinas), enzimas aceleram a degradação do antibiótico ou modificam grupos funcionais com funções farmacológicas importantes, criando funções inativas para o reconhecimento molecular;
- b) efluxo contínuo do antibiótico (resistência a tetraciclinas e fluoroquinolonas), onde genes mutantes aumentam a expressão proteínas transportadoras de membrana, fazendo com que a retirada do antibiótico para o meio extracelular seja mais rápida que sua difusão pela membrana bacteriana, tornando uma concentração inadequada para atuar como bloqueador de funções celulares;
- c) reprogramação e modificação da estrutura-alvo (resistência à eritromicina e vancomicina), alvos macromoleculares do antibiótico, como ribossomos, proteínas que constituem a parede celular, são modificados geneticamente por genes que os expressam, prejudicando o reconhecimento do fármaco pelo alvo diminuindo sua potência.

Acredita-se que a resistência bacteriana é bem mais complexa do que se pensava e ocorre com frequência razoável. Bactérias importantes, tais como *Streptococcus pneumoniae*,

Haemophylus influenzae, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus sp*, *Shigella sp*, *Salmonella sp* e *Vibrio cholerae* apresentam cepas resistentes aos mais modernos e promissores antibióticos (GURGEL e CARVALHO, 2008).

No mundo inteiro, surgem a cada momento relatos de resistência de patógenos importantes aos mais variados tipos de antibióticos, sendo o grande responsável pela disseminação dos genes de resistência e por consequência de microrganismos resistentes, o próprio homem seja pela atitude inconsequente ou pela falta de conhecimento, o uso irracional de antimicrobianos tem aumentado, mesmo com a divulgação e campanhas a respeito do fato (FIOL et al., 2010).

Para tentar minimizar este agravante, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA em uso das atribuições que lhe conferem, regulamentou o uso de antimicrobianos através da criação de uma RDC (RESOLUÇÃO – RDC N° 20, de 5 de maio de 2011) que “dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição, isoladas ou em associação”, e ainda no seu capítulo I Art. 1° esclarece:

Esta resolução estabelece os critérios para a prescrição, dispensação, controle, embalagem e rotulagem de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos de uso sob prescrição, isoladas ou em associação, conforme Anexo I desta Resolução (ANVISA, 2011).

Portanto, segundo Kadosaki et al. (2012) a utilização de antimicrobianos assim como a resistência bacteriana entre diversos patógenos causadores de inúmeras infecções é mundialmente reconhecida como um problema de grande relevância, desta forma fez-se necessário demonstrar através de estudos o quanto é importante a determinação de cada patógeno frente a cada antimicrobiano, colaborando para o uso racional de antibióticos, na expectativa de, ao menos reduzir o aumento acelerado nos índices de resistência de microrganismos.

2.3 Tetraciclinas

2.3.1 Generalidades

Como resultado de uma intensa busca de antibióticos em amostras de solo, Benjamin Duggar descobriu, em 1948, a partir de um cultivo de *Streptomyces aureofaciens*, a primeira tetraciclina, a clortetraciclina (aureomicina). Posteriormente, a partir de uma modificação desta se obteve a demecliciclina (terramicina). Dois anos depois (1950) Finlay e outros isolaram de um cultivo de *Streptomyces rimosus*, a oxitetraciclina e mais adiante (1953) Minieri e outros obtiveram a tetraciclina base a partir de cepas de *Streptomyces alboniger* o *texasi*. Estas tetraciclinas naturais, obtidas a partir de cepas de *Streptomyces*, são as tetraciclinas de primeira geração. Uma serie de compostos semissintéticos, obtidos a partir dos anteriores, tem maior lipossolubilidade e meia-vida, assim como melhor absorção intestinal, estas são classificadas como tetraciclinas de segunda geração. Entre as quais se encontram a doxiciclina e a minociclina. Por último, os mais recentes e potentes componentes desta família, as glicilciclinas, são consideradas as tetraciclinas de terceira geração (GARCÍA; DÍAZ; BRUGUERAS, 2003).

Em 2005, o composto denominado tigeciclina (tygacilTM), uma glicilciclina derivada da minociclina, que possui um grupo glicilamido na posição C9, foi aprovado para uso clínico pela Food and Drug Administration – FDA (Administração Federal de Alimentos e Medicamentos) e, recentemente, o composto denominado PTK-0796, um derivado semissintético da minociclina, tem chamado a atenção, pois entrou em fase I de testes clínicos (PEREIRA-MAIA; SILVA; ALMEIDA, 2010).

As tetraciclinas constituem um grande grupo de antibióticos com estrutura básica e atividades comuns. O cloridrato de tetraciclina é uma desses antibióticos e muitas vezes é apenas chamado de tetraciclina. Enquanto a clortetraciclina e a oxitetraciclina são sintetizadas pelo *Streptomyces aureofaciens* e *Streptomyces rimosus*, respectivamente, a tetraciclina é um antibiótico semi-sintético, produzido a partir da clortetraciclina, A doxiciclina e minociclina são também derivados semi-sintéticos (MAMANI, 2007).

As fórmulas estruturais de algumas tetraciclinas estão representadas nas Figuras 1 e 2:

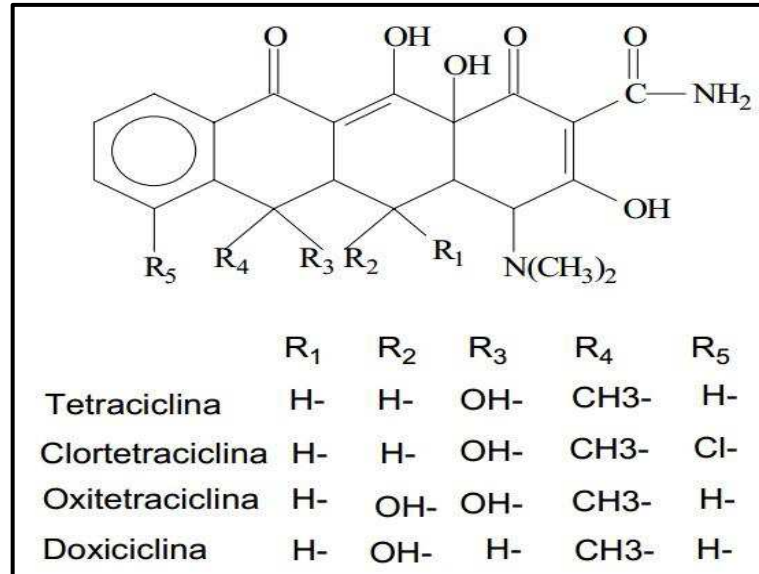


Figura 1 – Estrutura química das tetraciclina. Fonte: Mamani (2007)

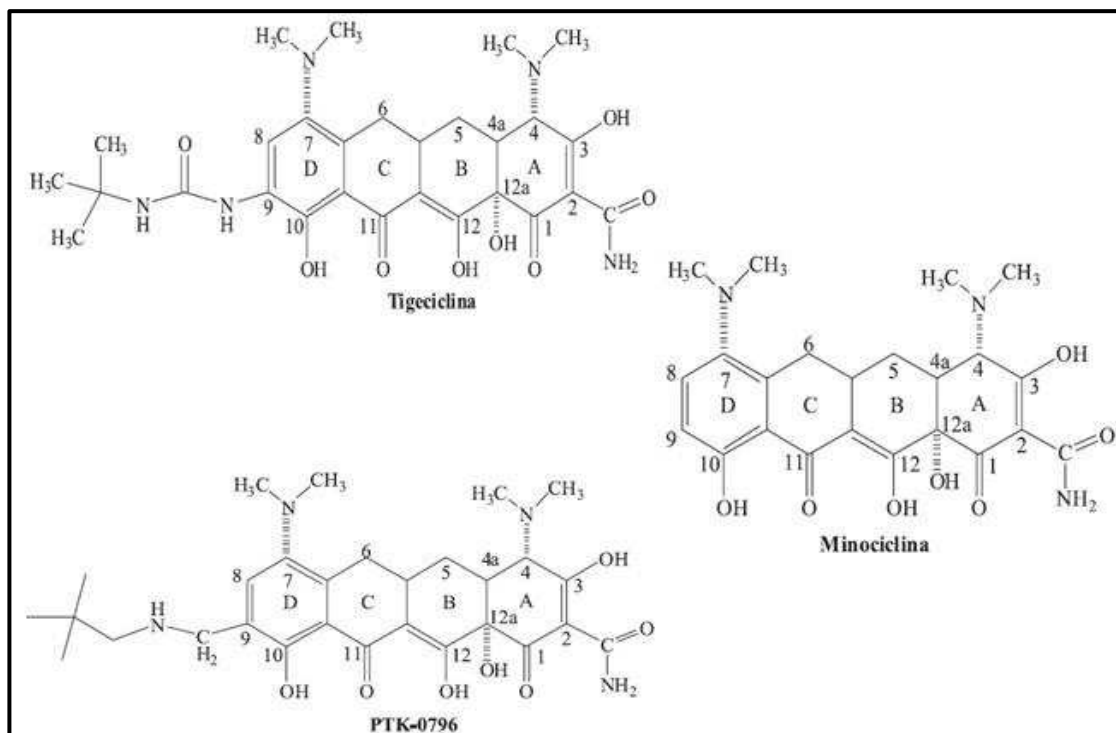


Figura 2 - Estruturas das principais tetraciclina usadas na clínica médica e em fase de testes clínicos (PTK-0796). Fonte: Pereira-Maia (2010)

As tetraciclina são um grande grupo de fármacos com estrutura química básica, atividade antimicrobiana e propriedades farmacológicas comuns. Os microorganismos resistentes a este grupo mostra resistência cruzada ampla a todas as tetraciclina. Embora

possam ser estabelecidas diferenças específicas (origem, estrutura química) sua característica geral, como mecanismo de ação, espectro, e outros, pode descrevê-las como um único grupo (RODRÍGUEZ et al., 1998). Segundo Delaissé et al. (2000) além do efeito antibacteriano, tais fármacos possuem propriedades anti-inflamatória e imunossupressoras, uma vez que reduz a atividade fagocitária dos leucócitos polimorfonucleares e a quimiotaxia de neutrófilos e leucócitos. Apresentam, ainda, ação anti-colagenase e anti-lipase, favorecendo o reparo do tecido conjuntivo, que é clinicamente traduzido pelo aumento da resistência à sondagem.

2.3.1.1 Síntese química e relação entre estrutura e atividade das tetraciclinas

De acordo com Yamamoto (1999) a tetraciclina foi obtida inicialmente por via fermentativa, sendo a clortetraciclina produzida pelo *Streptomyces aureofaciens*. A tetraciclina é produzida por espécies de *Streptomyces* inoculada em meio nutriente adequado e por via semi-sintética através da remoção do cloro da clortetraciclina por hidrogenação. A oxitetraciclina é produzida entre outras cepas, *Streptomyces rimosus* em meio nutriente adequado. A doxiciclina é obtida através da hidrogenação catalítica de uma suspensão ou dissolução de outro derivado, a metaciclina, em solvente inerte, como metanol, seguido de hidrogenação sobre a influência de metais nobres (ródio e paládio), o que conduz inicialmente a uma mistura de epímeros posteriormente separados por processo cromatográfico.

De acordo com as conclusões obtidas por Colaizzi et al. (1965 apud PEREIRA-MAIA; SILVA; ALMEIDA, 2010) a configuração absoluta natural do átomo de carbono C4 (Figura 3) é requisito essencial para a ação farmacológica desses compostos. A presença do grupamento amida em C2 foi também considerada como aspecto estrutural necessário para a ação biológica das tetraciclinas. Outra observação importante relacionada ao aumento da potência inibitória enzimática foi a ausência dos grupos metila e hidroxila na posição C6.

Atualmente, novos aspectos que versam sobre a relação estrutura e atividade têm surgido. Incluindo glicilciclinas, sabe-se que a manutenção do núcleo tetracíclico (anéis A, B, C e D), a influência dos substituintes nas posições C7, C8 e C9, a conservação do sistema ceto-enólico (posições C11, C12 e C12a) e a configuração nas posições 4a e 12a são essenciais para a manutenção da atividade farmacológica das tetraciclinas e, neste aspecto, a estrutura da 6-desoxi-6-desmetiltetraciclina pode ser considerada uma estrutura mínima para a manutenção da atividade farmacológica das tetraciclinas (PEREIRA-MAIA; SILVA; ALMEIDA, 2010).

A tigeciclina, um derivado semissintético da minociclina, que contém o grupo N,N-dimetilglicilamido na posição C9, apresenta ótima atividade antibacteriana contra bactérias resistentes às primeiras tetraciclina. Mais recentemente, pesquisadores da *Paratek Pharmaceuticals* anunciaram a entrada do composto intitulado PTK-0796 em fase I de testes clínicos. Este composto contém o grupo dimetil-propil-amino na posição C9 da minociclina e também tem apresentado amplo espectro de atividade antibacteriana (ZHANEL et al., 2004; SHLAES, 2006 apud PEREIRA-MAIA; SILVA; ALMEIDA, 2010). Com estes resultados, novas relações entre estrutura e atividade têm surgido, indicando que a substituição na posição C9 das tetraciclina, principalmente da minociclina, é bastante promissora na obtenção de novos antibióticos da família das tetraciclina (PEREIRA-MAIA; SILVA; ALMEIDA, 2010). A Figura 3 mostra os principais aspectos da relação estrutura x atividade.

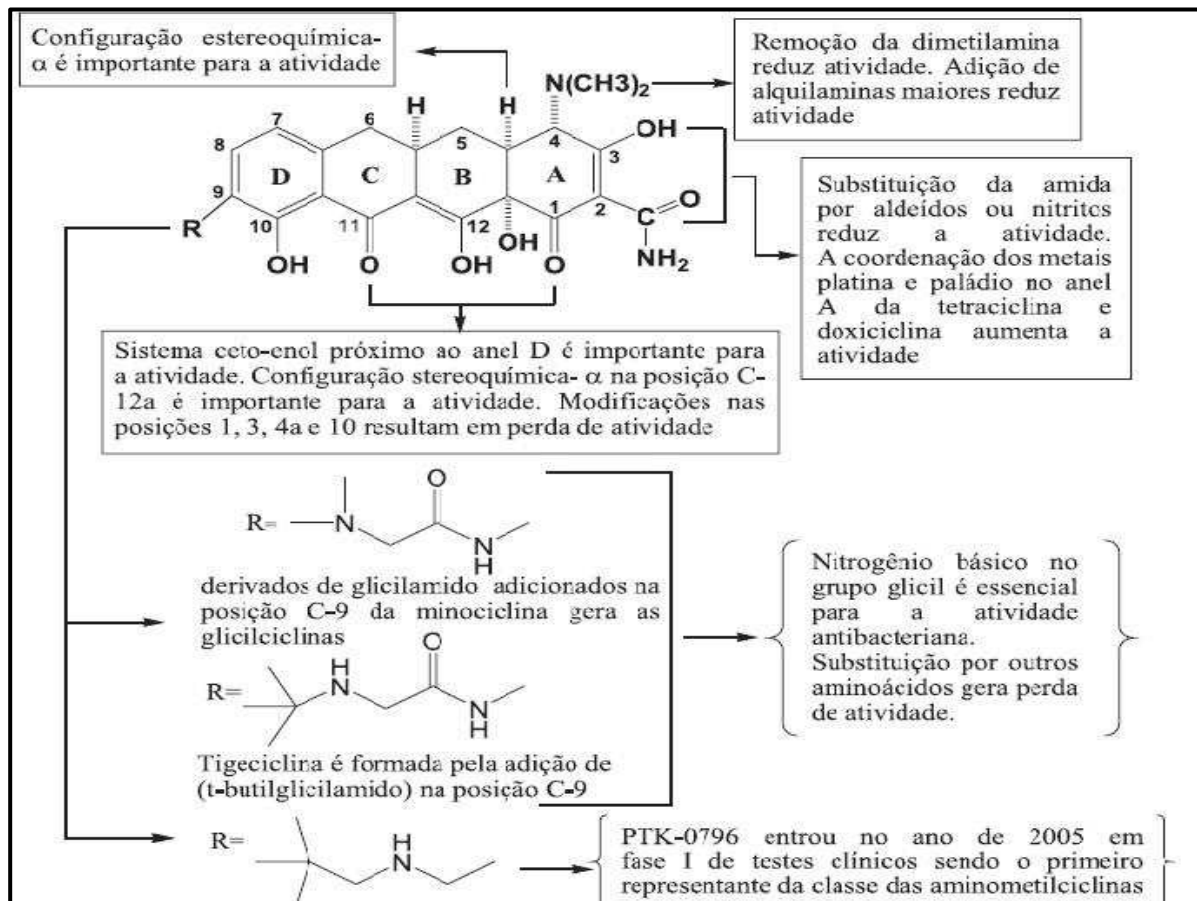


Figura 3 - Aspectos relacionados à relação entre estrutura e atividade para tetraciclina. Fonte: Pereira-Maia (2010).

2.3.2 Farmacologia

As tetraciclina são antibióticos de largo espectro. Este grupo inclui a **tetraciclina**, a **oxatetraciclina**, a **democlociclina**, a **limeciclina**, a **doxiciclina** e a **minociclina** (RANG et al, 2007, grifo do autor).

2.3.2.1 Mecanismo de ação e resistência

As tetraciclina são consideradas bacteriostáticas, e não bactericidas, pois elas inibem a síntese de proteínas através da ligação com a subunidade 30S dos ribossomos, impedindo a ligação do aminoacil-tRNA. Como resultado, a adição de novos aminoácidos para o aumento da cadeia proteica é bloqueada. A liberação de proteínas também é inibida. A seletividade frente aos ribossomos bacterianos em relação aos ribossomos de eucariotos deve-se a diferenças estruturais nos ribossomos e também à concentração seletiva do antibiótico nas células bacterianas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). A Figura 4 apresenta um esquema do mecanismo da ação antibacteriana das tetraciclina.

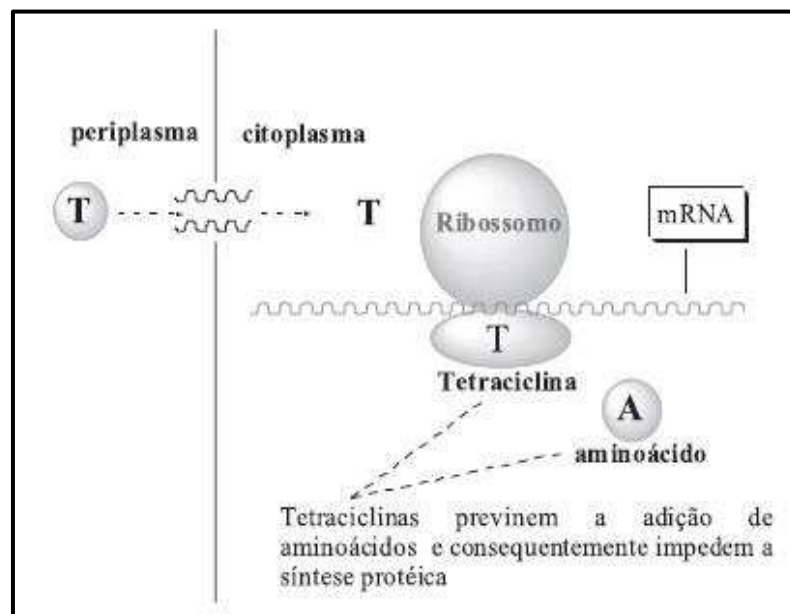


Figura 4 - Esquema mostrando o mecanismo de ação das tetraciclina.
Fonte: Pereira-Maia (2010).

A emergência da resistência às tetraciclina tem limitado seu uso no tratamento de infecções bacterianas em humanos. Diferentes mecanismos de resistência às tetraciclina

foram identificados e dois destes mecanismos com significado clínico serão discutidos: o efluxo do medicamento e a proteção ribossomal. No mecanismo por efluxo, comumente encontrado em bactérias Gram-negativas, há uma diminuição do acesso das tetraciclinas ao ribossomo por redução da concentração intracelular do antibiótico a um nível bem abaixo do necessário para a sua atividade. Neste mecanismo, proteínas transmembranares (Tet A) exportam tetraciclinas para fora da célula, provocando uma menor concentração da droga dentro das células bacterianas. A Tet A acopla o transporte de uma molécula de tetraciclina, na forma de um complexo de Mg(II), [TcMg]⁺, de dentro para fora das células à entrada de um próton. Com relação ao mecanismo por proteção ribossomal, proteínas citoplasmáticas protegem o ribossomo da ação das tetraciclinas e a síntese proteica prossegue normalmente. Em bactérias sensíveis, as tetraciclinas ligam-se ao ribossomo e mudam sua conformação padrão interrompendo a síntese proteica (PEREIRA-MAIA; SILVA; ALMEIDA, 2010).

2.3.2.2 Indicação clínica e aspectos farmacocinéticos

A resistência microbiana e a chegada de outros antibióticos como quinolonas fluoradas, azitromicina, entre outros, tem desbancado grande parte das indicações iniciais das tetraciclinas. Contudo, seguem sendo eficazes em um grande número de infecções (PÉREZ-TRALLERO; IGLESIAS, 2003). O quadro 2 indica as principais indicações das tetraciclinas.

Quadro 2 – Indicações das tetraciclinas

Principais Indicações	Outras indicações menos comuns	Uso potencial
Infecções respiratórias causadas por <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Tularemia	Outras doenças de pele
Periodontites	SIADH (demeclociclina)	Infecções causadas por protozoários
Doença de Lyme (estágios 1 e 2)	MRSA (minociclina e tigeciclina)	Artrite reumatoide
Brucelose	Bartonelose	Doenças não infecciosas do cérebro
Malária, diarreia de viajantes, cólera e leptospirose (prevenção e tratamento)	Sífilis	Doenças cardiovasculares
Conjuntivite e tracoma causados por <i>Chlamydia trachomatis</i>	Carbúnculo (antraz maligno)	Câncer
Psitacose devido a <i>Chlamydia psittaci</i>	Orquiepididimite	

Febre maculosa, febre tifoide, febre Q e outras rickettsias causados por <i>Rickettsiae</i> Acne Rosácea Linfogranuloma venéreo, uretrite não-gonocócica e granuloma inguinal	Gastrite causada por <i>Helicobacter pylori</i> (tetraciclina em conjunto com citrato de bismuto coloidal e metronidazol)	
--	---	--

Adaptado de Pereira-Maia (2010)

As tetraciclinas são administradas geralmente por via oral, porém podem também ser administradas parenteralmente. A absorção da maioria das preparações é pelo intestino e varia de 60-80% sendo o restante eliminado pelas fezes e urina, é irregular e incompleta, porém pode ser melhorada na ausência de alimentos. Como as tetraciclinas são quelantes dos íons metálicos (cálcio, magnésio, ferro, alumínio), devido ao fato de na sua estrutura química existir um grande número de possíveis locais de ligação, formam com grande facilidade, complexos metálicos não-absorvíveis, a absorção está diminuída na presença de leite, certos antiácidos e preparações com ferro. A minociclina e a doxiciclina são virtualmente completamente absorvida (BUTH, 2009; RANG et al., 2007). A meia-vida normal da tetraciclina é de 6 a 11 horas, sendo que as concentrações terapêuticas podem ser alcançadas após 2 a 3 dias (HORBYLON, 2008).

Os efeitos adversos mais comuns são os distúrbios gastrintestinais causados inicialmente por irritação direta e mais tardiamente por modificações da flora intestinal. Pode ocorrer deficiência de vitamina do complexo B, bem como superinfecção. Como elas quelam o Ca^{2+} (íon cálcio), as tetraciclinas são depositadas nos ossos e nos dentes em crescimento, causando manchas e, às vezes, hipoplasia dentária e deformidades ósseas. Elas, portanto, não devem ser administradas a crianças, mulheres grávidas ou mães em período de amamentação. Outro risco para as mulheres grávidas é a hepatotoxicidade. A fototoxicidade (sensibilização à luz solar) também já foi vista, particularmente com a demeclociclina. A minociclina pode produzir distúrbios vestibulares (tonturas e náuseas) relacionados à dose. Altas doses das tetraciclinas podem diminuir a síntese protéica nas células hospedeiras – efeito antianabólico que pode resultar em lesão renal. O tratamento a longo prazo pode causar alterações na medula óssea (RANG et al., 2007).

2.3.3 Características físico-químicas

As tetraciclina livres são substância anfóteras cristalinas de baixa solubilidade. Quando disponíveis na forma de cloridrato são mais solúveis. Estas soluções são ácidas e bastante estáveis (TAVARES, 1986 apud BUTH, 2009). O Cloridrato de tetraciclina tem como fórmula molecular $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$, estrutura química representada na figura 5, o seu peso molecular é 480,90. Apresenta potência de, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 125,0% de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$, em relação à substância dessecada. A tetraciclina é um pó cristalino amarelo e inodoro. É moderadamente higroscópico e estável quando em contato com ar. No entanto, quando exposta a luz intensa e umidade, ocorre o escurecimento do pó. Em pH abaixo ou em soluções de hidróxidos alcalinos, a tetraciclina é rapidamente degradada. O pH da solução a 1% esta entre 1,8 a 2,8. Para a solução injetável reconstituída a especificação do pH é de 2 a 3 (YAMAMOTO,1999; BRASIL, 2010).

Menos solúvel em água que a oxitetraciclina, 1g do cloridrato de tetraciclina dissolve em 10 mL desta e em cerca de 100 mL de álcool. A solução aquosa se turva quando em repouso por determinado tempo, devido à formação da tetraciclina base por hidrólise. É praticamente insolúvel em éter e clorofórmio. Muito pouco solúvel em acetona e solúvel em metanol (YAMAMOTO, 1999).

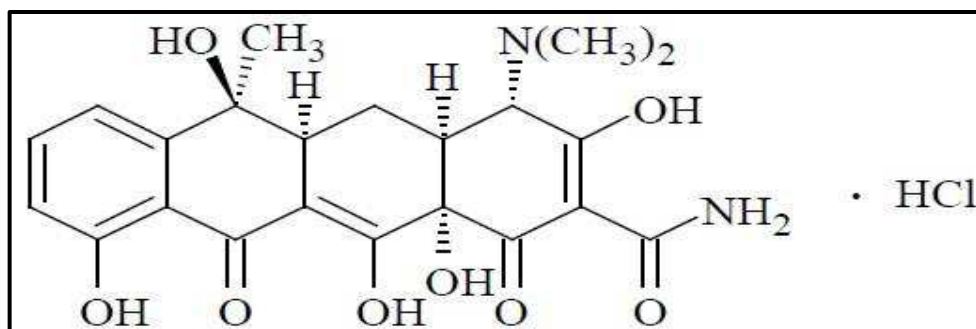


Figura 5 – Estrutura química do cloridrato de tetraciclina. Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010).

2.4 Forma Farmacêutica Cápsulas

Formas farmacêuticas são sistemas especialmente desenvolvidos para a veiculação de fármacos, sendo estas de fundamental importância para o sucesso da terapêutica, viabilizando

a administração de medicamentos pelas diversas vias existentes no organismo, dentre elas destaca-se a via oral (ANSEL; ALLEN; POPOVICH, 2007).

De acordo com a ANVISA (2007) o conceito para cápsula é, forma farmacêutica sólida na qual o princípio ativo e/ou os excipientes estão contidos em um invólucro solúvel duro ou mole, de formatos e tamanhos variados, usualmente contendo uma dose única do princípio ativo. Normalmente é formada de gelatina, mas pode também ser de amido ou de outras substâncias.

A maioria das formas farmacêuticas sólidas produzidas em escala oficial é constituída por cápsulas de gelatina dura. O destaque das capsulas de gelatina dura entre as formas farmacêuticas sólidas é justificado pelas, suas vantagens, tanto de produção como para o paciente, salientando-se: a boa proteção ao fármaco, mascaramento de más características organolépticas, fácil identificação pelo paciente através da utilização de cores variadas e o fato de apresentarem relativamente poucos problemas de formulação, pois requerem um numero reduzido de adjuvantes, além de boa biodisponibilidade da substância ativa, se comparada a outras formas farmacêuticas solidas (CARVALHO, 1976; FAHRIG; HOFER, 1983).

As cápsulas duras oferecem uma forma de dosagem individualizada, que pode ser facilmente preparada na farmácia. Uma vez que a quantidade de fármaco contida nas capsulas é exata, essa forma farmacêutica é especialmente empregada para a administração de fármacos de elevada potência biológica (THOMPSON, 2006).

Como formas de liberação imediata, o comportamento das cápsulas após a deglutição deve permitir a rápida liberação do fármaco. Neste caso, considera-se relevante a escolha correta dos excipientes em função de suas características físico-químicas e compatibilidade com o fármaco (FERREIRA, 2008).

Industrialmente, os fármacos são veículos sob a forma de cápsulas quando particularidades relacionadas à compactação do pó e elevada concentração impedem que estes sejam produzidos sob a forma de comprimidos. Por outro lado é necessário considerar que as cápsulas, a exemplo de qualquer forma farmacêutica sólida, podem apresentar problemas de biodisponibilidade, dado que a liberação do fármaco e sua conseqüente dissolução e absorção devem ocorrer de modo satisfatório, para tal, a formulação deve ser a mais adequada possível assim como o seu método de preparo (PETRY et al., 1998; HOSTETLER, 2001; SINGH et al., 2002).

Segundo Petry et al. (1998) vários são os fatores capazes de influenciar a biodisponibilidade de um fármaco. Entre os fatores tecnológicos e de formulação destacam-se

as características da substância ativa, a forma farmacêutica propriamente dita, a tecnologia de preparação, e a composição quantitativa e qualitativa dos adjuvantes presentes na preparação. A literatura registra que os adjuvantes utilizados numa formulação, em função de suas características físico-químicas podem afetar significativamente a cedência da substância ativa.

A formulação de cápsulas constitui-se, portanto, numa etapa fundamental em virtude de suas implicações para o aproveitamento do fármaco pelo organismo do paciente e a técnica do preparo deve ser adequada, de forma que o medicamento produzido esteja conforme as especificações desejadas, contribuindo para um tratamento eficaz (FERREIRA, 2008).

2.5 Características de Qualidade

Segundo a Farmacopéia Brasileira (2010) controle de qualidade é o conjunto de medidas destinadas a garantir, a qualquer momento, a produção de lotes de medicamentos e demais produtos, que satisfaçam às normas de identidade, atividade, teor, pureza, eficácia e inocuidade.

Na aquisição de medicamentos, é desejável que estes tenham, antes de tudo, qualidade. Existem, pelo menos, duas dimensões para a qualidade desejada. A primeira diz respeito a questões hoje plenamente reconhecidas e valorizadas, graças à crescente atuação dos epidemiologistas e farmacologistas clínicos, como eficácia, efetividade e adequabilidade ao perfil nosológico do serviço de saúde ou da população a que se pretende atender. Estas exigências devem ser previamente resolvidas por um bom processo de seleção e padronização. A segunda dimensão aqui focalizada trata do estabelecimento do grau de exigência de qualidade pretendido e do que pode ser efetivamente feito durante o processo de aquisição para garanti-lo (JOHNSON & BOOTMAN, 1994).

O que se espera de um medicamento (fármaco mais excipientes ou veículos) é que ele tenha, no momento do uso, preservada sua ação farmacológica e que a toxicidade da formulação mantenha-se em níveis aceitáveis, conforme o determinado pelos testes que precedem sua comercialização. Tanto os princípios ativos como os veículos ou excipientes podem contribuir para situações desejáveis ou indesejáveis na terapêutica. Considere-se, ainda, que a estabilidade da formulação dependa tanto do fármaco *per se*, quanto da mistura de excipientes ou veículos utilizados, assim como da interação entre ambos face às condições às quais estão submetidos. Essas condições podem se dividir em intrínsecas e extrínsecas. As primeiras, de responsabilidade do fabricante, estão relacionadas à qualidade da matéria prima,

do processo produtivo e do material de embalagem. As condições extrínsecas correspondem principalmente a fatores ambientais como luminosidade, temperatura e umidade (DEFELIPE, 1985).

A estabilidade física se expressa pela integridade da formulação farmacêutica. São exemplos de perda de estabilidade física o amolecimento de cápsulas gelatinosas, o esfarelamento de comprimidos, a formação de *caking* (formação de depósito endurecido) nas suspensões, a quebra de emulsões, etc. A perda da integridade lesa as características biofarmacêuticas, levando a um inevitável comprometimento de eventos, como a liberação e a absorção do princípio ativo. A estabilidade química é perdida com a degradação dos componentes, o que significa sempre a formação de produtos de decomposição diferentes dos originais. Disto podem decorrer dois problemas. O primeiro é a perda do efeito farmacológico, dado que a concentração do princípio ativo se distanciará da faixa terapêutica. O outro é que, algumas vezes, o produto de decomposição tem uma toxicidade própria, vindo a comprometer o efeito benéfico desejado. Finalmente, a perda da estabilidade microbiológica pode significar tanto a contaminação por microrganismos além nos níveis admitidos para uma determinada forma farmacêutica quanto a perda da atividade biológica de um produto (LUIZA; OSORIO-DE-CASTRO; NUNES, 1999).

Com o avanço da tecnologia, produzem-se cada vez mais fármacos com estreitas margens terapêuticas, o que exige procedimentos técnicos sofisticados, e, ainda assim, insuficientes para avaliar a qualidade e estimar sua ação farmacológica. De qualquer modo, é possível arbitrar até que ponto pretende-se exigir garantias de qualidade com a inclusão de procedimentos que privilegiem desde a inspeção macroscópica e identificação até a realização de análises para determinação de uniformidade e teor percentual, de testes físico-químicos, de ensaios de bioequivalência (LUIZA; OSORIO-DE-CASTRO; NUNES, 1999).

2.5.1 Controle de qualidade de formas farmacêuticas sólidas

Do ponto de vista farmacêutico, as formas sólidas são mais estáveis que suas contrapartidas líquidas e, assim são as preferidas para os fármacos pouco estáveis. A fabricação industrial em grande escala diminui o custo, assim como a facilidade na embalagem, estocagem e distribuição (HIR A. LE, 1997).

Na fabricação dos comprimidos e cápsulas geralmente são adicionados, além da substância ativa, excipientes inertes para melhorar a aparência física das formulações, facilitar seu manuseio, melhorar a estabilidade e ajudar a desintegração após a administração. Embora

inertes muitas vezes, esses ingredientes influenciam as características de liberação da substância ativa da sua matriz. Consequentemente deve ser tomado cuidado especial na seleção e avaliação desses excipientes e na tecnologia de fabricação para assegurar que a disponibilidade fisiológica e a eficácia terapêutica da substância ativa não sejam diminuídas. Os fármacos devem ser liberados da forma farmacêutica na quantidade apropriada e de modo que o início e a duração de sua ação sejam os desejados (STORPIRTIS; OLIVEIRA; RODRIGUES; MARANHO, 1999).

Em alguns casos, as propriedades físico-químicas da substância ativa tais como: solubilidade, o tamanho das partículas, polimorfismo, higroscopicidade, presença de impurezas, influenciam sua disponibilidade fisiológica. (CÁRCAMO, 1981; ANSEL; ALLEN; POPOVICH, 2007) Assim é de grande importância para a eficácia de um produto que as características inerentes ao fármaco, a presença de excipientes que favoreçam ou dificultem a dissolução e as técnicas de fabricação empregadas sejam bem desenvolvidas, estabelecidas e controladas. (GIBALDI, 1991; ANSEL; ALLEN; POPOVICH, 2007) Estes fatores devem ser vastamente estudados durante o desenvolvimento farmacotécnico do produto. Um controle adequado durante o processo de fabricação do medicamento seguindo as boas práticas de fabricação deve reduzir ao mínimo a variação entre doses unitárias no lote e entre os lotes (BRANDÃO, 2006).

Na produção de cápsulas devem ser cumpridas as especificações exigidas nas farmacopéias, que estabelecem limites mínimos de aceitabilidade e ensaios que devem ser realizados para garantir a qualidade das mesmas (GIANOTTO, 2008).

2.5.1.1 Identificação do princípio ativo

De acordo com a Farmacopéia Brasileira (2010) os ensaios de identificação possibilitam verificar, com um nível de certeza aceitável, que a identidade do material sob exame está de acordo com o rótulo de sua embalagem. Embora específicos, eles não são, necessariamente, suficientes para estabelecer prova absoluta de identidade. Entretanto, o não cumprimento dos requerimentos de um ensaio de identificação pode significar erro de rotulagem do material. Outros testes e especificações na monografia contribuem para a confirmação da identidade do artigo sob exame.

Alguns ensaios de identificação devem ser considerados conclusivos como; infravermelho; espectrofotometria com absorção específica e cromatografia a líquido de alta

eficiência acoplada a espectrofotometria. Esses ensaios devem ser realizados em complemento ao ensaio do contra íon, quando aplicável (BRASIL, 2010).

Considerando que o fármaco é o princípio ativo do medicamento, sua identificação é um quesito básico para eficácia e segurança do produto. Outrossim, há ainda o risco de adulteração de matérias-primas excipientes por outras de menor custo que, embora de características semelhantes, poderão acarretar em problemas potenciais de formulação (GIL; MATIAS; ORLANDO, 2010).

2.5.1.2 Determinação de peso médio

O teste de determinação de peso médio segundo a Farmacopéia Brasileira (2010) se aplica a formas farmacêuticas sólidas em dose unitária (comprimidos não revestidos, comprimidos revestidos, pastilhas, cápsulas duras e moles e supositórios), formas farmacêuticas sólidas acondicionadas em recipientes para dose unitária (pós estéreis, pós liofilizados, pós para injetáveis e pós para reconstituição de uso oral) e a formas farmacêuticas sólidas e semissólidas acondicionadas em recipientes para doses múltiplas (granulados, pós, géis, cremes, pomadas e pós para reconstituição). As pesagens são feitas em balanças de sensibilidade adequada. Para produtos em dose unitária, o teste permite verificar se as unidades de um mesmo lote apresentam uniformidade de peso. Para realizar o teste, é necessário determinar, previamente, o peso médio de unidades do lote.

2.5.1.3 Teste de desintegração

Testes de desintegração para comprimidos e cápsulas, de acordo com a Farmacopéia Brasileira (2010) permite verificar se comprimidos e cápsulas se desintegram dentro do limite de tempo especificado, quando seis unidades do lote são submetidas à ação de aparelhagem específica sob condições experimentais descritas.

O teste se aplica a comprimidos não revestidos, revestidos com filme ou com revestimento açucarado (drágeas), comprimidos com revestimento entérico, comprimidos sublinguais, comprimidos solúveis, comprimidos dispersíveis, cápsulas duras e cápsulas moles. Pode ser aplicado a comprimidos mastigáveis, nesse caso as condições e critérios de avaliação constarão na monografia individual. O teste não se aplica a pastilhas e comprimidos

ou cápsulas de liberação controlada (prolongada). A desintegração é definida, para os fins desse teste, como o estado no qual nenhum resíduo das unidades testadas (cápsulas ou comprimidos) permanece na tela metálica do aparelho de desintegração, salvo fragmentos insolúveis de revestimento de comprimidos ou invólucros de cápsulas. Consideram-se, também, como desintegradas as unidades que durante o teste se transformam em massa pastosa, desde que não apresentem núcleo palpável (BRASIL, 2010).

2.5.1.4 Doseamento

Os ensaios de potência ou doseamento são aqueles que visam quantificar o teor de substância ativa em medicamentos. Nessa perspectiva, a crescente demanda por matéria-prima de composição química definida, com elevado grau de pureza e qualidade tem levado as indústrias de transformação a implantar e/ou implementar as análises qualitativas e quantitativas com o intuito de garantir que as matérias-primas atinjam certas especificações e que o produto final tenha qualidade adequada para fins de comercialização. No que se refere às análises quantitativas, estas são utilizadas como o objetivo de estabelecer a concentração dos componentes essenciais presentes em uma determinada amostra. Esse processo é chamado de doseamento (GIL; MATIAS, 2010).

No que diz respeito, à determinação do teor, dependendo do fármaco e forma farmacêutica, podem existir diferentes métodos válidos oficiais ou não. Número este que se diversifica com o desenvolvimento da química analítica e do arsenal terapêutico. Com relação aos métodos oficiais, existem diferenças quanto à metodologia, as quais estão atreladas à realidade econômica de cada país. Entretanto, sem exceção, as multinacionais farmacêuticas adotam os métodos cromatográficos como oficiais de doseamento, especialmente de produtos acabados. Destacando-se a Farmacopéia Americana que indica método HPLC-UV para o doseamento da grande maioria de suas monografias. Outras farmacopeias são mais diversificadas, apresentando métodos de doseamento alternativo, tais como volumetria em meio não aquoso, titulações potenciométricas, espectrometria no UV-visível entre outros (GIL; MATIAS, 2010).

2.5.1.4.1 Método biológico

Um ensaio microbiológico é definido como um procedimento prático no qual a potência desconhecida de um material é estimada por comparação de seus efeitos em um sistema biológico (que neste caso se trata de uma cultura de microrganismos) com aqueles do padrão de referência, cuja potência é conhecida (HEWITT, 2007).

O principal uso do doseamento microbiológico é na determinação da potência de substâncias inibidoras de crescimento (principalmente antibióticos) e de compostos promotores de crescimento (aminoácidos e vitaminas). Existem duas principais técnicas: o ensaio de difusão em ágar e ensaio de tubo (HEWITT, 2007).

O método de difusão em ágar depende da difusão do antibiótico através de uma camada de ágar solidificado em uma extensão tal que o microrganismo seja totalmente inibido em uma área ou zona ao redor do reservatório contendo solução do antibiótico. Neste ensaio, correlaciona-se o tamanho da zona de inibição com a dose da substância ensaiada. Este é o método mais amplamente utilizado para a determinação de potência de antibiótico. O método de difusão emprega meio de cultura sólido inoculado, distribuído em placa, em sistema de mono ou bicamada, através do qual a substância teste se difunde. A solução teste é aplicada sobre a superfície deste meio, em uma área restrita, e as placas são então incubadas (LOURENÇO, 2006): Dessa forma a cepa bacteriana semeada cresce até encontrar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a partir do ponto de aplicação se forma um halo de inibição ao redor do cilindro. Esse halo é determinado em milímetros e é diretamente proporcional a concentração do antimicrobiano. Assim, à medida que se aumenta a concentração do antimicrobiano são obtidos halos maiores até que se esgote a capacidade de difusão do antimicrobiano no ágar. Nesse ponto, o aumento da concentração do antimicrobiano não mais aumenta o halo de inibição (KONEMAN et al., 2001).

Já o método ensaio de tubo ou turbidimétrico depende da inibição de crescimento de uma cultura microbiana em solução uniforme do antibiótico em meio líquido, ao qual deve ser favorável ao crescimento microbiano rápido quando da ausência de antibiótico. Este método considera a relação entre a proporção de crescimento de uma população microbiana no meio líquido e a concentração da substância ensaiada, sendo mais utilizado para dosagem de vitamina e aminoácido (LOURENÇO, 2006).

A característica dos reativos biológicos é a sua variabilidade. Enquanto os reativos físico-químicos podem ser definidos e padronizados para fornecerem resultados idênticos em todos os laboratórios, é impossível definir totalmente os reagentes biológicos, apesar dos

esforços de entidades internacionais neste sentido. Essa variabilidade inerente aos reativos biológicos tornam imprescindível: a) o emprego de padrões de referência adequado para se obter potências relativas e b) o emprego de métodos estáticos para delineamentos experimentais e análise dos resultados (BRASIL, 2010).

2.5.1.4.2 Método de doseamento físico-químico

Por definição, os ensaios de qualidade englobam ensaios físicos ou físico-químicos que não são aplicados à análises de identidade, pureza ou potência. Os ensaios físicos, por sua vez, são geralmente, aplicados a produtos acabados, e estão associados de modo direto ou indireto, a um ou mais dos seguintes aspectos:

- a) estabilidade física;
- b) uniformidade;
- c) biodisponibilidade.

A conformidade com as especificações de qualidade, para esses ensaios de desempenho físico, é importante para garantir a eficácia terapêutica e prazo de validade das diversas formas medicamentosas ou cosmética (GIL; MACHADO, 2010).

Formas farmacêuticas sólidas, como comprimidos, cápsulas, pós e granulados, requerem variados ensaios de qualidade físicos oficiais, bem como, na maioria dos casos, de ensaios complementares não-oficiais. Entre os ensaios oficiais destacam-se ensaios de resistência mecânica, uniformidade e biodisponibilidade *in vitro*. Os ensaios relacionados com resistência mecânica, tais como dureza e friabilidade, visam avaliar ou estimar estabilidade física de comprimidos; já ensaios como tempo de desintegração e tempo de dissolução, são ensaios *in vitro* que servem como parâmetro de biodisponibilidade para comprimidos, drágeas, cápsulas e supositório, e, finalmente, ensaios associados à uniformidade, tais como peso médio e individual de unidades de dose individual ou múltiplas, servem para assegurar aspectos posológicos. Já entre os ensaios de qualidade não-oficiais relacionados com as formas sólidas, destacam-se dimensões de formas obtidas por compressão, adesividade de cápsulas, cor, sujidade, entre outros ensaios empregados no controle de processo ou da qualidade física de produtos acabados (GIL; MACHADO, 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a qualidade de cápsulas de tetraciclina disponíveis para comercialização.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar os testes físico-químicos de peso médio, desintegração, doseamento;
- Comparar os resultados de doseamento pelos métodos físico-químico e microbiológico;
- Avaliar o resultado dos testes segundo parâmetros farmacopéicos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Amostras

Foram adquiridos, comercialmente, cápsulas e o pó padrão, conforme a descrição a seguir:

- A** – Cápsula dura contendo 500 mg de cloridrato de tetraciclina, medicamento genérico, obtido na farmácia básica;
- B** – Cápsula dura contendo 500 mg de cloridrato de tetraciclina, medicamento similar, obtido em farmácia comercial;
- P** – Pó padrão, Tetraciclina, obtido em farmácia de manipulação;

4.1.2. Microorganismos teste

- *Staphylococcus aureus*;

4.1.3 Substâncias e meios de cultura

- Ágar Caseína – soja, USP, BD;
- Tampão peptona cloreto de sódio pH = 7,0;
- Cloreto de Sódio 0,9%;
- Polissorbato de sódio 80 (Tween 80);
- Água destilada.

4.1.4. Equipamentos e acessórios

- Balança analítica Marte, mod AY220;
- Balança semi-analítica, Bel Engineering, Mark;
- Espectrofotômetro Visível Digital Microprocessado, Quimis;
- Estufa de secagem e esterilização, Biopar;
- Estufa Bacteriológica, Qualxtron;
- Autoclave Vertical, Phoenix;

- Pipetas automáticas, Digipet;
- Contador digital;
- Bico de Bunsen;
- Banho-maria Termostático, Hydrasan;
- Vidrarias diversas (placas de Petri, erlenmeyers, béqueres, bastões de vidro, tubos de ensaio, pipeta graduada);
- Ponteiras;
- Alça platinada;
- Pissetas com álcool a 70%.

4.2 Métodos

4.2.1 Determinação de peso médio

A determinação de peso médio das cápsulas foi realizada conforme Farmacopéia Brasileira v.1 5ª ed. (2010).

- Mediu-se a massa de 20 unidades de cápsulas individualmente, de cada amostra;
- Removeu-se o conteúdo de cada uma, limpou adequadamente, com uma haste contendo um algodão na sua extremidade e em seguida pesou novamente;
- Determinou-se a massa do conteúdo de cada cápsula pela diferença de peso entre a cápsula cheia e capsula vazia;
- Com os valores obtidos, foi determinado o peso médio de cada conteúdo, a partir do calculo:

$$\text{Peso médio} = (\sum \text{Pi})/\text{N}$$

Onde: **Pi**: pesos individuais das unidades **N**: número de unidades pesadas.

4.2.2 Teste de desintegração

O teste de desintegração das amostras foi realizado conforme Farmacopéia Brasileira v.1 5^a ed. (2010).

- Utilizou seis unidades de cada amostra no teste, colocando uma unidade em cada um dos seis tubos da cesta;
- Acionou o aparelho, sem adicionar os discos, utilizando ácido clorídrico 0,1 *M* mantido a 37 ± 1 °C como líquido de imersão, por 60 minutos;
- Cessou o movimento da cesta e analisou as cápsulas. Observando se nenhuma unidade apresentou qualquer sinal de desintegração, rachadura ou amolecimento, que possibilite o extravasamento do seu conteúdo;
- Em seguida, colocou em cada tubo um disco e acionou o aparelho, utilizando solução tampão fosfato pH 6,8 mantido a 37 ± 1 °C como líquido de imersão;
- Aguardou 45 minutos, cessou o movimento da cesta e observou o material em cada um dos tubos;

4.2.3 Teste de potência antimicrobiana

O teste de potência antimicrobiana foi realizado conforme Farmacopéia Brasileira v.1 5^a ed. (2010).

4.2.3.1 Preparo de culturas estoques

Seguindo as instruções especificadas no rótulo preparou os meios de cultura, esterilizando-os em autoclave a 121°C por 15 min. Em seguida distribuiu os meios em tubos e os inclinou, a fim de se obter meio inclinado para o repique das cepas padrão que serviram para a execução do teste.

- O volume de 2 mL da suspensão padronizada foi empregado como inóculo para porções de 100 mL de meio de cultura estéril.

4.2.3.2 Padronização do inóculo

A partir de culturas estoques, as bactérias *Staphylococcus aureus* foram transferidas com auxílio de alça platinada para meio inclinado de ágar caseína-soja. Incubou estas culturas por 12 a 24 horas a 36 °C. Após este período de incubação adicionou ao meio 1 mL de salina a 0,9 % e homogeneizou levemente. Realizou diluições seriadas da suspensão até encontrar com auxílio do espectrofotômetro no comprimento de onda 580 nm, a diluição de 25% de transmitância.

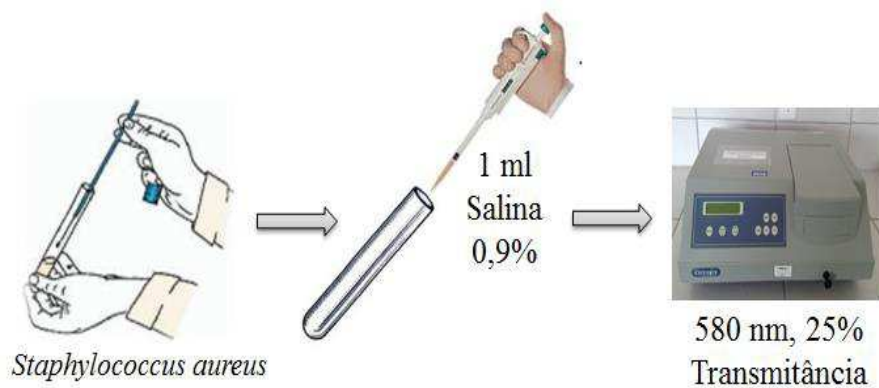


Figura 6 – Padronização do inóculo

4.2.3.3 Preparo da amostra

Foram ensaiadas em triplicata amostras contendo cloridrato de tetraciclina nas seguintes apresentações:

P – Padrão (Pó cristalino de Cloridrato de tetraciclina);

A – Medicamento genérico Cloridrato de Tetraciclina 500 mg;

B – Medicamento Similar, 500 mg;

- Para o doseamento microbiológico, o padrão e as amostras foram transferidos, cerca de 0,2 g do padrão; 0,213 g da amostra A e 0,216 g da amostra B para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de ácido clorídrico 0,01 M.

- Agitou-se e completou-se o volume com solução com o mesmo solvente, em seguida, foi diluído sucessivamente, até concentrações de 150 µg/mL , 300 µg/mL e 600 µg/mL , utilizando água estéril.

- Em seguida, de cada solução foram retirados 200 μ L, e colocados em seis cilindros de aço inoxidável dispostos em uma placa de petri preenchida com uma camada base contendo, 20 mL meio, e uma camada com, 5 mL deste mesmo meio semeada com 2% do inóculo.
- As placas foram incubadas na temperatura 37 °C, durante um período de 16 a 18 horas.
- Foi medido o diâmetro dos halos de inibição empregando dispositivo adequado para medida, o paquímetro;

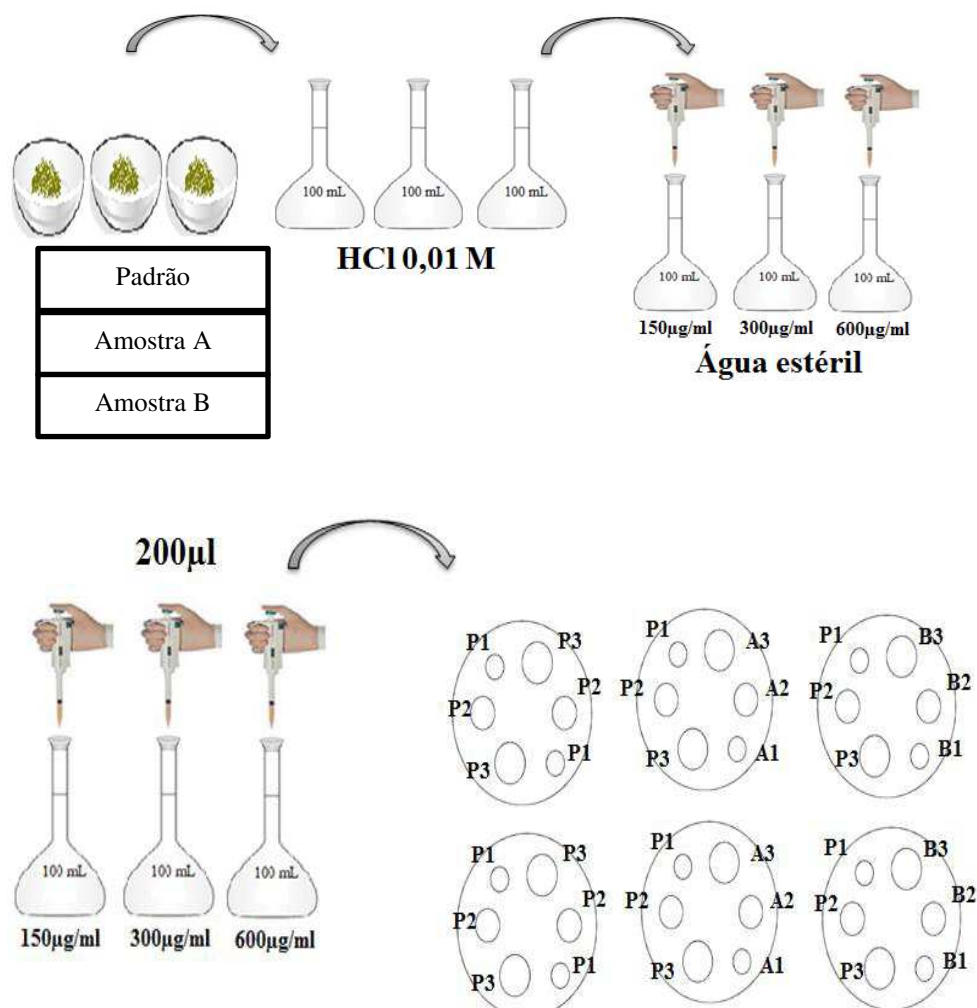


Figura 7 – Preparo das soluções e teste de potência antimicrobiana

4.2.4 Doseamento por espectrofotometria ultravioleta visível

O doseamento por espectrofotometria de absorção no ultravioleta foi realizado conforme Farmacopéia Brasileira v.1 5ª ed. (2010).

- A partir dos dados do peso médio, transferiu-se uma quantidade do pó equivalente a 50 mg de cloridrato de tetraciclina para balão volumétrico de 100 mL utilizando 80 mL de ácido clorídrico 0,01 M;
- Agitou por 15 minutos, completou-se o volume com o mesmo solvente;
- Preparou-se a solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente;
- Transferiu-se 3mL das soluções amostra e padrão para balões volumétricos de 100 mL . Completou-se o volume com hidróxido de sódio 0,25 M;
- Homogeneizou-se e deixou em repouso por 6 minutos;
- Realizou-se a preparação do branco, em paralelo, nas mesmas condições, omitindo-se a adição de soluções amostra e padrão.
- Mediu-se as absorbâncias das soluções em 380nm, utilizando-se a preparação do branco para ajuste do zero;
- Calculou-se a quantidade de $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ nas cápsulas a partir das leituras obtidas.

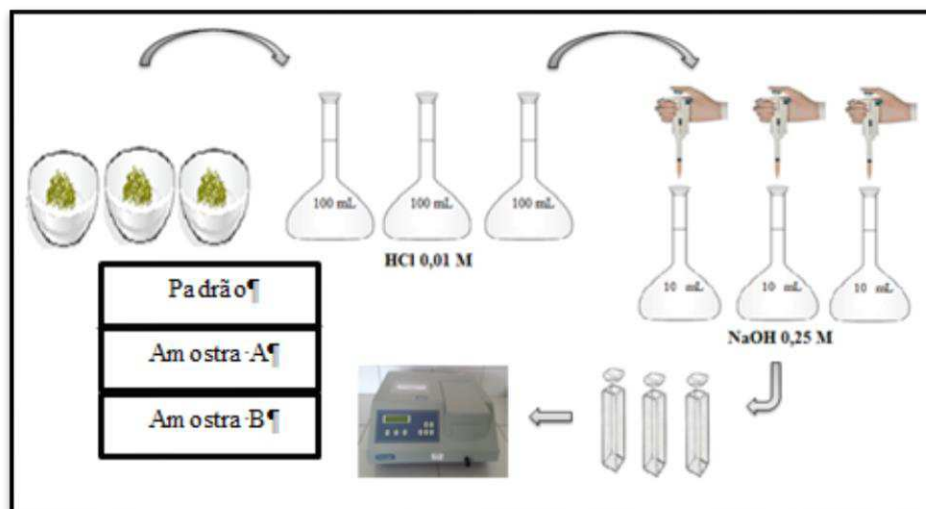


Figura 8 – Doseamento por espectrofotometria ultravioleta visível

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação de peso médio

A determinação de peso médio visa a informar a homogeneidade por unidade do lote e constitui-se numa ferramenta essencial para o controle de qualidade, podendo indicar a ineficiência do processo de pesagem e enchimento (PALUDETTI, 2005).

Tabela 1 - Resultado dos testes de Peso Médio

Ensaio peso médio	Amostra	
	A	B
Massa Média (g)	0,5323	0,5398
DPR (%)	4,03	2,39
Resultado	Aprovado	Aprovado

Fonte: dados da pesquisa.

Segundo a RE 899/03, o desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), é a expressão da precisão do método. Representa a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Foi obtida a fórmula:

$$\text{DPR} = \frac{\text{DP}}{\text{Peso Médio}} \times 100$$

Em que, DP é o desvio padrão.

De acordo com a metodologia utilizada, o desvio padrão aceitável para cápsulas é de no máximo 6%. Todas as amostras se mantiveram dentro deste limite.

As figuras 6 e 7 apresentam o comportamento das amostras A e B. de cápsulas de Cloridrato de tetraciclina 500mg, dentro dos limites de aceitação para as mesmas.

Segundo a Farmacopeia Brasileira, a variação de peso aceitável para cápsula de gelatina dura, contendo massa superior a 300 mg, é de $\pm 7,5\%$, não sendo permitidas mais do que duas unidades fora dos limites especificados e nenhuma unidade acima ou

abaixo do dobro das porcentagens indicadas nos limites de variação. Assim as amostras A e B cumpriram com o teste.

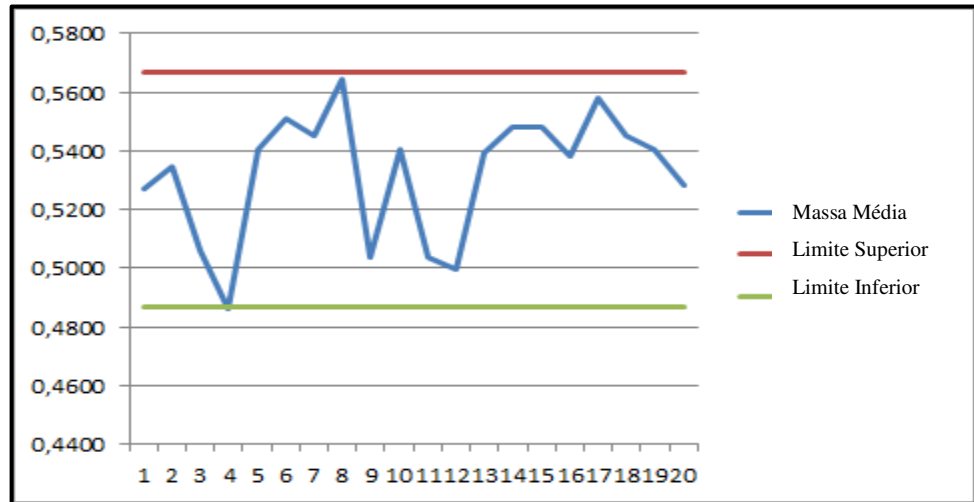


Figura 9 - Gráfico com resultado do ensaio de determinação de peso médio da amostra A de cápsulas de tetraciclina. Fonte: dados da pesquisa

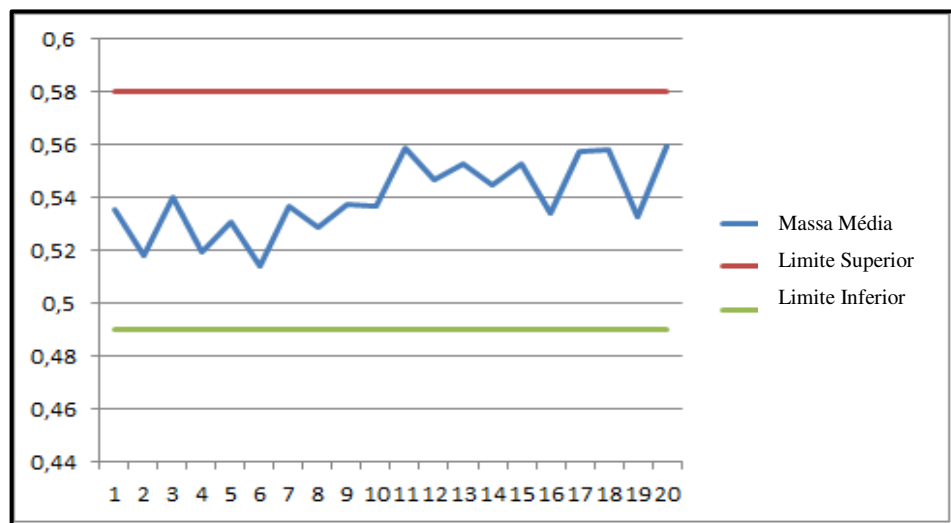


Figura 10 - Gráfico com resultado do ensaio de determinação de peso médio da amostra B de cápsulas de tetraciclina. Fonte: dados da pesquisa

Embora a avaliação das amostras tenha demonstrado que o peso das cápsulas se encontra dentro de uma faixa de variação em relação ao peso, a amostra A apresentou comportamento menos homogêneo e maior desvio padrão relativo quando comparada à amostra B, apesar de não haver existido nenhuma reprovação pelos critérios estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira, nem a presença de pontos fora dos limites de controle nos gráficos. Segundo Montgomery (2004) mesmo que todos os

pontos se situem entre os limites de controle, se eles se comportarem de maneira sistemática ou não aleatória, isso pode ser uma indicação de que o processo esta fora do controle.

Silva (2007) concluiu no seu estudo que apesar de ser exigido pela legislação como ensaio de controle de qualidade, a verificação do peso médio não permite fazer estimativas reais sobre o processo. No máximo, sugere ao farmacêutico uma vaga percepção sobre a variabilidade existente, pois não fornece nenhuma informação sobre homogeneidade da mistura, uma vez que, neste ensaio, não há determinação do teor de ativo presente na formulação.

5.2 Teste de desintegração

A desintegração é definida como o estado no qual nenhum resíduo da unidade (cápsula ou comprimido), salvo fragmentos de revestimento ou matriz de cápsulas insolúveis, permanece na tela metálica do aparelho de desintegração. De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010) o tempo máximo permitido para a desintegração de cápsulas duras é de 45 minutos. As amostras A e B cumpriram com as especificações do teste, sendo aprovadas (Tabela 2).

Tabela 2 - Resultado dos testes de desintegração

Ensaio desintegração	Amostra	
	A	B
Tempo (min)	13	12
Resultado	Aprovado	Aprovado

Fonte: dados da pesquisa

A desintegração das cápsulas das formulações A ocorreu em 13 minutos e da formulação B em 12 minutos.

Segundo Hanson (1991) as formas farmacêuticas sólidas orais, após serem administradas no organismo humano, devem liberar seu princípio ativo através dos processos de desintegração e dissolução, caracterizando a fase farmacêutica de ação dos fármacos, tornando-o disponível, em quantidade suficiente, para ser absorvido. De acordo com Banker; Anderson (2001), como a dissolução de um fármaco a partir de uma cápsula fragmentada controla, parcialmente ou totalmente, a concentração dele no sangue, o teste de desintegração

é usado como guia para otimização de uma fórmula e como controle de processo, assegurando a uniformidade entre lotes.

5.3 Doseamento por espectrofotometria ultravioleta visível

As análises quantitativas como teor e uniformidade de conteúdo, são realizadas com o objetivo de estabelecer a concentração do princípio-ativo presente em determinadas amostras (GIL, 2010). Os métodos utilizados para os ensaios de doseamentos correspondem ao método instrumental espectrofotometria por ultravioleta e ao ensaio de dosagem microbiológica de antibiótico (Potência).

No doseamento por UV foram analisadas soluções Cloridrato de tetraciclina obtidas das amostras A e B e o padrão em espectro de absorção no ultravioleta na faixa de 380nm. A tabela 3 expressa os resultados obtidos no ensaio.

Tabela 3 - Resultado dos testes de doseamento por ultravioleta visível

Doseamento UV	Absorbância			Teor (%)	
	Padrão	Amostra A	Amostra B	Amostra A	Amostra B
1	0,497	0,489	0,540	98,23	108,48
2	0,489	0,497	0,549	99,84	110,29
3	0,501	0,505	0,540	101,45	108,48
4	0,501	0,497	0,549	99,84	110,29
5	0,501	0,497	0,549	99,84	110,29
Média	0,498	0,497	0,545	99,84	109,56
DPR (%)	0,94	1,02	0,80	1,02	0,80

Fonte: dados da pesquisa.

Pelos valores encontrados por essa técnica, as cápsulas analisadas estão conforme a especificação dada na literatura, que aceita uma variação de 90% - 125% do valor especificado de princípio ativo no rotulo das cápsulas.

Concluindo-se então que a amostra cumpre o ensaio de identificação já que possui absorbâncias entre os valores especificados na monografia do Cloridrato de tetraciclina. O teor de cloridrato de tetraciclina para a amostra A foi de 99,84% e para a amostra B foi de 109,56% o que encontra-se dentro do preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010).

De acordo com Gil (2007) os ensaios de potência ou doseamento são aqueles que visam quantificar o teor da substância ativa em medicamentos. Nessa perspectiva, a crescente demanda por matérias-primas de composição química definida, com elevado grau de pureza e

qualidade tem levado as indústrias a implantar as análises qualitativas e quantitativas com o intuito de garantir que as mesmas atinjam as especificações e que o produto final tenha qualidade adequada para fins de comercialização. As análises quantitativas como teor e uniformidade de conteúdo, são realizadas com o objetivo de estabelecer a concentração do princípio-ativo presente em determinadas amostras.

Zarbielli et al. (2007) diz que determinar o doseamento dos fármacos é muito importante no controle de qualidade de medicamentos manipulados e industrializados pois quando a quantidade do principio ativo encontrada na forma farmacêutica é, maior do que deveria, pode ocorrer aumento no número e na intensidade de reações adversas. Já quando a quantidade é menor do que deveria, pode ocasionar ineficácia terapêutica. Então com base na avaliação dos resultados do doseamento do cloridrato de tetraciclina, verifica-se que as amostras A e B foram aprovadas, pois as mesmas continham teor de cloridrato de tetraciclina dentro do preconizado pela farmacopéia específica. Portanto, não comprometendo o tratamento, pois como as dosagens estão de acordo com a quantidade, o fármaco chega ao local de ação e o efeito terapêutico é alcançado.

5.4 Doseamento microbiológico

Para a análise de antibióticos, além dos métodos físico-químicos descritos nas monografias das farmacopeias mais recentes, como recomendação os métodos microbiológicos são realizados. De acordo com Yamamoto (1999) encontram-se descritos na forma de métodos gerais, sendo seletivos nos casos decisivos de avaliação de um produto quanto à potência, devido à sua maior necessidade para os diferentes grupos de antibióticos e por representarem a atividade antimicrobiana.

A atividade (Potência) de antibióticos pode ser demonstrada sob condições adequadas através de seu efeito inibitório sobre o crescimento microbiano. Uma redução na atividade antimicrobiana pode revelar alterações sutis, não demonstráveis por métodos químicos (PINTO, KANEKO E PINTO, 2010). Nessa pesquisa os resultados do teste foram obtidos pela quantificação do tamanho dos halos de inibição (Figura 8) obtidos quando o microrganismo teste foi submetido a concentrações de 150 µg/mL , 300 µg/mL , 600 µg/mL de cloridrato de tetraciclina substância química de referência e também dos conteúdos das amostras estudadas.

Embora recentemente os ensaios microbiológicos tenham sido com frequência substituídos por outros métodos, em particular a CLAE – Cromatografia Líquida de Alta

Eficiência, a fim de se assegurar quanto a adoção de métodos sensíveis e específicos para detectar as tetraciclina em baixos níveis de concentração, considerou-se incluir nesse estudo a determinação da potencia do antibiótico através do ensaio microbiológico difusão em ágar.

Neste estudo, o doseamento microbiológico do cloridrato de tetraciclina procedeu-se através da técnica farmacopéica de difusão em ágar por cilindros. Verificou-se a atividade antimicrobiana de duas amostras de tetraciclina empregando como reagente biológico o *Staphylococcus aureus*. Foi observado que nas placas onde se realizou o método difusão em ágar o crescimento do microorganismo foi homogêneo, os halos de inibição formados ficaram bem definidos, não se sobrepuseram e ficaram bem espaçados, possibilitando assim fácil obtenção dos dados para a determinação da potência (Figura 8).

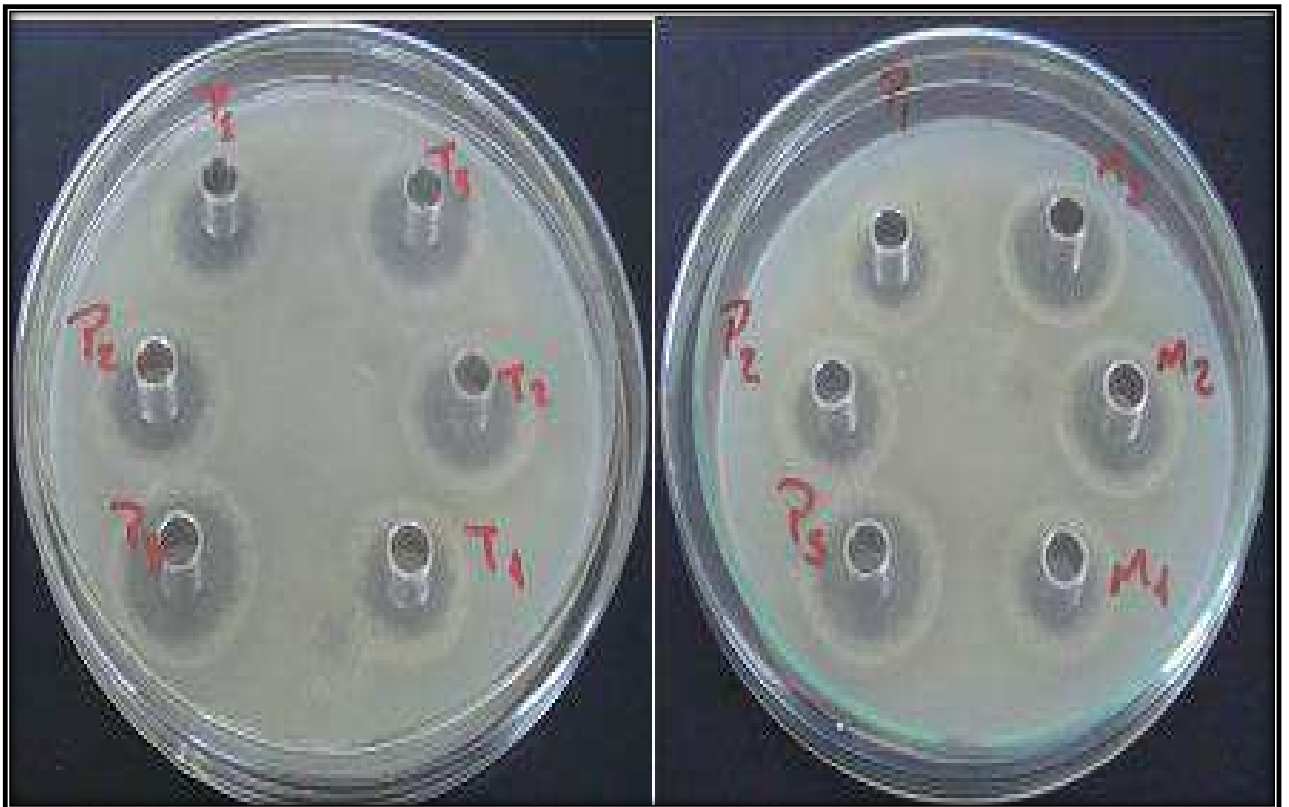


Figura 11 – Halos de inibição obtidos no ensaio de potência (delineamento 3 x 3) – nas concentrações 150 µg/ml, 300 µg/ml, 600 µg/ml com as amostras A e B. Fonte: dados da pesquisa.

A potência da tetraciclina presente nas cápsulas foi determinada através do método de difusão em ágar – cilindros em placas, com delineamento 3 x 3, isto é, em cada placa de Petri foram distribuídas três concentrações do padrão e três concentrações da amostra. No delineamento 3 x 3, a diferença dos halos de inibição obtidos entre padrão e amostra é menor, pois todos estando na mesma placa, encontram-se nas mesmas condições, uma vez que o

crescimento do microrganismo é o mesmo em toda placa. Sendo assim, as variações que podem vir a ocorrer entre padrão e amostra é menor, facilitando o desenvolvimento e validação do método.

Os parâmetros empregados para a realização do ensaio foram os seguintes: *Staphylococcus aureus* como microrganismo teste, concentração do inóculo de 2 %, meio de cultura Ágar Caseína-Soja 2%, concentração das soluções de 150, 300 e 600,0 µg/mL e incubação das placas por 48 horas, 37 °C.

As potências determinadas das cápsulas analisadas foram de 84,21% amostra A e 88,06% para a mostra B. Os tamanhos dos halos de inibição de cada amostra estão representados na tabela 4 e 5, a partir destas medidas foi determinada a potência do cloridrato de tetraciclina que foram calculados conforme as equações abaixo de cada tabela.

Tabela 4 - Diâmetros dos halos para o ensaio de potência (delineamento 3 x 3) – nas concentrações 150 µg/mL , 300 µg/mL , 600 µg/mL Amostra A.

Placa	P1	P2	P3	A1	A2	A3
1	17	20	22	16	19	22
2	18	20	22	16	20,5	22
3	17,5	20	22	16	20	22
4	19	20,5	22,5	17	20	22
5	19	21,5	23	17,5	20	22
6	18	20,5	22	16	20	22
Média	18,08	20,42	22,25	16,42	19,92	22
DPR (%)	4,04	2,61	1,72	3,70	2,25	0,00

Fonte: Dados da pesquisa

Cálculo da potencia relativa para a amostra A:

Diferença entre as doses alta e baixa (E)

$$E = \frac{1}{4} [(P_3 + A_3) - (P_1 + A_1)]$$

$$E = \frac{1}{4} [(22,25 + 22,00) - (18,08 + 16,42)]$$

$$E = \frac{1}{4} [(44,3) - (34,5)]$$

$$E = \frac{1}{4} [9,8]$$

$$E = 2,4375$$

Diferença entre amostra e padrão (F)

$$F = \frac{1}{3} [(A_3 + A_2 + A_1) - (P_3 + P_2 + P_1)]$$

$$F = \frac{1}{3} [(22,0 + 19,92 + 16,42) - (22,25 + 20,42 + 18,08)]$$

$$F = \frac{1}{3} [(58,3) - (60,8)]$$

$$F = \frac{1}{3} [-2,5]$$

$$F = -0,6042$$

Log dose x resposta (M)

$$M = \frac{F}{E} \log(Rd)$$

Razão das doses (Rd)

$$M = \frac{-0,6042}{2,4375} \log(2)$$

$$M = -0,2478 \times 0,301$$

$$M = -0,0746$$

$$\text{Potência (\%)} = \text{Antilog } 2 + M$$

$$\text{Potência (\%)} = \text{Antilog } 2 + (-0,0746)$$

$$\text{Potência (\%)} = \text{Antilog } 1,9254$$

$$\text{Potência (\%)} = 10^{1,9254}$$

$$\text{Potência (\%)} = 84,21$$

Tabela 5 - Diâmetros dos halos para o ensaio de potência (delineamento 3 x 3) – nas concentrações 150 µg/mL , 300 µg/mL , 600 µg/mL Amostra B.

Placa	P1	P2	P3	B1	B2	B3
1	18	20,5	22,5	18	20,5	22
2	18	21	23	17,5	20	22
3	18	20	22	17	20	22
4	18	21	22,5	17,5	20	22
5	19	21,5	23	18	20	23
6	18	20	22,5	17	20	22
Média	18,2	20,7	22,6	17,5	20,1	22,2
DPR (%)	2,05	2,67	1,52	2,33	0,93	1,68

Fonte: Dados da pesquisa.

Cálculo da potência relativa para a amostra B:

Diferença entre as doses alta e baixa (E)

$$E = \frac{1}{4} [(P_3 + A_3) - (P_1 + A_1)]$$

$$E = \frac{1}{4} [(22,6 + 22,2) - (18,2 + 17,5)]$$

$$E = \frac{1}{4} [(44,8) - (35,4)]$$

$$E = \frac{1}{4} [9,1]$$

$$E = 2,2708$$

Diferença entre amostra e padrão (F)

$$F = \frac{1}{3} [(A_3 + A_2 + A_1) - (P_3 + P_2 + P_1)]$$

$$F = \frac{1}{3} [(22,2 + 20,1 + 17,5) - (22,6 + 20,7 + 18,2)]$$

$$F = \frac{1}{3} [(59,8) - (61,4)]$$

$$F = \frac{1}{3} [-1,6]$$

$$F = -0,4166$$

Log dose x resposta (M)

$$M = \frac{F}{E} \log (Rd)$$

Razão das doses (Rd)

$$M = \frac{-0,4166}{2,2708} \log (2)$$

$$M = -0,1834 \times 0,301$$

$$M = -0,0552$$

$$\text{Potência (\%)} = \text{Antilog } 2 + M$$

$$\text{Potência (\%)} = \text{Antilog } 2 + (-0,0552)$$

$$\text{Potência (\%)} = \text{Antilog } 1,9448$$

$$\text{Potência (\%)} = 10^{1,9448}$$

$$\text{Potência (\%)} = 88,06$$

A partir dos resultados obtidos e com base na Farmacopeia Brasileira (2010) as cápsulas analisadas apresentaram potência abaixo dos limites estabelecidos pela legislação que é de 90 a 125% da potência declarada. Portanto, apesar da resposta satisfatória no doseamento por UV e ter sido observado a formação dos halos de inibição nas placas, demonstrando que houve atividade antibacteriana, as amostras A e B foram consideradas fora dos parâmetros de qualidade quando calculadas suas potencia relativas.

O Desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), é a expressão da precisão do método. Representa a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Foi obtida em 6 réplicas das concentrações do teste, segundo a fórmula:

$$DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100$$

Em que, DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada.

O maior valor de DPR obtido no presente estudo foi de 4,04%. De acordo com a RE 899/03, o valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 15% quando se tratar de métodos biológicos. Portanto, o ensaio utilizado apresenta precisão adequada ao doseamento microbiológico para avaliar potência antimicrobiana das cápsulas de tetraciclina frente ao crescimento de *S. aureus*.

De acordo com Consigliere; Storpirtis; Ferraz (2000) a eficiência de um medicamento é geralmente avaliada por sua resposta clínica ou terapêutica. Essa resposta está diretamente relacionada a biodisponibilidade do fármaco, a qual pode ser interpretada como uma medida de seu desempenho. Além disso, a perda da potência antimicrobiana pode influenciar no resultado da terapia.

Para se obter concentrações sanguíneas e/ou teciduais com a capacidade de matar ou inibir o crescimento bacteriano, no foco infeccioso, é necessário que a concentração do antimicrobiano esteja adequada nas preparações farmacêuticas que serão administradas ao paciente, cujo processo infeccioso se deseja combater. Neste aspecto, é fundamental que a potência do antimicrobiano esteja correta na formulação administrada (ESMERINO; PEREIRA & SCHELESKY, 2005).

De acordo com Tavares (2001) embora a biodisponibilidade de um fármaco possa ser estudada por diferentes vias de administração, habitualmente é referida para os medicamentos administrados por via oral que têm um efeito sistêmico. A biodisponibilidade oral é uma característica dos diferentes fármacos variando de acordo com a composição química da substância, a quantidade do fármaco absorvida, sua velocidade de absorção e a quantidade presente no plasma disponível para um efeito biológico.

No caso dos antimicrobianos administrados por via oral, ou qualquer outra via, o efeito biológico esperado é a morte do microrganismo (efeito bactericida) ou a diminuição do seu crescimento (efeito bacteriostático). Por isso, é importante que após a administração do antimicrobiano, a CIM seja atingida rapidamente, se mantenha no intervalo entre as doses e seja, ainda, mantida durante toda a duração do tratamento (ESMERINO; PEREIRA & SCHELESKY, 2005).

Segundo Oliveira (2009) alguns métodos são mais específicos e adequados para análise de rotina em laboratórios. A análise espectrofotométrica na região UV é um método simples, de fácil execução e de custo reduzido, mas não é específico para determinar e quantificar possíveis produtos de degradação na amostra. Enquanto o ensaio microbiológico é um método específico, mas não é capaz de indicar e quantificar a formação de produtos de degradação. Este método seria mais adequado para análise eventual em laboratórios, com o objetivo de determinar a potência do antimicrobiano nas cápsulas, sendo utilizado como um teste alternativo de análise.

A determinação da atividade antimicrobiana de fármacos é uma análise microbiológica *in vitro* essencial na avaliação da qualidade de medicamentos antimicrobianos produzidos pelas indústrias farmacêuticas (PAREDES; CARRANZA, 1993; MENDES, 1997; ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 1999).

A Farmacopéia Brasileira (2010) recomenda os ensaios microbiológicos por difusão em ágar e turbidimetria como adequados para a avaliação da atividade antimicrobiana quantitativa de antibióticos.

8 CONCLUSÃO

Os dados obtidos na avaliação da qualidade de cápsulas de tetraciclina 500mg permitiram as seguintes conclusões:

- Todas as amostras apresentaram-se dentro dos limites de aceitabilidade para os parâmetros de qualidade referentes aos testes físico-químicos de peso médio e desintegração;
- No doseamento pelo método espectrofotometria-UV as amostras se apresentaram em conformidade com os limites especificados na farmacopéia;
- No ensaio de potência por difusão em ágar as amostras se apresentaram fora dos limites estabelecidos na farmacopéia.
- Os ensaios de doseamento microbiológico e UV não apresentaram os mesmos resultados indicando graus distintos de interferência nos ensaios.

REFERÊNCIAS

ANSEL, H. C.; ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 8ª ed. São Paulo: Artmed, 2007.

BANKER, G.S.; ANDERSON, N. R. Comprimidos. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANING, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Trad. João F. Pinto et al. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 2, 2001, p. 509-597.

BRANDÃO, A. L. A.. Influência do Polimorfismo na Farmacotécnica de Cápsulas no Setor Magistral. **Instituto de pesquisa tecnológica e controle de qualidade**, 2011. Disponível em: <http://www.intecq.com.br/files/artigos/polimorfismo_e_farmacocinetica.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2014.

BRANDÃO, S. M. C. **Avaliação dos Resultados das Análises de Formas Farmacêuticas Sólidas Orais no Ensaio Dissolução**. 2006. 48 f. Trabalho de conclusão de curso (, Especialização em Controle da Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços Vinculados à Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2006.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. p. 524 , 1v/il.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Antimicrobianos – Bases teóricas e uso clínico**. Brasília, 2007. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/conceitos.htm>. Acesso em: 26 abr. 2014.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Curso Básico de Controle de Infecção Hospitalar. Caderno B -Principais Síndromes -Infecções Hospitalares**, Brasília, 2000. Disponível em: <<http://www.cvs.saude.sp.gov.br/pdf/CIHCadernoB.pdf>>. Acesso em: 27 abr. 2014.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Curso Básico de Controle de Infecção Hospitalar. Caderno D - Microbiologia Aplicada ao Controle de Infecção Hospitalar**, 2000. Disponível em: <<http://www.cvs.saude.sp.gov.br/pdf/CIHCadernoD.pdf>>. Acesso em: 27 abr. 2014.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Sítio Cirúrgico; Critérios Nacionais de Infecções relacionadas à assistência à saúde**, 2009. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/criterios_nacionais_ISC.pdf> . Acesso em:

27 abr. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde: **Portaria 2.616**, de 1998. Brasília, disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt2616_12_05_1998.html>. Acesso em: 27 abr. 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC 44, de 26 de outubro de 2010. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição médica, isoladas ou em associação e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 27 out 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c13443804478bef68eefcf7d15359461/resolucao+antibioticos.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 27 abr. 2014.

BREZZO, C.; CECCHINI, D.; BISCIONE, F.; ORDUNA, T.; COSTA, N.; QUINTEROS, M.. Enfermedad invasora por Staphylococcus aureus meticilino resistente adquirida en la comunidad. **Medicina**, Buenos Aires, v. 66, n. 5, oct., 2006.

BUTH, D. F. **Degradação fotocatalítica da tetraciclina em solução aquosa empregando TiO₂ suportado**. 2009. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Faculdade Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

CASTELLO, M. A.; ALMARALES, R. C.; RODRÍGUEZ, A. A.; HERNÁNDEZI, S.D.O.; MARTÍNEZ, M. G.; CASTELLÓ, M. DEL P. A. Infecciones respiratorias altas recurrentes: Algunas consideraciones. **Revista Cubana de Medicina General Integral**, Ciudad de La Habana, v. 24, n. 1, mar., 2008 .

CÁRCAMO, E.C. **Cinética de dissolução de medicamentos**. Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, Washington, 1981. p. 103.

CARRILHO, C .M. DE M.; GRION, C. M. C.; CARVALHO, L. M.; GRION, A. dos S.; MATSUO, T.. Pneumonia em UTI: Incidência, Etiologia Mortalidade em Hospital Universitário. **RBTI - Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. [S.l], v. 16, n. 4, P. 38-44, out./dez., 2004.

CARVALHO, L. S.. Formulação farmacêutica e biodisponibilidade. III influência dos “excipientes”. **Revista Portal Farmácia** [S.l], v. 26, p. 30-63, 1976.

CHOPRA, I.; ROBERTS, M.; **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v. 65, n. 2, p. 232- 260, 2001.

CONSIGLIERE, V.O.; STORPIRTIS, S.; FERRAZ, H.G. Aspectos farmacotécnicos relacionados à biodisponibilidade de medicamentos. **Revista Clínica de Farmácia**. [S.l], v.21, n.1, p.23-41, 2000.

DEFELIPE, C. R... **Estabilidade de Medicamentos. Condições Ambientais Adequadas para Conservação dos Medicamentos**. Rio de Janeiro: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1985.

DELAISSÉ, J. M.; ENGSIG, M. T.; EVERTS, V.; OVEJERO, M. C.. Proteinases in bone resorption: obvious and less obvious roles. **Clinica Chimica Acta**, [S.l], p. 223-234, 2000.

ESMERINO, A.L.; PEREIRA, A. V. & SCHELESKY, M. E.. Doseamento da potência da ciprofloxacina em comprimidos orais. **Revista Brasileira de Farmácia**. [S.l], v. 86, n.1, p. 17-20, 2005.

FAHRIG, W.; HOFER, V.. **Die Kapsel – grundlagen, Technologie un Biopharmazie einer modernen Arzneiform**. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1983.

FERREIRA, A.O.. **Guia prático da Farmácia Magistral**, 3. ed. São Paulo: Pharmabooks. 2008. v.1, p. 203-204.

FERREIRA, M.V.C.; PAES, V.R.; LICHTENSTEIN. A. Penicilina: oitenta anos. **Ver Med**, São Paulo, v. 4, n. 87, p. 272-276, out./dez. 2008.

FIOL, F. D.; LOPES, L. C.; TOLEDO, M. I.; BARBERATO-FILHO S.. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 68-72, jan./fev., 2010.

GARCÍA, F.. Resistencia bacteriana a antibióticos. **Acta Médica Costarricense**, San José, v. 43, n. 3, jul. 2001.

GARCÍA, M. M.; DÍAZ, R. S.; BRUGUERAS, M. C.. Actualización en tetraciclinas. **Revista Cubana de Farmácia**, Ciudad de la Habana, v. 37, n. 3, sep. /dic., 2003.

GELATTI, L. C.; BONAMIGO, R.R.; BECKER, A. P.; D'AZEVEDO, P. A.. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Porto Alegre, v. 84, n. 5, p.501-506, out. 2009.

GIANOTTO, E. A. S.; MACHADO, H. T.; MIGLIORANZA, B.; FREGONEZI-NERY, M. M.. Qualidade de Cápsulas de Cloridrato de Fluoxetina Manipuladas em Farmácias. **Latin American Journal of Pharmacy**, [S.l.], v. 27, n. 5, p. 727-733, 2008.

GIBALDI, M.. **Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 406.

GIL, E. S.; MACHADO, A.A.. Ensaio de Qualidade. In: GIL, E. S.. **Controle Físico-Químico de Qualidade de Medicamentos**. 3. ed.. São Paulo: Pharmabooks. 2010. p. 267-294.

GIL, E. S.; MATIAS, R.. Métodos Clássicos de Doseamento. In: GIL, E.S. **Controle Físico-Químico de Qualidade de Medicamentos**. 3. ed.. São Paulo: Pharmabooks. 2010. p. 211-230.

GOERING, R. V.; DOCKRELL, H. M.; ZUCKERMAN, M.; ROITT, I.; CHIODINI, P.. **Microbiologia Médica**. 2a ed. São Paulo: Manolo, 1999. P. 481.

GUIMARÃES, D.O; MOMESSO, L.S.; PUPO, M.T.. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Revista Química Nova**, [S.l.], v. 33, n. 3, p. 667-679, fev. 2010.

GURGEL, T. C.; CARVALHO, W. S.. A Assistência Farmacêutica e o Aumento da Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos. **Latin American Journal of Pharmacy (formerly Acta Farmacéutica Bonaerense)**, [S.l.], v. 27, n. 1, p. 118-123, 2008.

HEILBERG, I. P.; SCHOR, N.. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário - ITU. **Revista de Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 49, n. 1, p.109-116, 2003.

HEWITT, W.. **Microbiological Assay for Pharmaceutical Analysis: A Rational Approach**. 1 ed. Interpharm, 2007, p. 260.

HIR, A. LÊ .**Noções de farmacologia galênica**. 6 ed. rev. e ampl. São Paulo: Andrei, 1997.

HORBYLON, B. Z.. **Estudo *in vitro* da cinética de desorção de doxiciclina e tetraciclina empregadas a membranas de colágeno utilizadas como dispositivo de liberação medicamentosa local**. 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

HOSTETLER, V.B.. Cápsulas: Parte 1 – Cápsulas de gelatina dura. In: LACHMAN, L; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. 1. ed. Lisboa: Fundação Galouste Guldenkian, 2001. v. II, Cap. 13, p.651-681.

JOHNSON, J. A. & BOOTMAN, J. L.. Pharmacoeconomic analysis on formulary decisions: An international perspective. **American Journal of Hospital Pharmacy**, [S.l], v. 51, p.2593-2598, 1994.

KADOSAKI, L. L.; SOUSA, S. F.; BORGES, J. C. M.. Análise do uso e da resistência bacteriana aos antimicrobianos em nível hospitalar. **Revista Brasileira de Farmácia (RFB)**, [S.l], v. 93, n. 2, p. 128-135, 2012.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.A.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WIM, W.C. JR.. **Diagnóstico Microbiológico Texto e Atlas Colorido**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Volume II Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LOURENÇO, F. R.. **Doseamento microbiológico de gentamicina por difusão em ágar – proposta de delineamento experimental**. 2006. 218 f. Dissertação (Para obter o grau de Mestre) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

LUIZA, V. L.; CASTRO, C. G. S. O.; NUNES, J. M.. Aquisição de medicamentos no setor público: o binômio qualidade – custo. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 15, n.4, p. 769-776, out./dez., 1999.

MACEDO, M. de L. de A. P.; CARTAXO, R. de S.; ALMEIDA, T. C. da C.; SOUZA, L. B. S. de S.; SANTANA, W. J.; COUTINHO, H. D. M.. Mecanismo de resistência e detecção das beta-lactamases. **UNOPAR Científica, Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v.7, n.1, p.59-63, out., 2005.

MAMANI, M. C. V.. **Desenvolvimento e validação de métodos para a determinação de antimicrobianos em leite e fármacos usando a cromatografia líquida de alta eficiência e eletroforese capilar**. 2007. 208 f. Tese (doutorado) – Departamento de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F.. A dissolução *in vitro* na previsão de absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.38. n. 4, p. 375-399, 2002.

MATOS, F. S.. de antibióticos na faringoamigdalite estreptocócica. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v. 76, n. 3, p.23-27, 08 jul. 2007.

MENDES, C.M.F. Avaliação da atividade in vitro do cefetamet e outros agentes antimicrobianos diante de bactérias isoladas de infecções do trato respiratório. **Revista de Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.43, n.1, p.47-52, 1997.

MENEZES, E.A.; CARNEIRO, H. M.; CUNHA, F.A.; OLIVEIRA, I.R.N.; ÂNGELO, M. R. F.; SALVIANO, M. N.C.. Frequência de microrganismos causadores de infecções urinárias hospitalares em pacientes do hospital geral de Fortaleza. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [S.l], v. 37, n.4, p. 243-246, 2005.

OLIVEIRA, A. C.; CARVALO, D.V.. Avaliação da subnotificação da infecção do sítio cirúrgico evidenciada pela vigilância pós-alta. **Revista Latino-Americano de Enfermagem**. Ribeirão Preto, v. 15, n. 5, p. 992-997, set./out., 2007.

OLIVEIRA, C. L. C. G.. **Desenvolvimento de métodos analíticos e estudo de estabilidade de linezolida em comprimidos**. 2009. 223 f. Tese (Doutorado – Em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

ORGANIZACIÓN mundial de la salud. **Pruebas básicas - medicamentos**. Ginebra, p. 44-45, 58-59, 1999.

PALUDETTI, L. A. Controle de qualidade de cápsulas: apenas o peso médio é suficiente?. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 7, n. 5, p. 234-235, 2005.

PAREDES, K. M. A.; CARRANZA, G. S. R. **Control de calidad microbiológico de los fármacos**. Lima, 1993. 126 p.

PEREIRA, A.L.; PITA, J.R.. ALEXANDER FLEMING (1881-1955) Da descoberta da penicilina (1928) ao Prémio Nobel (1945). **Revista da faculdade de letras: História Porto** 6, [S.l], v. 6, p. 129-151, 2005.

PEREIRA-MAIA, E. C.; SILVA, P. P.; ALMEIDA, W. B.. Tetraciclina e gliciliclinas: uma visão geral. **Revista Química Nova**, [S.l], v. 33, n. 3, p. 700-706, 2010.

PÉREZ-TRALLERO, E.; IGLESIAS L.. Tetraciclina, sulfamidas y metronidazol. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, San Sebastián, España, v. 21, n. 9, p.520-529, 2003.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T.. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. São Paulo: Atheneu, 2000. 309p.

PETRY, R.D.; SOUZA, T.P.; SILVA, F.A.; HEBERLE, G.; BARROS, W.; FLECK, J.D.; BASSANI, V.L.; ORTEGA, G.G.; PETROWICK, P.R.; GUITIERRES, S.. Influência de adjuvantes e técnica de enchimento sobre as características farmacêuticas de cápsulas de gelatina dura contendo teofilina. **Caderno de Farmácia**. [S.l.], v. 14, n. 1-2, p. 13-19, 1998.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; GARDNER, P.. Fármacos antibacterianos. In _____. **Rang e Dale farmacologia**. 6 ed. Elsevier, 2007. p. 661-678.

RODRÍGUEZ, M. A. R.; GONZÁLEZ-PIÑERA J. G.; BARRETO, J. P.; ALONSO, N.; L. ALEJANDRO AREU, A.; NÚÑEZ, A. P.. Tetraciclinas. **Acta medica**, [S.l.], v.8, n. 1, p. 75-79, 1998.

SANTOS, A. L.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, L. F.; RODRIGUES, C. R. ; CASTRO, H. .C.. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 6, p.413-423, dez. 2007.

SERRA, H.A.. **A História dos antibióticos**. Pediatra preceptor da Enfermaria de Especialidades do Instituto da criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. Disponível em:< http://profiva.dominiotemporario.com/doc/Micro_A_Historia_dos_Antibioticos>. Acesso em: 26 abr. 2014.

SILVA, R.F. **Indicadores de desempenho em sistemas de garantia de qualidade de produção de medicamentos. Uma contribuição para a aplicação em farmácias de manipulação**. 2007. 115 f. Dissertação, (Mestrado em Sistemas de Gestão) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro.

SILVEIRA G. P.; NOME F.; GESSER J. C.; SÁ M. M.. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Revista Química Nova**, [S.l.], v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SINGH, S.; RAO, K.V.R.; VENUGOPAL, K.; MANIKANDAN, R.. Alteration indissolution characteristics of gelatin containing formulations – a review of the problem, test methods and solutions. **Pharmacy Technicians** New york, v.6, n.2, p. 36 – 58, 2002.

STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P.G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D..Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a

dissolução e a absorção de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.**, São Paulo, v.35, n.1, p.1-16, 1999.

THOMPSON, J.E. **A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos.** Porto Alegre: Artmed, 2006.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos.** 3ª ed. São Paulo. Atheneu, 2001. 1216p.

TRALLERO, E.P.; IGLESIAS, L.. Tetraciclinas, Sulfonamidas y Metronidazol. Servicio de Microbiología. Hospital Donostia. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, San Sebastián. España, v. 21, n. 9, p. 520-9, 2003.

VRANJAC, A.. CCD – Cordenação de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Epidemiológica – **Divisão de Infecção Hospitalar. Infecção em sítio cirúrgico**, 2005. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/ih/ih_ifc05.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2014.

WHO (Who Health Organization). **Use of quinolones in food animal and potencial impact on human health.** Geneva, 1998. Disponível em: < www.who.int/emc.>. Acesso em 19 jul. 2014.

YAMAMOTO, C.H.. **Aspecto da qualidade da tetraciclina em preparações farmacêuticas sólidas. Correlação entre os métodos de dosagem por cromatografia líquida de alta eficiência e turbidimétrico.** 1999. 260 f. Tese (Doutorado em Fármaco e Medicamentos Área de produção e Controle Farmacêuticos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

ZARBIELLI, M.G.; MACEDO, S.; MENDES, A.M.; Controle de qualidade de cápsulas de piroxicam manipuladas em farmácias do município de Erechim -RS. **Infarma**, Brasília, v.19, n 1-2, p.17-23, 2007.