

Estudo comparativo de duas técnicas farmacopéicas de avaliação da atividade antimicrobiana dos fármacos: nistatina, eritromicina, neomicina e gentamicina

Tatiane Margato Vital*, Cleomenes Reis, Marco Túlio Antonio García-Zapata, Luiz Carlos da Cunha

Medicina Tropical, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás

Através das técnicas de difusão em ágar com discos de papel e cilindros de aço inoxidável, analisou-se quantitativamente a atividade antimicrobiana de 123 medicamentos contendo os fármacos: nistatina (43 amostras de creme vaginal), eritromicina (14 amostras de comprimidos e 9 amostras de suspensão oral), gentamicina (33 amostras de líquido injetável) e neomicina (24 amostras de creme de uso tópico), mediante as seguintes cepas de microrganismos: Saccharomyces cerevisiae ATCC 2601 para a nistatina; Staphylococcus epidermidis 12228 para a gentamicina e neomicina e Micrococcus luteus ATCC 9341 para a eritromicina. O preparo das cepas, soluções de padrão e amostra e meios de cultura nos dois métodos seguiram as recomendações da Farmacopéia Brasileira IV (1988) e Farmacopéia Americana 24 (2000). Os resultados foram analisados estatisticamente pelos testes de Fisher ($p=0,05$) e Student ($p=0,05$). Dentre as 43 amostras de nistatina creme vaginal analisadas, verificaram-se pelo teste de Student, diferenças pouco significativas (para $p=0,05$) de atividade antimicrobiana entre os métodos dos discos e cilindros; porém no teste de Fisher não houve diferenças. Nas amostras de eritromicina, gentamicina e neomicina não se obtiveram diferenças significativas entre os testes estatísticos de Fisher e Student. Conclui-se que, para a eritromicina, gentamicina, neomicina e nistatina, a análise de atividade antimicrobiana pela técnica dos discos de papel pode substituir a técnica dos cilindros de aço inoxidável.

Unitermos

- Atividade antimicrobiana
- Nistatina
- Eritromicina
- Neomicina
- Gentamicina

*Correspondência:

T. M. Vital
R. C-97 Q.202 L.3 Sudoeste
74303-380 Goiânia – GO
E-mail:tatianemv@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A determinação da atividade antimicrobiana de fármacos é uma análise microbiológica *in vitro* essencial na avaliação da qualidade de medicamentos antimicro-

bianos produzidos pelas indústrias farmacêuticas (Paredes, Carranza, 1993; Mendes, 1997; Organización Mundial de la Salud, 1999).

A Farmacopéia Brasileira IV (1988) recomenda os ensaios microbiológicos por difusão em ágar e turbidime-

tria como adequados para a avaliação da atividade antimicrobiana quantitativa de antibióticos.

Contudo, a técnica de difusão em ágar descrita por Bauer *et al.*, em 1966, figura entre os métodos mais utilizados em laboratórios de controle de qualidade microbiológico (Farmacopéia Internacional, 1989; Carvalho, Jurgensen, 1991; Cruz *et al.*, 1998). Dentre vários parâmetros considerados, o meio de cultura, o inóculo do microrganismo, a difusão do fármaco, as condições de incubação e os critérios de leitura são fundamentais para a confiabilidade do método (Mamizuka *et al.*, 1983; Ranali, Biral, 1989; Oliveira *et al.*, 2000).

A Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1988) também normatiza os principais parâmetros de análise aos diversos antimicrobianos, descritos em monografias. Para a difusão dos fármacos em ágar, indica a perfuração de poços, cilindros de aço inoxidável ou porcelana e discos de papel (Fröhlich, Schapoval, 1990; Pinto *et al.*, 2000).

Devido à contínua necessidade de se padronizar métodos em laboratórios de análise microbiológica de medicamentos, o presente estudo tem a finalidade de comparar dois meios de difusão de fármacos antimicrobianos em ágar: com a utilização de cilindros de aço inoxidável e com a utilização de discos de papel, mediante quatro fármacos: nistatina, eritromicina, neomicina e gentamicina.

Este estudo foi realizado no laboratório de controle de qualidade microbiológico do Laboratório Neoquímica Ltda em Anápolis/GO.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras do estudo

Neste estudo foram analisadas 123 amostras dos fármacos nas seguintes proporções: 43 amostras de nistatina creme vaginal (34,97%); 23 de eritromicina (18,70%), sendo 14 de comprimidos (11,38%) e 9 de suspensão oral (7,32%); 24 amostras de neomicina creme para uso tópico (19,52%) e 33 de gentamicina injetável (26,81%).

As amostras dos medicamentos foram coletadas aleatoriamente, seguindo a fórmula $\sqrt{n} + 1$, onde n representa o número de caixas de medicamentos produzidos em cada lote, de acordo com o ritmo da produção, do universo de amostras produzidas (Farmacopéia Brasileira, 1988).

Os produtos são da linha de similares da Neoquímica Indústria Farmacêutica Ltda., localizada no distrito Agroindustrial (DAIA) de Anápolis – GO. A presença de substâncias ativas antimicrobianas em sua composição e a sua freqüente produção implicaram a escolha destes medicamentos.

Os fármacos apresentavam-se nos medicamentos nas seguintes formas químicas: estolato de eritromicina, sulfato de gentamicina, sulfato de neomicina e nistatina base.

Todas as amostras analisadas encontravam-se dentro do prazo de validade de dois anos após a data de fabricação e conservadas ao abrigo da luz e umidade.

Técnicas e procedimentos

Seleção das cepas microbianas

Microrganismos indicadores são cepas de bactérias ou fungos, específicas aos fármacos, recomendadas pelas Farmacopéias à análise da atividade antimicrobiana de medicamentos, conforme mostra a Tabela I.

As cepas utilizadas foram: *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601 (USP) para a nistatina, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12.228 (USP) para a gentamicina e neomicina, e *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (USP) para a eritromicina (Morell *et al.*, 1987; Marques *et al.*, 1988; Farmacopéia Brasileira, 1988; United States Pharmacopoeia, 2000).

Os microrganismos foram inoculados em tubos de ensaio (180 x 18_{Mm}) com 10 mL de ágar para dosagem de antimicrobianos n.º 1 (Merck®) com o meio de cultura inclinado para bactérias e ágar para dosagem de antimicrobianos n.º 19 (Merck®) inclinado para fungos, objetivando o crescimento e conservação, à 35 °C e 30 °C, respectivamente (Farmacopéia Brasileira, 1988; United States Pharmacopoeia, 2000).

Preparo do material para a metodologia

O preparo e esterilização de vidrarias, soluções e meios de cultura para o desenvolvimento da metodologia foi realizado conforme descrito na Farmacopéia Americana (United States Pharmacopoeia, 2000).

Preparo dos padrões e das amostras

Padrões antimicrobianos são fármacos quimicamente puros e com ausência de contaminantes, com certificado de pureza e qualidade expedido pelo fabricante, seguindo a Farmacopéia Americana (USP). Devem ser divididos em porções menores, denominados padrões de trabalho e dessecados até obter-se o peso constante para perder a umidade (Farmacopéia Brasileira, 1988; United States Pharmacopoeia, 2000). Os diluentes e as concentrações dos padrões e amostras podem ser observados na Tabela II.

A proporção de fármaco livre nos padrões foi para a neomicina 670 µg/mg; nistatina 5.212UI/mg (1489 µg/mg); gentamicina 623 µg/mg e eritromicina 678,7 µg/mg.

Segundo a Farmacopéia Americana (2000), o sal

TABELA I - Microrganismo padrão e meio de cultura para o teste da atividade antimicrobiana de fármacos

Fármaco	Microrganismo, temperatura de crescimento e período de incubação	Meios de cultura			Microrganismos no inóculo (%) Escala 0,5 de Mac Farland
		Tubo	Base (20 mL)	Superfície (8 mL)	
Eritromicina	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341 (35 °C) (24h)	Meio N° 01® (Merck)	Meio N° 11® (Merck)	Meio N° 11® (Merck)	2.25 x 10 ⁴ ufc/mL (1.5%)
Gentamicina	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 (35 °C) (24 h)	Meio N° 01® (Merck)	Meio N° 11® (Merck)	Meio N° 11® (Merck)	4.5 x 10 ³ ufc/mL (0.03%)
Neomicina	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 (35 °C) (24h)	Meio N° 01® (Merck)	Meio N° 11® (Merck)	Meio N° 11® (Merck)	1.5 x 10 ⁵ ufc/mL (1.0%)
Nistatina	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 2601 (30 °C) (48h)	Meio N° 19® (Merck)	-	Meio N° 19 (15 mL)® (Merck)	1.0%

Fonte: Farmacopéia Brasileira, 1988; United States Pharmacopoeia, 2000.

TABELA II - Diluentes e concentração das soluções de antimicrobianos

Fármaco	Diluyente da solução estoque	Concentração da solução estoque (mg/mL)	Prazo de validade sob refrigeração (4 °C)	Diluyente final	Concentração P ₁ /A ₁ e P ₂ /A ₂
Eritromicina	Metanol	1	14 dias	Tampão 02 pH = 8,0	2,0 e 1,0 mg/mL
Gentamicina	Tampão 02 pH = 8,0	1	30 dias	Tampão 02 pH = 8,0	0,1 e 0,2 mg/mL
Neomicina	Tampão 02 pH = 8,0	1	14 dias	Tampão 02 pH = 8,0	2,0 e 1,0 mg/mL
Nistatina	Dimetilfor- mamida	0,2857	1 dia	Tampão 04 pH = 6,0	0,0114 mg/mL e 0,0057 mg/mL*

Fonte: Farmacopéia Brasileira, 1988; United States Pharmacopoeia, 2000. * Kalant, Roschlau, 1991 (1 mg = 3500 U.I).

estolato de eritromicina deve conter em relação ao padrão 90% a 120% da substância ativa eritromicina; o sulfato de gentamicina, de 90% a 125% do fármaco gentamicina o sulfato de neomicina 90% a 135% do fármaco neomicina de a nistatina base, de 90% a 130% do fármaco nistatina, considerando-se a qualidade variável de extração das amostras.

O peso do antimicrobiano foi relacionado com a concentração do fármaco ativo na fórmula do medicamento, sendo para a eritromicina comprimidos 1 grama (500 mg de substância ativa), suspensão 5 mL (500 mg de subs-

tância ativa); gentamicina 2 mL de solução injetável (280 mg de substância ativa); neomicina creme de uso tópico 1 grama (5 mg de substância ativa) e nistatina creme vaginal 1 grama (25.000 UI de substância ativa). O padrão para cada antimicrobiano teve concentração equivalente à da amostra (Korolkovas, Burekhalter, 1988; Dicionário de Especialidades Farmacêuticas, 2000).

A solução-estoque é a primeira diluição do medicamento ou padrão em concentração elevada da substância ativa. A eritromicina, na forma farmacêutica de comprimidos, foi triturada, misturada, pesada e dissolvida no

solvente; a nistatina creme foi pesada, misturada com o solvente e decantada a fase de maior peso molecular para análise; a eritromicina suspensão e a gentamicina injetável foram medidas com pipeta volumétrica e dissolvidas em seus solventes correspondentes.

Para a eritromicina foi usado como solvente o metanol; para a gentamicina e neomicina, o tampão 2 (pH 8,0) e para a nistatina utilizou-se a dimetilformamida, tanto para as amostras como para seus padrões correspondentes. As concentrações variaram de acordo com cada fármaco: 1 mg/mL para a eritromicina, gentamicina e neomicina, e 1.000 UI/mL para a nistatina, o que equivale a 0,2857 mg/mL. O volume final dos balões de vidro foi de 50 mL, tanto para o padrão mais e menos concentrado (P_1 e P_2) e para as amostras mais e menos concentrada (A_1 e A_2). Em ensaios de rotina, quando a linearidade do sistema foi comprovada usando o ensaio de três pontos, pode-se utilizar o ensaio de dois pontos (Farmacopéia Brasileira, 1988; United States Pharmacopoeia, 2000).

Nas diluições posteriores, o tampão 2 (pH 8,0) foi utilizado para solubilizar as soluções de eritromicina, gentamicina e neomicina, porém para a nistatina utilizou-se o tampão 4 (pH 6,0). As concentrações finais das soluções da amostra 1 e 2 e o padrão 1 e 2 foram para a eritromicina e neomicina 2,0 mg/mg (P_1 e A_1) e 1,0 µg/mg (P_2 e A_2), respectivamente; enquanto que para a gentamicina foi de 0,1 µg/mg (P_1 e A_1) e 0,2 µg/mg (P_2 e A_2) e para a nistatina, 40 UI/mL (A_1 e P_1) e 20 UI/mL (P_2 e A_2) (Farmacopéia Brasileira, 1988).

A composição dos tampões foi: *Tampão 2* (Tampão de fosfato de potássio a 0,1M, pH 8,0) – fosfato de potássio dibásico (Synth[®]) 16,73 g; fosfato de potássio monobásico (Synth[®]) 0,523 g; água desionizada para 1000 mL e ajuste de pH para 7,9 – 8,1, com ácido fosfórico (Synth[®]) 6 M ou hidróxido de potássio (Synth[®]) 10 M e *Tampão 4* (Tampão de fosfato de potássio a 10%, pH 6,0) – fosfato de potássio dibásico (Synth[®]) 20,0 g; fosfato de potássio monobásico (Synth[®]) 80,0 g; água desionizada para 1000 mL e ajuste de pH para 5,9 – 6,1 com ácido fosfórico (Synth[®]) 6 M ou hidróxido de potássio (Synth[®]) 10 M.

Meios de Cultura

A composição dos meios de cultura para o crescimento e conservação dos microrganismos foi: ágar para dosagem de antimicrobianos n.º 1 (Merck[®]): peptona seca (6,0 g); caseína de digestão pancreática (4,0 g); extrato de levedura (3,0 g); dextrose (1,0 g); ágar (15,0 g) e água desionizada para 1000 mL (pH final 6,6) e ágar para dosagem de antimicrobianos n.º 19 (Merck[®]): peptona seca (9,4 g); extrato de levedura (4,7 g); extrato de carne

(2,4 g); cloreto de sódio (10,0 g); dextrose (10,0 g); ágar (23,5 g) e água desionizada para 1000 mL (pH final 6,1).

Para cada antimicrobiano analisado foram utilizadas seis placas de Petri (100 x 20 mm) estéreis - três placas para o padrão (P) e três para as amostras (A) (Farmacopéia Brasileira, 1988). Após o preparo e autoclovação, os meios de cultura foram armazenados em geladeira (4 °C) por no máximo dois dias e fundidos em banho-maria a 60 °C.

As placas para a análise do antifúngico nistatina possuíam uma camada única com 15 mL (5 mM) de ágar para teste de atividade de microrganismos n.º 19 (Merck[®]) hidratado e autoclavado, contendo o inóculo. Para os demais medicamentos, utilizaram-se 20 mL do ágar para teste de atividade de microrganismos n.º 11 (Merck[®]) que é o meio n.º 1 com pH 8,0 na base e, após a sua solidificação, sobrepuseram-se 4 mL do mesmo meio de cultura com o inóculo (bicamada), homogeneizando-se de forma circular até recobrir a camada base uniformemente (Farmacopéia Brasileira, 1988; United States Pharmacopoeia, 2000).

Para o preparo do inóculo foi feita uma suspensão com 3 mL de solução fisiológica (salina) juntamente com os respectivos microrganismos em crescimento, de acordo com o recomendado à análise de cada fármaco. Utilizou-se a escala MacFarland 0,5, empregada para antibiogramas, para a padronização. As concentrações dos inóculos foram 1% aos testes da neomicina e nistatina; 1,5% para a eritromicina e 0,03% para a gentamicina. O inóculo foi adicionado ao meio de cultura na temperatura de 40 °C (Farmacopéia Brasileira, 1988; United States Pharmacopoeia, 2000).

Aplicação dos Discos de Papel

Os discos de papel de filtro com 13 mm de diâmetro esterilizados foram embebidos nas preparações de antimicrobianos e aplicados nas placas com o inóculo, opondo-se o disco da amostra de maior ($A_{1e}P_1$) à de menor ($A_{2e}P_2$) concentração, equidistantemente distribuídos. Cada disco foi embebido levemente por três vezes e pressionado contra a parede do recipiente por mais três vezes a fim de retirar o excesso do líquido. As placas com os antibióticos foram incubadas a 35 °C por 24 horas e com o antifúngico a 30 °C por 48 horas (Farmacopéia Brasileira, 1988; United States Pharmacopoeia, 2000).

Para cada amostra e padrão fez-se uma placa semeada com o inóculo, destinada ao controle em branco dos discos de papel.

Análise com Cilindros de Aço Inoxidável

As amostras de medicamentos, as cepas de microrganismos, os diluentes, os meios de cultura e as técnicas de

preparo foram as mesmas para a análise da atividade antimicrobiana de fármacos com cilindro de aço inoxidável.

Após a solidificação dos meios de cultura, foram colocados seis cilindros de aço inoxidável, com diâmetro externo de $8 \pm 0,1$ mm, diâmetro interno de $6 \pm 0,1$ mm e comprimento de $10 \pm 0,1$ mm sobre a superfície do ágar inoculado com os microrganismos, para se inserir as soluções em análise (0,2 mL) e medir os halos de inibição formados, calculando-se os resultados como na metodologia dos discos de papel (Farmacopéia Brasileira, 1988).

Crítérios de Avaliação da Leitura

A leitura dos resultados foi realizada com contador de colônias (Biomatic®) e paquímetro (Mitutoyo®) mediador do diâmetro das zonas de inibição produzidos ao redor dos discos de antimicrobianos (Farmacopéia Brasileira, 1988).

As porcentagens de princípio ativo e a atividade antimicrobiana dos fármacos foram calculadas da seguinte forma:

$$\log m = 0,30103 \left[\frac{x A_1 + x A_2 - x P_1 - x P_2}{x A_1 - x A_2 + x P_1 - x P_2} \right]$$

em que:

$x P_1$ = média dos diâmetros dos halos de inibição do padrão 1 (maior concentração)

$x P_2$ = média dos diâmetros dos halos de inibição do padrão 2 (menor concentração)

$x A_1$ = média dos diâmetros dos halos de inibição da amostra 1 (maior concentração)

$x A_2$ = média dos diâmetros dos halos de inibição da amostra 2 (menor concentração)

$$\text{Atividade Antimicrobiana (AA)} = \log m \times 100$$

As amostras dos lotes de antimicrobianos analisadas foram remetidas para o Laboratório Cultura em Santo André/SP para controle de qualidade microbiológico, que realizou o método da determinação da atividade antimicrobiana de fármacos utilizando cilindros de aço inoxidável, sendo posteriormente analisados por testes estatísticos de comparação de médias como os resultados deste estudo.

Análise Estatística

Os resultados foram analisados utilizando-se os testes paramétricos de distribuição normal de Fisher (1924) e teste de Student (1908), com nível de significância de 5% ($p=0,05$) (Beiguelman, 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, através das técnicas farmacopéicas de difusão em ágar por discos e cilindros, verificou-se a atividade antimicrobiana de quatro fármacos: nistatina, gentamicina, eritromicina e neomicina mediante os microrganismos: *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 2601), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Micrococcus luteus* (ATCC 9341) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), respectivamente.

Os tamanhos dos halos de inibição dos microrganismos foram observados mediante dois testes de difusão em ágar utilizando-se discos de papel e cilindros de aço inoxidável, dois métodos amplamente utilizados em controle de qualidade industrial, de acordo com a Figura 1.

A média de atividade (IC 95%) para cada um dos fármacos foi: para a nistatina creme vaginal 1493,78 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para os discos e 1486,02 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para os cilindros; para a eritromicina comprimidos 681,85 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para os discos e 678,94 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para os cilindros; para a eritromicina suspensão de 675,96 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para os discos e 674,99 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para os cilindros; para a neomicina creme obtiveram-se 667,92 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para os discos e 668,93 $\mu\text{g}/\text{mg}$ junto aos cilindros e para a gentamicina injetável 615,90 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para os discos e 616,21 $\mu\text{g}/\text{mg}$ nos cilindros, como na Tabela III.

Verificou-se a existência de diferenças entre os métodos dos discos e cilindros para o fármaco nistatina no teste estatístico de *Student*, o que não se detectou no teste estatístico de Fisher; recomenda-se então que o teste de avaliação da atividade antimicrobiana através dos discos pode, apesar da diferença pouco significativa para $p = 0,05$, substituir a análise através dos cilindros de aço inoxidável.

Aos demais fármacos: eritromicina, neomicina e gentamicina, que nos dois testes estatísticos apresentaram resultados semelhantes, recomenda-se portanto que os dois métodos de análise da atividade antimicrobiana podem ser intercambiados com a mesma confiabilidade de resultados no controle de qualidade microbiológico nas indústrias farmacêuticas.

As Figuras 2 e 3 mostram as curvas de distribuição normal de frequência dos fármacos, comparando-se os dois métodos de análise em discos de papel e cilindros de aço inoxidável. As curvas dos fármacos eritromicina suspensão, neomicina creme e gentamicina injetável normalmente se sobrepõem, indicando que as análises obtiveram resultados similares. Para o fármaco eritromicina comprimidos, as curvas se sobrepõem em pontos específicos, indicando diferenças entre os testes (não significativas a $p \leq 0,05$) e para a nistatina, há diferenças pouco significativas (para $p \leq 0,05$) entre as curvas em diversos pontos.

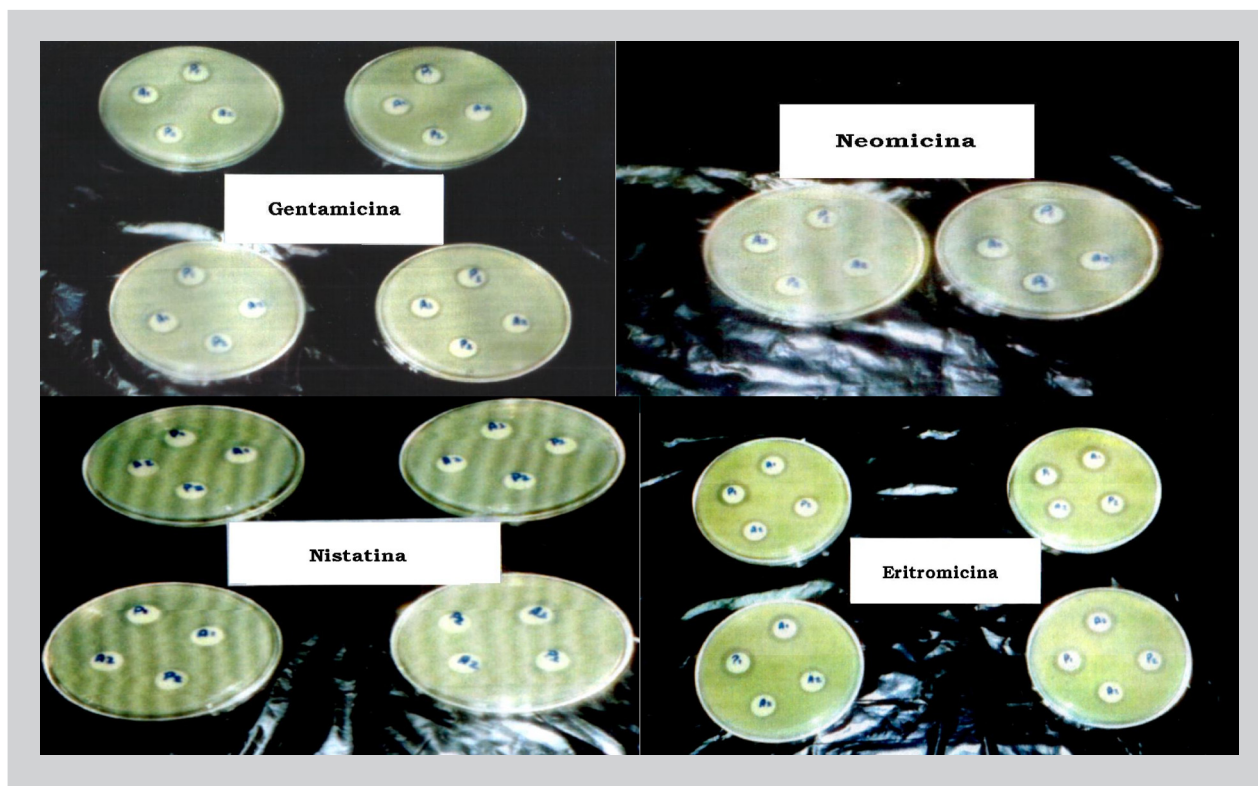


FIGURA 1 - Placas com discos de papel testando a atividade antimicrobiana.

TABELA III - Atividade antimicrobiana dos fármacos nistatina, eritromicina, neomicina e gentamicina, em mg/mg do medicamento, obtidas pelas técnicas farmacopéicas dos discos e cilindros em Anápolis/GO, 2001

Fármaco	Nº amostras	Discos			Cilindros			Análise de Variância		Teste t Dados pareados	
		Média (I.C. 95%)	Desvio Padrão	C.V. %	Média (I.C. 95%)	Desvio Padrão	C.V. %	(F) ¹	P ²	Valor t calculado ³	P ⁴
Nistatina (creme vaginal)	43	1493,784 ±6,781	22,035	1,475	1486,023 ±7,270	23,623	1,590	2,482	0,119	2,018	0,003
Eritromicina (comprimidos)	14	681,854 ±5,954	10,312	1,512	678,949 ±4,819	8,346	1,229	4,225	0,420	2,160	0,080
Eritromicina (suspensão)	9	675,964 ±17,950	23,352	3,455	674,999 ±18,478	24,039	3,561	4,494	0,932	2,306	0,607
Neomicina (creme)	24	667,920 ±4,990	11,817	1,769	668,939 ±4,010	9,498	1,420	0,108	0,743	2,069	0,439
Gentamicina (injetável)	33	615,903 ±5,098	14,378	2,334	616,213 ±5,005	14,114	2,290	0,008	0,930	2,037	0,780

¹Teste F (Beiguelman, 1996); ²Probabilidade associada a F; ³Teste t para diferenças entre pares de observações (Student, 1908); ⁴Probabilidade associada a t.

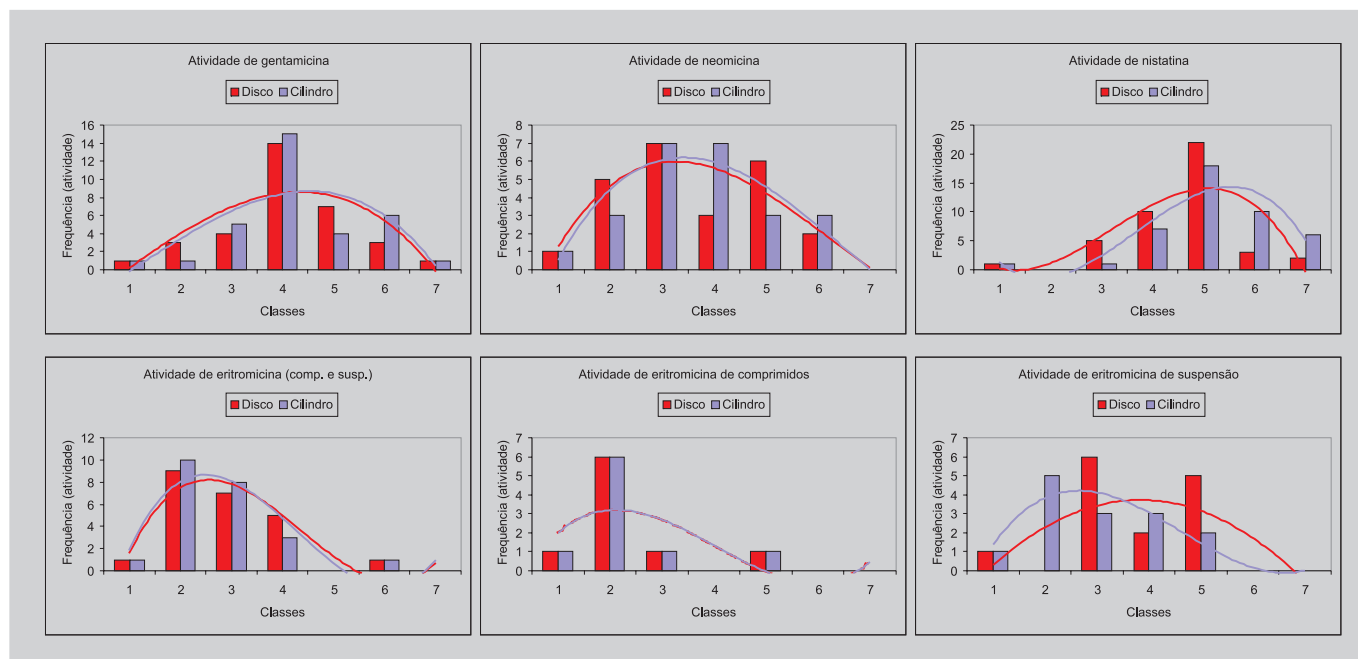


FIGURA 2 - Distribuições das freqüências das atividades dos fármacos eritromicina, gentamicina, neomicina e nistatina, obtidas pelas técnicas farmacopéicas de difusão em discos e cilindros em Anápolis/GO, 2001.

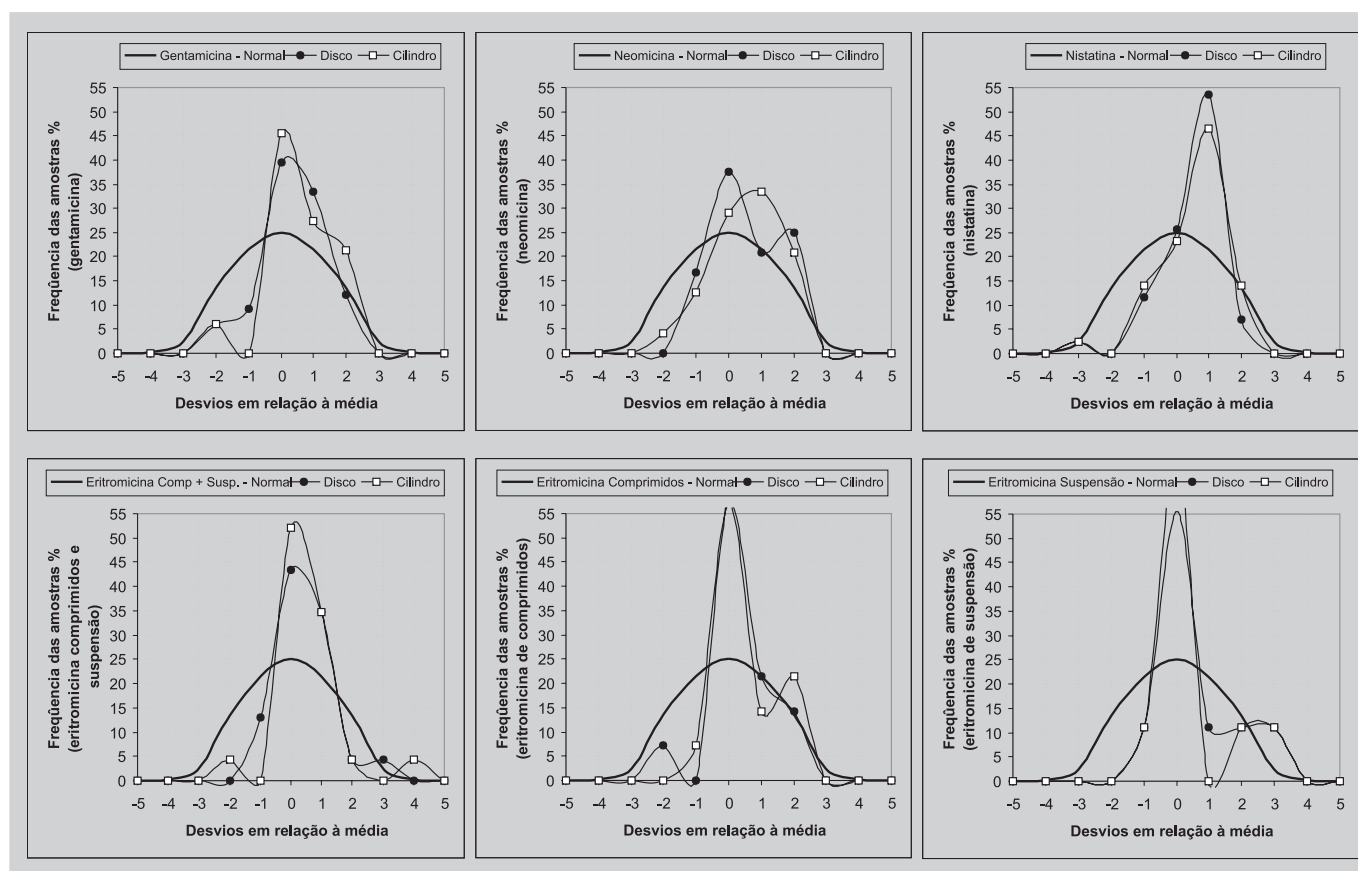


FIGURA 3 - Curvas de distribuição de freqüência das atividades dos fármacos eritromicina, gentamicina, neomicina e nistatina, obtidas pelas técnicas farmacopéicas de difusão em discos e cilindros em Anápolis/GO, 2001.

CONCLUSÃO

O método de análise de atividade antimicrobiana por difusão em ágar com discos de papel pode substituir o método de difusão em ágar com cilindros de aço inoxidável para medicamentos antimicrobianos contendo os fármacos: eritromicina, gentamicina, neomicina e nistatina.

ABSTRACT

Comparison of two pharmacopeical thecnics to the evaluation of the antimicrobial activity of the drugs: nystatin, erythromycin, neomycin and gentamicin

Through the diffusion techniques in culture media with paper disc and stainless steel cylinders the antimicrobial activity in 123 pharmaceutical preparations was evaluated: nystatin (43 samples of vaginal cream), erythromycin (14 samples of tablets and 9 of oral suspension), gentamicin (33 samples of injectable liquid) and neomycin (24 samples of cream of topic use), against the microorganisms: Saccharomyces cerevisiae ATCC 2601 to nystatin; Staphylococcus epidermidis 12228 to gentamicin and neomycin, and Micrococcus luteus ATCC 9341 to erythromycin. The preparation of the test organisms, standard solution, test solutions and culture media in both methods followed the recomendations of Brazilian Pharmacopoeia IV (1988) and United States Pharmacopoeia 24 (2000). The results was statically analysed by tests of Fisher ($p=0,05$) and Student ($p=0,05$). Among the 43 samples of vaginal cream nystatin analysed, checked out by the Student's test, differences of antimicrobial activity between methods of disc and cylinder were observed. However, the Fisher's test does not presented difference. The samples of erythromycin, gentamicin and neomycin did not show any difference when submitted to Fisher and Student tests in conclusion, to the erythromycin, gentamicin, neomycin and nystatin, the analysis of antimicrobial activity by the technique of paper discs can substitute the technique of the cylinders of stainless steel.

UNITERMS: Antimicrobial activity. Nystatin. Erythromycin. Neomicyn. Gentamicin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEIGUELMAN, B. *Curso prático de bioestatística*. 4. ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1996. 231p.
- CARVALHO, C.B.M.; JURGENSEN, C.A. Antimicrobial susceptibility testing: disk diffusion method for bile-resistance *Bacteroides*. *Rev. Bras. Patol. Clínica, São Paulo*, v. 27, n.1, p. 11-15, 1991.
- CRUZ, A. S. ; FIGUEIREDO, C. A.; IKEDA, T. I.; VASCONCELOS, A. C. E.; CARDOSO, J. B.; GOMES, L. F. S. Comparação de métodos para testar a citotoxicidade *in vitro* de materiais biocompatíveis. *Rev. Saúde Pública, São Paulo*, v.32, n.2, p. 1-2, 1998.
- DICIONÁRIO de especialidades farmacêuticas. 29. ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 2000. 1186 p.
- FARMACOPOEIA internacional. 3. ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1989. p. 126,151,221,238.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo: Ind. Gráfica Siqueira, 1988. p.1-17.
- FROEHLICH, P. E.; SCHAPOVAL, E. E. S. Doseamento microbiológico do norfloxacino: método de difusão em ágar (cilindros em placas). *Rev. Ciênc. Farm.*, São Paulo, v.12, p. 161-165, 1990.
- KALANT, H.; ROSCHLAU, W.H.E. *Princípios de farmacologia médica*. 5. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara-Koogan, 1991. p.437-466.
- KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. *Química Farmacêutica*. São Paulo: Guanabara- Koogan, 1988. p.455-463.
- MAMIZUKA, E.M.; MOURA, R.A.A.; PAVAN, M.F.; EBNER, P.A.R. Controle de qualidade da prova de sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo, São Paulo*, v.19, n. 2, p. 161-174, 1983.
- MARQUES, C.M.F.; HACKMANN, E.R.M.; SAITO, T. Doseamento microbiológico de neomicina: influência do volume no meio de cultura. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo., São Paulo*, v.24, n.1, p.12-18, 1988.
- MENDES, C.M.F. Avaliação da atividade *in vitro* do cefetamet e outros agentes antimicrobianos diante de bactérias isoladas de infecções do trato respiratório. *Rev. Assoc. Méd. Bras.*, São Paulo, v.43, n.1, p.47-52, 1997.

- MORELL, G. M.; REYES. M. C.; LÓPEZ, T. A. Determinación de la potencia microbiológica de nistatina en presencia de cloruro de benzalconio y cloranfenicol en tabletas vaginales. *Rev. Cuba Farm.*, Havana, v.21, n.1, p.71-80, 1987.
- OLIVEIRA, G. A.; LEVY, C.E.; MAMIZUKA, E. M. Study of the resistance profile of 626 strains of *Saphylococcus aureus* isolated in 25 Brazilian Hospitals from September/95 do June/97. *J. Bras. Patolog.*, São Paulo, v.36, n.3, p.147-56, 2000.
- ORGANIZACIÓN mundial de la salud. *Pruebas básicas - medicamentos*. Ginebra, p. 44-45, 58-59, 1999.
- PAREDES, K. M. A.; CARRANZA, G. S. R. *Control de cualidad microbiológico de los fármacos*. Lima, 1993. 126 p.
- PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. *Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos*. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 245-271
- RANALI, J.; BIRAL, R. R. Avaliação da atividade antimicrobiana de soluções farmacêuticas comerciais utilizadas como colutório: estudo *in vitro*. *Rev. Paul. Odontol.*, São Paulo, v.11, n.1, p. 38-9, 1989.
- STUDENT (pseudônimo de William Sealey Gosset, 1876-1937). The probable error of a mean. *Biometrika*, 1908, p.1-25.
- UNITED States Pharmacopoeia – U. S. P. 24, 2000. 1 CD-Room.
- Recebido para publicação em 02 de junho de 2003.