

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
Curso de Especialização em Microbiologia**

**CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DE PRODUTOS
FARMACÊUTICOS NÃO ESTÉREIS**

Laura Gentilini Safar

**BELO HORIZONTE
2012**

Laura Gentilini Safar

**CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DE PRODUTOS
FARMACÊUTICOS NÃO ESTÉREIS**

Monografia apresentada ao departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Rosa

Co-orientadora: Profa. Dra. Mariana de Lourdes Almeida Vieira

Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos - ICB/UFMG

BELO HORIZONTE

2012

**Aos meus pais, avós e irmã,
pelo apoio incondicional e amor eterno.**

AGRADECIMENTOS

À profa. Dra. Mariana de Lourdes A. Vieira, pela atenção e competente orientação, demonstrando seriedade e profundo conhecimento do assunto tratado.

Ao prof. Dr. Luiz Henrique Rosa, pelo apoio e orientação.

Aos coordenadores e professores do curso de Pós-graduação em Microbiologia da UFMG, por instigar e aprofundar o conhecimento dos alunos.

A minha mãe, Sônia, que sempre esteve ao meu lado com idéias e esclarecimentos muito oportunos e brilhantes.

A Raquel, por suas palavras de segurança e orientação. Juntamente, com o Luiz, agradeço pelos momentos de alegria ao lado de vocês.

Aos meus avós e tios, pelo apoio, mesmo que indireto ou longínquo.

Ao Sirlei, pela compreensão e paciência.

RESUMO

O controle de qualidade é a parte das Boas Práticas de Fabricação (BPF), que são necessários e relevantes para que os produtos farmacêuticos não sejam liberados para venda ou fornecimento, até que a qualidade dos mesmos seja julgada satisfatória. O presente trabalho tem como objetivo realizar um levantamento bibliográfico a respeito do tema “controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos não estéreis” enfocando o setor farmacêutico industrial. Produtos não estéreis são aqueles nos quais se admite, conceitualmente, a presença de carga microbiana que, embora limitada, é definida por padrões microbianos descritos em compêndios oficiais e normas regulamentadoras, incluindo os limites máximos da presença de micro-organismos no produto e, entre estes, ausência de patógenos.

Assim, o texto que se segue enfatiza a importância do controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos, identifica as principais fontes de contaminação microbiana no processo produtivo industrial e os principais métodos utilizados para análise, descreve os limites microbianos preconizados pelos compêndios oficiais, considerando que o controle de qualidade microbiológico constitui-se em um dos atributos essenciais para a segurança, eficácia e aceitabilidade destes produtos.

Palavras-chave: Controle de qualidade; indústria farmacêutica; contaminação microbiana; produtos farmacêuticos não estéreis

ABSTRACT

Quality control is part of Good Manufacturing Practices (GMP), that are relevant and necessary for that pharmaceuticals are not released for sale or supply until their quality is considered satisfactory. The present study aims to conduct a literature review on the subject “microbiological quality control of non-sterile pharmaceutical products”, focusing on the pharmaceutical industry. Non-sterile products are those in which is admitted, conceptually, the presence of microbial load that, although limited, is defined by microbial standards described in official compendia and regulatory standards, including the limits on the presence of microorganisms in the product and, among these, pathogens absence.

Thus, the following text emphasizes the importance of microbiological quality control of pharmaceuticals, identifies the main sources of microbial contamination in industrial production process and the main methods used for analysis and describes the microbial limits recommended by official compendia, whereas the microbiological quality control constitutes one of the essential attributes to these products safety, efficacy and acceptability.

Key-words: Quality control, pharmaceutical industry, microbial contamination, non-sterile pharmaceutical products.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados das análises microbiológicas de matérias-primas, produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos, de 25 empresas produtoras, realizados no Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da UFJF, no período de 1999 a 2003	18
Tabela 2: Contaminantes potenciais de produtos versus atividade de água.	21
Tabela 3: Fatores de risco e fatores preventivos	23
Tabela 4: Especificações para água potável destinada ao consumo humano, vigentes na Portaria nº 518, de 25 de março de 2007.....	26
Tabela 5: Ordem decrescente de resistência dos micro-organismos	31
Tabela 6: Estabelece os limites de aceitabilidade microbiológicos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes.	38
Tabela 7: Limites microbianos para produtos não estéreis.	44
Tabela 8: Amostragem de produtos farmacêuticos não estéreis.	47
Tabela 9: Análise do produto.	48

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIHPEC	Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
AIDS	<i>Acquired Immune Deficiency Syndrome</i> ou Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPE	Boas Práticas de Engenharia
BPF e C	Boas Práticas de Fabricação e Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CQ	Controle de Qualidade
COT	Carbono Orgânico Total
FIP	<i>Section of Industrial Pharmacists</i>
GMP	<i>Good Manufacturing Practices</i>
HPPC	Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
MS	Ministério da Saúde
NMA	<i>Norwegian Medical Agency</i>
NPM	Número mais provável
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
Ph. Eur.	Farmacopéia Européia
QIQO	Química Inorgânica e Química Orgânica
SVS	Secretaria de Vigilância Sanitária

RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
TAMP	Contagem Total Viável Aeróbica
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
VMP	Valor Máximo Permitido
mL	Mililitro
m ²	Metro Cúbico
g	Gramas
µm	Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	11
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3 METODOLOGIA	15
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
4.1 IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS NÃO ESTÉREIS	16
4.2.1 <i>Matérias-Primas</i>.....	23
4.2.2 <i>Água</i>	25
4.2.3 <i>Materiais de acondicionamento</i>.....	28
4.2.4 <i>Ambiente</i>.....	29
5 CONTROLE DE CRESCIMENTO DE MICRO-ORGANISMOS	31
5.1 SANITIZANTES.....	31
5.2 CONSERVANTES.....	32
6 COMPÊNDIOS E LEGISLAÇÃO	35
7 LIMITES MICROBIANOS E MÉTODOS DE ANÁLISE PARA CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DE PRODUTOS NÃO ESTÉREIS.....	41
7.1 LIMITES MICROBIANOS	41
7.2 AMOSTRAGEM.....	46
7.3 MÉTODOS DE ANÁLISE	48
8 CONCLUSÃO	51
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A indústria de produtos farmacêuticos constitui, na atualidade, um dos segmentos mais importantes da economia mundial. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), em 2010, o setor apresentou um faturamento de R\$ 27,5 bilhões nominais, sem adição de impostos sobre as vendas, num total 12,6% maior do que em 2009 (CRF, 2011).

As exportações de produtos de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC) chegaram a US\$ 693 milhões em 2010. As importações também aumentaram, atingindo um aumento de 52,6%, em relação a 2009. Em 2010, o setor contabilizou 4.282.000 oportunidades de trabalho, mantendo um crescimento médio de 9,3% ao ano (HIGIENE, 2011).

Em 2011, as expectativas da ABIHPEC projetam um faturamento de cerca de R\$ 31,12 bilhões para o setor. Estima-se que, até 2013, o consumo per capita de produtos de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos atinja US\$ 178 milhões (HIGIENE, 2011).

Em produção, o Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking mundial e o primeiro na América Latina. O mercado internacional de cosméticos é estimado em US\$90 bilhões, divididos entre os segmentos de maquiagem (19,3%), perfumaria (54,7%) e demais produtos (26%) (CRF, 2011).

O mercado farmacêutico brasileiro de varejo deve, pelo menos, dobrar em cinco anos, de acordo com estimativa da consultoria IMS Health. Isso pode ocorrer, devido ao aumento da renda dos consumidores, o maior acesso a planos privados de saúde e ao envelhecimento da população. Até 2017, é possível que as vendas neste segmento atinjam R\$ 87 bilhões.

Em nível global, a tendência é o aumento da importância relativa dos países emergentes. Em 2006, estes países respondiam por 14% da receita global, os Estados Unidos por 41%, os principais mercados da Europa por 19%, e o Japão, por 10%. Em 2011, os emergentes passaram a representar 20% do mercado mundial, os mercados norte-americano e o europeu declinaram para, respectivamente, 34% e 17%, enquanto o Japão teve um pequeno crescimento, passando para 12%. Prevê-se um crescimento ainda maior para os países emergentes, embora a produção de insumos continue concentrada nos mercados mais desenvolvidos (CARRANÇA, 2012).

Paralelamente ao grande crescimento da produção e do consumo dos produtos farmacêuticos, observa-se, sobretudo a partir de 1960, um aumento do número de relatos de infecções associadas ao uso de medicamentos não estéreis (CHARNOCK, 2004). Isto ocorre porque os produtos farmacêuticos estão sujeitos à contaminação por micro-organismos durante o processo de fabricação. A contaminação pode originar-se das matérias-primas utilizadas ou ser introduzida durante o processo produtivo e, ainda, durante a estocagem e uso do produto. À medida em que crescem a produção, a comercialização e o consumo de produtos farmacêuticos, faz-se necessário, cada vez mais, a garantia e/ou controle da qualidade dos mesmos.

A qualidade dos produtos farmacêuticos não se limita, entretanto, ao aspecto comercial, quando visam, sobretudo, a competitividade no mercado. É, além disso, um atributo de caráter legal, ético e moral, que deve ser obrigatoriamente atendido, porque diz respeito à saúde das pessoas. O não cumprimento de especificações de qualidade consideradas indispensáveis para um determinado produto pode resultar em sérias consequências (SERRANO et al., 2005).

Assim como ocorreu o desenvolvimento dos fármacos e de produtos farmacêuticos, também cresceu a necessidade de estudos, recomendações e de padrões para se garantir a qualidade dos produtos acabados (ANSEL, 2000).

A qualidade microbiológica dos produtos farmacêuticos é definida por padrões microbianos descritos em compêndios oficiais, farmacopéias e normas regulamentadoras. Em 1969, a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou oficialmente o que se denominava *Good Manufacturing Practices* (GMP). A partir de 1978, as GMP passaram a ter aparato legal nos Estados Unidos (EUA), obrigando as empresas a cumprir tais recomendações sob pena de serem sancionadas, caso não as cumprissem. No que se refere a estudos, recomendações e normas para a garantia da qualidade e eficácia dos produtos farmacêuticos, destacam-se, ainda, os textos referentes às Boas Práticas de Fabricação (BPF).

O primeiro texto delineado com as BPF foi preparado em 1967 (WHO, 2003), em decorrência dos casos de contaminação. O controle de contaminação microbiológica integra as BPF como um importante aspecto. As BPF partem do princípio de que os produtos são manipulados visando a qualidade apropriada para o uso ao qual são destinados. E a forma mais fácil de alcançar isto é prevenindo a ocorrência de erros nas fontes de contaminação (DENYER, 1990).

Considerando que a preservação da saúde e a prevenção de danos causados por produtos usados pelo ser humano, entre eles, produtos farmacêuticos, fazem parte do campo de atuação e da responsabilidade do profissional farmacêutico, impõe-se que, ao lado da evolução científica e tecnológica dos produtos fabricados, o profissional assuma a responsabilidade técnica, por meio do domínio de todos os conhecimentos que sejam necessários para isso. Essa responsabilidade não poderá mais se restringir à forma oficial de uma imposição legal, mas deverá ser exercida efetivamente com competência, para que o consumidor possa usufruir, com segurança, dos benefícios proporcionados por estes avanços, com o menor grau de risco possível (HEEMANN et al., 2010).

Justifica-se, nesse sentido, a ênfase atribuída ao controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos, uma vez que um produto livre de micro-organismos danosos à saúde humana constitui uma exigência crescente por parte dos consumidores e órgãos responsáveis pela vigilância sanitária do país. O crescimento de micro-organismos pode provocar mudanças de cor, odor e consistência do produto, resultando no abandono do mesmo pelo consumidor e reclamações junto à empresa com consequentes perdas financeiras e de imagem da marca ou da empresa como um todo. Exames microbiológicos refletem ainda as condições higiênicas que envolvem a produção, armazenamento, transporte e manuseio destes produtos (SIQUEIRA, 2005).

Sendo assim, o texto que se segue destaca estudos, informações e normas sobre o controle de qualidade microbiológico de produtos não estéreis na indústria farmacêutica, por constituir um dos atributos essenciais para a segurança, eficácia e aceitabilidade destes produtos, bem como condição essencial para a saúde pública.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar um levantamento bibliográfico a respeito do tema “controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos não estéreis”, enfocando o setor farmacêutico industrial.

2.2 Objetivos Específicos

- Destacar a importância do controle de qualidade microbiológico em indústrias farmacêuticas tendo em vista a necessidade de se obter produtos seguros, eficazes e economicamente viáveis;
- Identificar as principais fontes de contaminação microbiana nos processos produtivos industriais;
- Caracterizar os principais métodos de controle e análise do crescimento microbiano produtos farmacêuticos não estéreis;
- Descrever os limites microbianos preconizados pelos compêndios oficiais e pela legislação atual.

3 METODOLOGIA

A metodologia deste trabalho consistiu da realização de um levantamento bibliográfico em bases de dados tais como PubMed, Medline, SciELO, portal periódicos CAPES, conselhos regionais de farmácia e ANVISA, entre outros.

Foram pesquisados artigos científicos no período de abril de 2012 a setembro de 2012 e os seguintes termos foram utilizados como palavras-chaves: microbiologia, produtos não estéreis, controle de qualidade industrial, patógenos, boas práticas de fabricação, controle microbiológico, farmacopéia, regulamentação de produtos não estéreis, controle de qualidade, água para indústria, fitoterápicos, contaminação microbiana, vigilância sanitária, cosméticos, atividade da água, materiais de acondicionamento de produtos farmacêuticos, sanitizante industrial, conservante, excipiente, estabilidade, amostragem, métodos de análise de microorganismos, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*. Foram encontradas cerca de 300 citações relacionadas a estes termos, sendo selecionados os artigos de maior interesse para esta revisão bibliográfica, indexados em revistas com fator de impacto significativo.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Importância do controle de qualidade microbiológico em produtos farmacêuticos não estéreis

O controle de qualidade microbiológico é a parte das Boas Práticas de Fabricação (BPF) referente à amostragem, especificações, ensaios, procedimentos de organização, à documentação e aos procedimentos de liberação que devem assegurar que os ensaios necessários e relevantes sejam executados e que os materiais não sejam liberados para uso, nem os produtos liberados para venda ou fornecimento, até que a qualidade dos mesmos seja julgada satisfatória. O controle de qualidade não deve limitar-se às operações laboratoriais, devendo estar envolvido em todas as decisões concernentes à qualidade de um produto (CORREA, 2003).

Produtos não estéreis são aqueles nos quais se admite, conceitualmente, a presença de carga microbiana, embora limitada, tendo em vista as características de sua utilização (PINTO et al., 2003). Como exemplo, pode-se mencionar os produtos cosméticos e os farmacêuticos tópicos e orais, que em condições ordinárias de uso terão contato com áreas portadoras da microbiota natural. A atenção ao controle de qualidade dos produtos não estéreis assegura que a carga microbiana presente no produto, seja no aspecto qualitativo ou quantitativo, não comprometa a sua qualidade final ou a segurança do paciente (PINTO et al., 2003). O objetivo imediato é comprovar a ausência de micro-organismos patogênicos e determinar o número de micro-organismos viáveis, em função dos tipos de utilização a que o produto se destina (PINTO et al., 2003).

A contaminação microbiana de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos pode ser proveniente de várias origens devido à complexidade dos processos de produção. Nos últimos anos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), tem atuado mais próxima às empresas produtoras, incluindo indústrias e farmácias de manipulação, e exigido o cumprimento das regulamentações técnicas estabelecidas e procedimentos documentados do processo de fabricação, garantindo, assim, a qualidade final do produto.

Nas farmácias de manipulação, prescrições com fórmulas contendo matérias-primas de origem vegetal têm sido cada vez mais frequentes. A diferença que existe

entre a farmácia de manipulação e a indústria farmacêutica ou cosmética é a característica de formulação magistral individualizada (YAMAMOTO, 2004). Portanto, a quantidade de matéria-prima a ser adquirida pela farmácia é menor quando comparada à produção industrial. Em função disso, as matérias-primas são fracionadas pelas empresas fornecedoras para atender a pedidos com quantidades específicas. Neste processo de fracionamento, podem ser carregados para as matérias-primas partículas viáveis e não-viáveis aumentando, dessa forma, a carga microbiana contaminante (YAMAMOTO, 2004).

No caso dos produtos fitoterápicos, o padrão microbiológico deve objetivar a sua compatibilização a níveis de qualidade mais rígidos para garantir sua idoneidade. Tendo em vista os contaminantes microbiológicos naturalmente encontrados em produtos fitoterápicos e suas condições de fabricação, a adoção de limites propostos pela *Section of Industrial Pharmacists* (FIP) para a contagem de micro-organismos aeróbios totais ($10^4/g$) e de fungos ($10^2/g$) tem sido a mais aceitável (DOMINIQUE et al., 1996).

De acordo com a via de administração desses produtos, há a necessidade de pesquisa de micro-organismos indicadores da má qualidade sanitária como *Escherichia coli* e de patogênicos como *Salmonella* sp. Uma vez que órgãos vegetais subterrâneos em contato direto com o solo estão, em geral, altamente contaminados, há elevado risco decorrente da presença destes micro-organismos para o paciente (DOMINIQUE et al., 1996).

Com relação às drogas vegetais constituídas de sementes, sugere-se a pesquisa do indicador *Aspergillus flavus*, usualmente encontrado em drogas vegetais e potencialmente toxigênico (DOMINIQUE et al, 1996). A constatação de altas contagens de contaminantes por fungos combinados à presença desta espécie são indícios de condições inadequadas de conservação e da possível existência de aflatoxinas no produto. Com a intenção de evitar este fato, recomenda-se a ausência do mesmo fungo em 10g do fitoterápico, à semelhança do que se encontra nos procedimentos preconizados pela Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2010).

Um estudo realizado por Dominique e Ohara em 1996, em que foram analisados os produtos fitoterápicos comercializados no país nesse período, apresentou como resultados, segundo padrão proposto, um total de 61,9% de produtos rejeitados, sendo 27,38% em função da carga bacteriana e 5,95% devido à

carga fúngica; 28,57% pela carga microbiana e presença de *E.coli* e *Salmonella* sp. (DOMINIQUE et al., 1996).

A Tabela 1 mostra os resultados das análises microbiológicas de matérias-primas, produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos, de 25 empresas produtoras, realizado no Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da UFJF no período de 1999 a 2003.

Tabela 1 - Resultados das análises microbiológicas de matérias-primas, produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos, de 25 empresas produtoras, realizados no Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da UFJF no período de 1999 a 2003.

	Amostras Total	
Analisadas	260	100%
Aprovadas	240	92,30%
Reprovadas	20	7,70%
Reprovadas por contagem de micro-organismos aeróbios acima do limite estabelecido	13	5%
Reprovadas por contagem de fungos acima do limite estabelecido	8	3,10%
Reprovadas por presença de <i>Escherichia coli</i>	2	0,80%
Reprovada por presença de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	1	0,40%

Fonte: YAMAMOTO et al., 2004

Para pequenas empresas produtoras e farmácias de manipulação, a implantação de laboratório de controle de qualidade microbiológico é limitada pelo investimento necessário em infra-estrutura e pessoal requeridos. Assim, a realização das análises por laboratórios de prestação de serviços possibilita o atendimento às exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (YAMAMOTO et al., 2004).

A contaminação microbiana de um produto pode acarretar alterações em suas propriedades físicas e químicas e caracteriza risco de infecção para o usuário. Assim, produtos farmacêuticos de uso oral e tópico (cápsulas, comprimidos, suspensões, soluções, cremes e adesivos, entre outros) que não têm como requerimento serem estéreis, devem estar sujeitos ao controle de contaminação microbiana (PINTO, 2003).

As conseqüências de um creme ou xampu contaminado recaem sobre o consumidor, que pode sofrer danos à saúde. A contaminação microbiana em produtos não estéreis pode ainda provocar mudanças de cor, odor e consistência, resultando no abandono do produto pelo consumidor, perdas financeiras e abalos na imagem da marca ou da empresa fabricante (SIQUEIRA, 2005).

Os produtos submetidos à vigilância sanitária, respeitando as suas particularidades, devem ser produzidos, armazenados, transportados e dispensados de forma a apresentar a segurança necessária para o seu uso ou consumo (PINTO et al., 2003). Considera-se neste caso os medicamentos, os fitoterápicos, os insumos farmacêuticos, correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, os quais devem respeitar limites microbianos (PINTO et al., 2003).

4.2 Fontes de contaminação microbiana em produtos farmacêuticos não estéreis

Os produtos farmacêuticos estão sujeitos à contaminação por micro-organismos, tais como bactérias, fungos e leveduras, durante o processo de fabricação, estocagem e uso dos produtos farmacêuticos (DENYER, et al.,1990).

A contaminação microbiana no produto pode ser proveniente do ar, dos materiais de acondicionamento e embalagem, dos equipamentos e utensílios de produção, das matérias-primas, da água utilizada no processo, do ar comprimido e do ar ambiente (condicionado ou não), ou ainda da contaminação direta pelo pessoal operacional. Os micro-organismos podem ser carreados para o interior dos equipamentos pelos produtos destinados à limpeza e sanitização, pelos líquidos utilizados para o enxágue, pelos funcionários e demais pessoas que transitam pela empresa, ou simplesmente pelo ar ambiente. A grande diversidade de micro-organismos existentes na natureza e a capacidade de sobrevivência dos mesmos em ambientes inóspitos ou em situações críticas, como a falta de nutrientes ou em

faixas extremas de pH e umidade, aumentam as possibilidades de existência de diferentes micro-organismos em produtos farmacêuticos (AMARAL, 2006).

Fatores essenciais para que se atinjam níveis adequados de qualidade microbiana no produto acabado envolvem as fontes diretas de contaminação, acarretadas por fluidos gasosos, água e demais matérias-primas, principalmente de origem natural, e material de acondicionamento (PINTO et al., 2003). Existem ainda fontes indiretas como as decorrentes de procedimentos de limpeza (borrifamento de água contaminada); de instalações inadequadas (fluxo de pessoal e material, presença de barreiras que não permitam a entrada de roedores, insetos e micro-organismos); pessoal não paramentado ou submetido a exames médicos periódicos; equipamentos com limpeza inadequada, particularmente nos pontos críticos, e sem procedimentos validados (PINTO et al., 2003).

Os produtos com composição complexa como, por exemplo, medicamentos e cosméticos, constituem fonte rica em nutrientes para o crescimento de micro-organismos. Da mesma forma, produtos com maior atividade de água comparados com amostras com baixo teor de água também favorecem o crescimento microbiano (YAMAMOTO et al., 2004).

A natureza e a frequência dos testes para detecção da contaminação microbiana variam de acordo com o produto. Certas categorias devem ser testadas rotineiramente quanto à contaminação total microbiana, tais como: produtos de origem vegetal, mineral e/ou animal, assim como produtos com elevado teor de água (soluções orais aquosas, cremes e géis, entre outros). Para as demais categorias como comprimidos, pós, cápsulas, produtos líquidos não aquosos, pomadas e supositórios, a frequência do teste pode ser estabelecida com base em dados históricos dos testes de monitoramento microbiológico, tanto ambiental quanto de equipamentos (BRASIL, 2010). Outros critérios a serem considerados seriam a carga microbiana da matéria-prima, o processo de fabricação, a formulação do produto e os resultados de determinação da atividade de água, quando aplicável. Resultados de baixa atividade de água (igual ou inferior a 0,75 medidos a 25 °C), assim como baixo ou alto pH, ausência de nutrientes e adição de conservantes ajudam a prevenir a contaminação microbiana (BRASIL, 2010). A Tabela 2 mostra os principais contaminantes microbiológicos que podem ser detectados em produtos farmacêuticos com diferentes valores de atividade de água e pH.

Tabela 2 – Contaminantes potenciais de produtos versus atividade de água.

Atividade água	pH	Principais contaminantes	Exemplos de produtos
0,98 – 1,00	5 – 9	Micro-organismo Gram positivos e negativos	Xampus, emulsões, suspensões, etc.
0,95 – 0,97	5 – 9	Micro-organismo Gram positivos e negativos (<i>Pseudomonas</i> sp com crescimento limitado)	Removedores para cabelo. Algumas pastas.
	< 5,5	Muitos micro-organismos Gram positivos e alguns Gram negativos (<i>Pseudomonas</i> sp com crescimento limitado)	Condicionador para cabelo, algumas pastas.
0,92 – 0,95	> 5,5	Muitos micro-organismos Gram positivos e poucos Gram negativos	Talcos e pó processados
	< 5,5	Muitos micro-organismos Gram positivos	Alguns pós
0,90 – 0,92	5 – 9	Micro-organismos Gram positivos (<i>Lactobacilli</i> e <i>Staphylococcus</i> spp).	Base cosmética para a face (não-aquosa)
0,80 – 0,90	5 – 9	<i>Lactobacilli</i> e <i>Staphylococcus</i> spp, fungos e leveduras	Bastões lipsticks produtos com bases não-aquosas
0,70 – 0,80	5 – 9	Fungos e leveduras	Talcos e pós
0,65 – 0,70	5 – 9	Leveduras osmotolerantes	Alguns anti-transpirantes e desodorizantes
0,60 – 0,70	5 – 9	Fungos osmotolerantes e xerofílicos	Alguns pós
<< 0,60	5 – 9	Nenhum (presença de esporos)	-

Fonte: AMARAL, 2006

A presença de micro-organismos em produtos farmacêuticos pode levar a infecções ou à degradação do produto. Observam-se mudanças na coloração da forma farmacêutica, produção de gás e formação de odores. A capacidade do micro-organismo em promover deterioração depende de sua capacidade em produzir enzimas adequadas, e o risco maior no caso de produtos farmacêuticos e cosméticos reside na extrema versatilidade de caminhos bioquímicos dos micro-organismos, possibilitando a síntese de enzimas degradativas (LUNDOV et al., 2009).

Substâncias de baixo e médio peso molecular como açúcares, aminoácidos e glicerol, são degradadas pelos caminhos metabólicos primários. A quebra de proteínas, polissacarídeos e lipídeos exigem enzimas específicas. Aquelas capazes

de hidrolisar o amido, ágar e celulose são produzidas por muitos micro-organismos incluindo *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp e *Clostridium* sp. A atividade microbiana pode também resultar na produção de toxinas ou na degradação do próprio sistema conservante. Exemplos de conservantes susceptíveis à degradação são a clorhexidina, cetrimida, fenólicos e ácido benzóico, entre outros (PINTO et al., 2003).

A maior ameaça em termos de contaminação é a presença de patógenos que possam potencialmente oferecer risco à saúde do consumidor. Micro-organismos patogênicos tais como *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* são frequentemente encontrados em cosméticos contaminados. Até mesmo as contaminações causadas por micro-organismos não patogênicos podem causar doenças sob condições específicas (LUNDOV et al., 2009). Embora, na maior parte das situações, adultos saudáveis apresentem resistência adequada a infecções, os produtos farmacêuticos são frequentemente administrados a pessoas cujas defesas se encontram prejudicadas. Esta situação pode ocorrer em pacientes com doenças como leucemia, diabetes ou AIDS. Pode também estar associada à terapia com fármacos imunossupressores, incluindo tratamento com corticosteróide ou quimioterápicos (VIEIRA, 2007).

Sendo assim, a determinação dos pontos críticos de contaminação microbiana no fluxo de manipulação ou de produção é de fundamental importância para a prevenção e/ou redução deste tipo de ocorrência (AMARAL, 2006). A Tabela 3 mostra os principais itens a serem avaliados como fatores de risco potencial à contaminação microbiana no produto final e os fatores que contribuem para a diminuição da mesma. As principais fontes de contaminação associadas ao processo produtivo são as matérias-primas, a água, os materiais de acondicionamento e o processo propriamente dito.

Tabela 3 – Fatores de risco e fatores preventivos

Fatores de risco	Fator preventivo
Matéria-prima	Qualificação de fornecedores, conservação, Controle de Qualidade (CQ).
Embalagem primária	Qualificação de fornecedores, conservação, CQ.
Água de processo	Produção, Armazenagem, Distribuição, CQ, Validação de sistema
Ar comprimido	Trocas com o ambiente Filtração, CQ, Validação de processo
Equipamentos	Qualificação dos desenhos e materiais sanitários, Química Orgânica e Química Inorgânica (QOQI)
Utensílios de produção	Desenhos e materiais sanitários, CQ
Utensílios de limpeza	Desenhos e materiais sanitários, CQ

Fonte: AMARAL, 2006

4.2.1 Matérias-Primas

Matéria-prima farmacêutica é definida como qualquer substância ativa ou excipiente utilizados no processo de fabricação de uma forma farmacêutica. Esta substância pode permanecer inalterada ou sofrer qualquer modificação durante o processo. De acordo com a função no produto, as matérias-primas são classificadas em dois grupos: os ingredientes ativos com atividade farmacológica, e os excipientes que permitem sua adequação à via de administração (LA ROSA et al., 1985).

O uso de matérias-primas de boa qualidade microbiológica é um dos requisitos necessários para que as Boas Práticas de Fabricação na indústria farmacêutica sejam cumpridas. O controle de contaminação microbiológica das matérias-primas é extremamente importante, pois os micro-organismos podem contaminar o produto acabado e as instalações da indústria, causando uma poluição contínua do produto, o que, geralmente, é muito difícil de ser eliminada. Entre os ingredientes mais frequentes de contaminação dos medicamentos estão os excipientes, uma vez que eles são mais abundantes na composição de um produto (LA ROSA et al., 1985).

As matérias-primas podem ser produzidas por processos químicos sintéticos, fermentação, extração de fontes naturais, DNA recombinante e outros processos biotecnológicos, sendo que estão sujeitas à contaminação por micro-organismos que

podem causar deterioração. Os micro-organismos mais isolados nessas matérias-primas compreendem tanto bactérias Gram positivas e negativas, quanto fungos filamentosos e leveduras (PINTO et al., 2003).

As drogas vegetais brutas que apresentam contaminação fúngica e bacteriana podem conter, respectivamente, níveis de $10^4/g$ e $10^5/g$ sendo *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. os contaminantes mais comuns, assim como esporos do gênero *Bacillus*, e *Micrococcus* sp. e *Staphylococcus* sp. Os micro-organismos que frequentemente são isolados destas matérias-primas incluem: *Clostridium* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Bacillus* spp (PINTO et al., 2003).

La Rosa e colaboradores (1995) estudaram a qualidade microbiológica de diferentes excipientes utilizados na indústria para a produção de produtos farmacêuticos não estéreis, além de terem verificado se estas matérias-primas estavam em consonância com as especificações microbiológicas da Farmacopéia Européia (LA ROSA et al., 1985). Foram analisadas um total de 115 amostras farmacêuticas: 36 de lactose, 27 de talco, 19 de amido de milho, 18 de goma arábica, oito de gelatina, três de amido gelatinizado, três de celulose e uma de goma de tragacanto.

Em nenhuma das amostras analisadas por estes autores, *Escherichia coli* ou *Salmonella-Shigella* foram detectados. No entanto, *Enterobacter* sp., *Serratia* sp. e *Proteus* sp foram isoladas a partir de 10 amostras de cinco excipientes diferentes. Apenas cinco amostras não estavam em conformidade com os padrões microbiológicos estabelecidos pela Farmacopéia Européia (LA ROSA et al., 1985).

Os autores observaram ainda que os micro-organismos isolados com maior frequência nas matérias-primas farmacêuticas foram aqueles com muito pouca exigência nutricional. No entanto, o número e o tipo destes micro-organismos depende, basicamente, da origem da matéria-prima (LA ROSA et al., 1985). Os autores recomendam, portanto, que seria adequado, que as matérias-primas fossem classificadas em grupos de acordo com sua origem e sua utilização no processo produtivo, de modo a facilitar sua análise. As normas e padrões microbiológicos a serem adotados devem ser, portanto, adequados aos diferentes grupos existentes (LA ROSA et al., 1995).

Outra fonte de contaminação dos produtos farmacêuticos não estéreis é a água, tanto a introduzida durante o processo de produção, quando a utilizada em

processos de limpeza e sanitização. A água é uma matéria-prima fundamental para a prática farmacêutica e extremamente susceptível à contaminação microbiológica.

4.2.2 Água

A água é de fundamental importância para a indústria farmacêutica, uma vez que é usada nos processos de limpeza de materiais e superfícies, sendo também um dos componentes mais representativos de formulações farmacêuticas e cosméticas.

Devido a esta importância, a água deve ser analisada em sua composição, pois é um solvente universal e pode carrear consigo algumas substâncias que comprometem não somente a qualidade dos medicamentos, mas também a vida útil dos sistemas de tratamento de água (RIGOLIN, 2009).

A água de uso industrial é proveniente da rede de abastecimento local ou de poços artesianos. Em ambos os casos é usual que a sua qualidade microbiana seja satisfatória. No caso de abastecimento urbano, o cloro é o agente responsável pela baixa carga microbiana. A coleta da água para análise deve ser sempre feita dos pontos mais distantes, de forma a apresentar a condição de maior risco, já que em locais mais afastados a concentração do cloro empregada pode não ser efetiva (PINTO et al., 2003).

Um grande desafio à qualidade da água são os contaminantes representados principalmente por bactérias e fungos. São originários da própria microbiota da fonte de água e, também, de alguns equipamentos de purificação. Podem surgir, também, devido a procedimentos de limpeza e sanitização inadequados, que levam à formação de biofilmes e, por consequência, instalam um ciclo contínuo de crescimento a partir de compostos orgânicos que, em última análise, são os próprios nutrientes para os micro-organismos. São detectados e quantificados por filtração em membrana com porosidade de 0,45 µm, para cultura posterior do filtro em meio adequado (BRASIL, 2010).

As bactérias podem afetar a qualidade da água por desativar reagentes ou alterar substratos por ação enzimática, aumentar o conteúdo em COT (Carbono Orgânico Total), alterar a linha de base (ruído de fundo) em análises espectrais e produzir pirogênios e endotoxinas (BRASIL, 2010). A contagem de bactérias é reportada em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) e, em geral,

aumenta com o tempo de estocagem da água. Os contaminantes mais frequentes são bastonetes gram-negativos, principalmente dos gêneros *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Aeromonas* e *Acinetobacter* (BRASIL, 2010).

No âmbito internacional, enquanto são definidos os limites rígidos do ponto de vista químico, os níveis de carga microbiana para água de uso industrial inexistem, exceto ao se referir à água estéril. Esta situação tem sido contornada por cada empresa pela adoção do seu próprio padrão interno (PINTO et al., 2003).

Assim como em outros países, no Brasil há uma maior preocupação quanto às especificações para água potável destinada ao consumo humano, vigentes na Portaria nº 518, de 25 de março de 2007. Em suma, para efeito dessa Portaria, água potável é traduzida pela ausência de coliformes fecais em 100 mL de amostra e ausência de bactérias do grupo coliformes totais e termotolerantes (micro-organismos patogênicos de origem fecal), em 100 mL quando a amostra é coletada na entrada da rede de distribuição, além de atender aos limites de radioatividade, como descritos na Tabela 4 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004):

Tabela 4 – Especificações para água potável destinada ao consumo humano, vigentes na Portaria nº 518, de 25 de março de 2007

PARAMETRO	VMP
Água para consumo humano (2)	
<i>Escherichia coli</i> ou coliformes termotolerantes(3)	Ausência em 100ml
Água na saída do tratamento	
Coliformes totais	Ausência em 100 ml
Água tratada no sistema de distribuição (reservatório e rede)	
<i>Escherichia coli</i> ou coliformes termotolerantes	Ausência em 100ml Sistemas que analisam 40 ou mais amostras por mês: ausência em 100ml em 95% dos amostras examinadas no mês;
Coliformes totais	Sistemas que analisam menos de 40 amostras por mês: apenas uma amostra poderá apresentar mensalmente resultado positivo em 100ml

Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004

Notas: (1) Valor máximo permitido

(2) Água para consumo humano em toda e qualquer situação, incluindo fontes individuais como poços, minas, nascentes, dentre outras.

(3) a detecção de *Escherichia coli* deve ser preferencialmente adotada.

Os tipos de água para uso farmacêutico são a água purificada resultante dos processos de deionização, osmose reversa e destilação. A água deionizada é a forma mais comum de água para produtos farmacêuticos não estéreis, apesar de poder apresentar níveis de contaminação elevados. Os sistemas de deionização produzem água purificada de uso rotineiro, por meio de resinas de troca iônica específicas para cátions ou para ânions. São polímeros orgânicos, geralmente sulfonados, na forma de pequenas partículas. As resinas catiônicas capturam os íons liberando o íon H^+ na água e as aniônicas liberam OH^- . São regeneráveis com ácidos e bases. Em ambos os casos, é necessário ter um controle sobre a geração de partículas decorrente das regenerações sucessivas, além de micro-organismos. Isso pode ser realizado, controlando-se as regenerações, utilizando-se recirculação da água e aplicando-se radiação UV para o controle de micro-organismos na saída, cuja eficácia precisa ser comprovada (RIGOLIN, 2009).

A osmose reversa é uma tecnologia de purificação baseada em membranas semipermeáveis e com propriedades especiais de remoção de íons, micro-organismos e endotoxinas bacterianas. Remove de 90% a 99% da maioria dos contaminantes. Entretanto, diversos fatores, como pH, pressão diferencial ao longo da membrana, temperatura, tipo do polímero da membrana e a própria construção dos cartuchos de osmose reversa podem afetar significativamente essa separação. As membranas de osmose reversa devem ser devidamente controladas quanto à formação de incrustações provenientes de sais de cálcio, magnésio e outros, e de biofilme. Por isso, é imprescindível instalar um sistema de pré-tratamento antes da osmose reversa, que remova partículas e agentes oxidantes e, em paralelo, deve fazer-se, periodicamente, a sanitização do sistema. Essa prática ajuda a aumentar a vida útil das membranas e reduz a frequência de sua regeneração (RIGOLIN, 2009).

Em instalações industriais, por último, pode haver destiladores simples, de múltiplos efeitos e os de compressão de vapor, que são usados, em geral, para sistemas de produção de grandes volumes. A água de alimentação para esses equipamentos requer controles diferentes daqueles usados em osmose reversa. Nesse caso, a concentração de silicatos é crítica, como em qualquer sistema de geração de vapor. Outro aspecto importante é a possibilidade de carreamento de compostos voláteis no condensado. Isso é especialmente importante no que se refere a impurezas orgânicas, como trihalometanos e gases dissolvidos na água, como dióxido de carbono e amônia. Assim, o controle da água potável de entrada,

conforme mencionado sobre a água de alimentação para sistemas de purificação, é fundamental (RIGOLIN, 2009).

Além das matérias-primas e da água, outro agente de contaminação microbiana a ser analisado são os materiais de acondicionamento utilizados na indústria farmacêutica.

4.2.3 Materiais de acondicionamento

A embalagem para produtos farmacêuticos pode ser definida como um conjunto de operações, processos, materiais, equipamentos e mão-de-obra utilizados para acondicionar, proteger, transportar, informar e vender o produto acabado, até o ponto de venda e de utilização, atendendo às necessidades dos consumidores finais a um custo acessível (LAURENTIS, 2010).

Os produtos farmacêuticos, assim como os produtos alimentícios, são sensíveis e requerem maiores cuidados com as suas embalagens. Segurança e integridade são itens muito importantes, e a função mais relevante da embalagem farmacêutica é proteger o produto contra danos físicos (choques, batidas, amassamentos etc.), deterioração química causada por processos mecânicos (durante o processo de produção, transporte ou estocagem) e deterioração química causada por condições climáticas adversas (LAURENTIS, 2010).

As exigências dos consumidores e de agências reguladoras, associadas à necessidade de embalagens mais eficientes, seguras e com boa qualidade microbiana conduziram à obtenção de embalagens que garantam a integridade do produto e a saúde do usuário. Entretanto, a embalagem pode ser fonte de contaminação quando não obedece aos critérios de qualidade preconizados (FIORENTINO et al., 2008).

A embalagem deve proteger o produto do ambiente, minimizar as perdas dos seus constituintes, não interferir química e fisicamente com seus componentes, facilitar o transporte, possuir dosadores corretos, ser compatível com o tempo de validade do produto acondicionado, ser de fácil aquisição, produção e manuseio, bem como ter custo adequado e impedir adulterações e falsificações do produto (FIORENTINO et al., 2008).

No caso de frascos destinados ao acondicionamento dos produtos não estéreis, questões associadas a custo assim como aspectos técnicos, isentam da

necessidade de característica estéril. A remoção de resíduos, eventualmente contidos em seu interior por processo de lavagem leva a ponderações quanto à qualidade da água empregada, e à condição de secagem, de forma a não privilegiar o desenvolvimento microbiano. Em particular, nos frascos plásticos de limitada resistência térmica o processo merece atenção (PINTO et al., 2003).

A contaminação acidental pode decorrer do material de cartonagem, durante os processos de embalagem, estocagem e transporte. Agentes de contaminação constituem-se principalmente em esporos de *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Bacillus* spp. Laminados, elementos metálicos e materiais para blísteres, em decorrência de etapa do processamento, apresentam no geral, baixas contagens microbianas, podendo, entretanto, receber carga contaminante em decorrência de más condições de estocagem (PINTO et al., 2003). O controle das fontes de contaminação microbiana na indústria farmacêutica é ponto fundamental no programa das BPF. Além das fontes anteriormente citadas, deve-se observar, por fim, os cuidados e as normas de controle microbiológico relativas ao ambiente.

4.2.4 Ambiente

A ocorrência de contaminação microbiológica no processo de fabricação de produtos farmacêuticos pode ser minimizada com o auxílio das Boas Práticas de Engenharia (BPE), por meio de projetos que visam cumprir as normas das BPF. Os materiais de construção das salas limpas não devem gerar ou reter partículas, e devem apresentar resistência aos agentes de limpeza e sanitização. A contaminação microbiológica varia com o tipo de contaminante e do produto que foi contaminado. O risco de se encontrar materiais contaminantes reside não só na construção das salas, mas também no sistema de tratamento e de circulação do ar (VENERANDA, 2004).

Na fabricação de sólidos, assim como de semi-sólidos e líquidos a contaminação decorrente do ambiente é representada, predominantemente, por esporos de *Bacillus* sp. e de fungos da poeira ambiental, juntamente com micrococos e estafilococos de escamas de pele liberadas pelos operadores (PINTO et al., 2003).

A água é o principal agente de contaminação, pois é empregada na produção e na limpeza da planta fabril. Água do piso e dos drenos durante lavagem das áreas

possibilita que *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp. e outras bactérias Gram negativas se desenvolvam facilmente. Superfícies lisas seriam ideais para que a água fosse facilmente drenada e a secagem eficiente (PINTO et al., 2003).

Em paredes secas, os contaminantes mais comuns são os bacilos Gram positivos, cocos e fungos. Em áreas úmidas, particularmente, ocorrem acúmulo e proliferação de *Pseudomonas* e *Acinetobacter*. A contaminação derivada de operadores é normalmente significativa. Durante atividades normais, a perda de escamas da pele é da ordem de 10^4 por minuto. Os contaminantes por elas transportados são micrococos não patogênicos, difteróides e estafilococos, assim como *Salmonella* sp e *Escherichia coli* também podem estar presentes associados a hábitos de higiene dos operadores (PINTO et al., 2003)

5 CONTROLE DE CRESCIMENTO DE MICRO-ORGANISMOS

“Controle de Crescimento” significa prevenir o crescimento de micro-organismos. Este controle representa dois caminhos básicos: exterminar ou inibir o crescimento de micro-organismos. Tal controle geralmente envolve o uso de agentes químicos ou físicos (DELGADO, 2003). A natureza do micro-organismo é um dos principais parâmetros a serem avaliados antes da escolha do agente desinfetante e do conservante. Muitas classes de micro-organismos são resistentes, limitando o número de ativos disponíveis. De forma genérica, a ordem de resistência decrescente é descrita na Tabela 5.

Tabela 5 – Ordem decrescente de resistência dos micro-organismos

	Esporos bacterianos
<i>Bacillus subtilis</i>	
<i>Clostridium sporogenes</i>	
Mycobacteria	
<i>Mycobacterium tuberculosis var. bovis</i>	
<i>Mycobacteria não tuberculoso</i>	
	Vírus não lipídicos
	Fungos
	Leveduras
	Bactérias vegetativas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Straphyococcus aereus</i>	
<i>Salmonela cholearaesuis</i>	
<i>Enterococci</i>	
	Outros vírus

Fonte: OLIVEIRA, 2005

5.1 Sanitizantes

As áreas e equipamentos devem ser projetados de forma a facilitar a limpeza/desinfecção. Os pontos críticos dos mesmos devem ser criteriosamente avaliados durante a validação de limpeza/desinfecção. Como regra básica, quanto mais concentrado, maior a ação do produto e menor o tempo de exposição ao agente. Contudo, como a maioria das substâncias é tóxica em concentrações

elevadas, devemos nos basear em estudos científicos para determinar as concentrações e tempos de exposições ideais (AMARAL, 2002).

Bactérias derivadas da pele-humana, assim como cocos Gram positivos, são indicativas de técnicas insuficientes de paramentação, deficiência de técnica asséptica e intervenções humanas no núcleo/centro asséptico. O isolamento de bactérias formadoras de esporos pode sugerir que agentes esporocidas sejam usados mais frequentemente na rotação do desinfetante, já que estes organismos são amplamente resistentes a compostos quaternários de amônio. Isolamento de fungos pode estar associado com controle insuficiente da umidade e/ou prejuízo nas instalações de água (CUNDELL, 2006).

As amostras para testes microbiológicos devem ser coletadas durante todo o procedimento de sanitização, para auxiliar na seleção e confirmação da eficiência dos desinfetantes e detergentes empregados. É fundamental determinar o tipo de micro-organismo presente e é necessário demonstrar a ausência de micro-organismos considerados indicadores como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* em todos os locais monitorados. No caso de processos de produção de estéreis, o nível de contaminação microbiológica da água de lavagem deve ser de 10 UFC/ 100 mL. No caso de produtos não estéreis, a contaminação microbiológica deve estar em níveis abaixo de 200 UFC/100 m² (NEVES, 2009).

Uma das formas de controlar o crescimento da contaminação de produtos farmacêuticos é através do uso correto de desinfetantes e anti-sépticos. Um rodízio entre as substâncias ativas é recomendável para que não se crie cepas resistentes a determinado agente. É desejável que todos os processos sejam validados no quesito limpeza e desinfecção, com controles periódicos pelo laboratório de controle de qualidade (AMARAL, 2002).

5.2 Conservantes

As formulações farmacêuticas devem ser submetidas a estudos de estabilidade para monitorar a concentração e a eficiência dos agentes conservantes presentes nos produtos. Para se manter a estabilidade microbiológica são usados agentes antimicrobianos e antifúngicos, muitas vezes, agressivos para células

humanas e animais. Conservantes podem ser definidos, portanto, como excipientes capazes de reduzir a proliferação microbiana (VILLANOVA, 2009).

Um fator limitante do emprego destes excipientes é a sua toxicidade, por isso devem ser adicionados aos produtos farmacêuticos em pequenas quantidades. A eficácia dos conservantes depende de sua concentração, assim, é necessário observar uma concentração inibitória mínima (CMI) (VILLANOVA, 2009).

Além disso, os conservantes devem apresentar amplo espectro de ação, atoxicidade e não alergenicidade nas concentrações de uso, compatibilidade com demais componentes e com o material de acondicionamento, estabilidade térmica e ausência de odor e sabor pronunciados. Outra característica importante dos conservantes é a sua distribuição entre as diferentes fases de uma formulação. (VILLANOVA, 2009).

Um “ambiente hostil” à atuação dos micro-organismos depende da escolha correta dos conservantes. Fatores como o tipo de acondicionamento do produto, o conhecimento da via de administração pretendida, o tipo de ação esperada (local e sistêmica) e o paciente ao qual o medicamento se destina, devem ser considerados. Normalmente, são feitas associações de conservantes em uma mesma fórmula, que podem apresentar diferentes efeitos sobre a população microbiana (VILLANOVA, 2009).

A principal classe de conservantes antimicrobianos são os ésteres derivados de ácido p-hidroxibenzóicos, que constituem uma série de homólogos da qual fazem parte o metil, etil, propil, butil, heptil e benzilparabenos. Além destes, há os ácidos orgânicos e seus derivados, dentre estes, incluem-se, por exemplo, o ácido sórbico, o sorbato de potássio, o ácido benzóico e o benzoato de sódio (VILLANOVA, 2009).

Álcool benzílico, álcool feniletílico, cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio, cloreto de cetilperídio, clorobutanol, fenol, nitrato de fenilmercúrio, timerosal também são conservantes antimicrobianos. Alguns conservantes, entretanto, são mais efetivos contra os fungos, como o propionato de sódio, os ácidos orgânicos e ácidos p-hidroxibenzóicos (GIL, 2007).

Na maioria dos produtos, os conservantes estão presentes em níveis mais baixos e seus possíveis riscos tóxicos não são o motivo imediato de preocupação, embora não se possa dizer que uma avaliação dos riscos seja desnecessária (HAYDEN, 1996).

Nenhum dos conservantes em uso pode ser considerado ideal, mesmo para um tipo específico de produto. Eles variam na eficácia, segurança e suas propriedades particulares de acordo com os atributos do produto. Em cada caso, para decidir qual o sistema de conservação mais adequado, é necessário levar em consideração o benefício a ser adquirido e as possíveis reações adversas resultantes dos conservantes utilizados. Ensaio apropriados devem ser sempre realizados para garantir a segurança do conservante usado (HAYDEN, 1996).

6 COMPÊNDIOS E LEGISLAÇÃO

O desenvolvimento e a produção de cosméticos e fármacos exigem o cumprimento de diretrizes regulamentadas a fim de evitar e prevenir os riscos na qualidade e segurança dos produtos. Nesse sentido, desde o século XVI, conjuntos de normas padronizadas para fármacos foram sendo publicadas, com o nome de “farmacopéias”.

O termo farmacopéia vem do grego *pharmakon*, que significa “fármaco” e *poiein*, que significa “fazer”, sendo que sua combinação indica uma receita ou fórmula, ou ainda outros padrões requeridos para se fazer ou preparar um medicamento. A palavra foi usada pela primeira vez em 1580, em conjunto com um livro local de padrões para fármacos, em Bérgamo, na Itália. Desde aquele tempo, foram publicadas diversas farmacopéias municipais, estaduais e nacionais, por várias sociedades européias de farmácia. Com o passar do tempo, o valor de um conjunto uniforme de padrões nacionais foi evidenciado. Nos Estados Unidos, foram criados padrões para os fármacos em caráter nacional em 1820, quando foi publicada a primeira Farmacopéia dos Estados Unidos (*USP, United States Pharmacopeia*). Em 1938, houve a criação da *Food and Drug Administration (FDA)*, órgão que regulamenta a produção e registro de medicamentos nos Estados Unidos (ANSEL, 2000).

No Brasil, em setembro de 1955 e, posteriormente em fevereiro de 1959, os então presidentes João Café Filho e Juscelino Kubitschek assinaram os Decretos nº 37.843 e nº 45.502, aprovando a segunda edição da Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil e determinando a elaboração de um Formulário Nacional. Justificava a existência de um formulário o fato da necessidade de se adequar à nova ordem mundial ditada, principalmente, pela *Pharmacopeia Internacional*, da Organização Mundial da Saúde, que foi acolhida pelo Brasil no 2º Congresso Pan-Americano de Farmácia e Bioquímica realizado no Peru, em 1951 (BRASIL, 2011).

Ao mesmo tempo, a não menos importante Farmacopéia dos Estados Unidos da América já delineava o perfil legal de um código farmacêutico no qual deveriam estar indicados os parâmetros de qualidade de fármacos e insumos farmacêuticos utilizados na fabricação de medicamentos e de produtos para a saúde (BRASIL, 2011).

Seguindo a tendência, o Brasil adotou a mesma postura elaborando uma farmacopéia nacional com monografias voltadas para a avaliação qualitativa e quantitativa dos insumos farmacêuticos e indicando a transposição das fórmulas magistrais e oficinais para um formulário que abrigaria um grande número de drogas e preparações galênicas oficinais diversas, formando a base da primeira edição da farmacopéia brasileira. Somente em 2005, o país consegue publicar seu primeiro Formulário Nacional (BRASIL, 2011).

Além desses compêndios, os textos que compõem as Boas Práticas de Fabricação (BPF) também cumprem o papel de garantir a qualidade e a eficácia dos produtos farmacêuticos, ao incluir o controle de contaminação microbiológica.

O histórico das BPF no Brasil é recente. Elas passaram a ter efeito legal por meio da Portaria nº 16/95, na qual a Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS) do Ministério da Saúde (MS) determinava a todos os estabelecimentos produtores de medicamentos o cumprimento destas diretrizes.

Em 18 de agosto de 1997 foi publicada a Portaria nº 348, que determinava a todos os estabelecimentos que produziam artigos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico - Manual de Boas Práticas de Fabricação para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. Com a criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 1999, através da Lei nº 9.782/99, viu-se a necessidade de atualização das normas, e em 4 de agosto de 2003 foi publicada a RDC nº 210, que revogava a RDC nº 134/01, determinando a todos os estabelecimentos fabricantes de medicamentos o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos (TAVARES, 2008).

Os limites máximos de presença de micro-organismos nos produtos e dentre estes, ausência de patógenos, estão, normativamente, estipulados (BRASIL, 2010)

A garantia da qualidade e o controle de fabricação previstos nas boas práticas de fabricação devem garantir que o produto cumpra as especificações determinadas, isto é, que atendam, além de outros parâmetros, aos limites aceitáveis para micro-organismos. Para a realização dos testes devem ser considerados os limites microbianos, o tipo de contaminação mais provável nas diferentes categorias de produtos e a via de administração (BRASIL, 2010).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) exige que as empresas produtoras tenham implantado as normas de boas práticas de fabricação, conforme

as normas técnicas oficialmente estabelecidas. Dentre as exigências presentes nas normas, está a necessidade da realização de ensaios de controle de qualidade em todas as fases do processo de fabricação. Estas normas são dinâmicas e devem ser atualizadas para acompanhar a evolução tecnológica dos processos, novos equipamentos e gerenciamento da qualidade (YAMAMOTO et al., 2004).

As principais normas que traçam diretrizes para garantir a qualidade e a segurança dos produtos farmacêuticos são:

- Portaria nº. 348, de 18 de agosto de 1997: trata da necessidade do constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, visando a proteção à saúde da população, abordando a importância da adoção das Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPF e C) pelas empresas fabricantes de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, conforme estabelecido na Res. GMC - MERCOSUL 66/96 e a necessidade de instituir e implementar a fiscalização e a inspeção nas Indústrias. Acompanha um guia para fabricação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes no sentido de organizar e seguir a produção dos mesmos de forma segura para que os fatores humanos, técnicos e administrativos que influem sobre a qualidade dos produtos estejam efetivamente sob controle (ANVISA, 1997).
- Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999: estabelece os Parâmetros de Controle Microbiológico para os Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes para aprimorar as ações de controle de produtos sujeitos à Vigilância Sanitária e a proteção ao consumidor (ANVISA, 1999). A Tabela 6 exemplifica os limites microbiológicos aceitáveis para produtos farmacêuticos.

Tabela 6 – Estabelece os limites de aceitabilidade microbiológicos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes.

	ÁREA DE APLICAÇÃO E FAIXA ETÁRIA	LIMITES DE ACEITABILIDADE
TIPO - I	• PRODUTOS PARA USO INFANTIL	a. Contagem de micro-organismos mesófilos totais aeróbios, não mais que 102 UFC/g ou ml Limite máximo: 5 x 10 ² UFC/g ou ml
	• PRODUTOS PARA ÁREA DOS OLHOS	b. Ausência de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em 1g ou 1ml; c. Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> em 1g ou 1ml;
	• PRODUTOS QUE ENTRAM EM CONTATO COM MUCOSAS	d. Ausência de Coliformes totais e fecais em 1g ou 1ml; e. Ausência de Clostrídios sulfito redutores em 1g (exclusivamente para talcos).
TIPO - II	• DEMAIS PRODUTOS COSMÉTICOS SUSCEPTÍVEIS A CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA	a. Contagem de micro-organismos mesófilos totais aeróbios, não mais que 10 ³ UFC/g ou ml; Limite máximo: 5 x 10 ³ UFC/g ou ml b. Ausência de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em 1g ou 1ml; c. Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> em 1g ou 1ml; d. Ausência de Coliformes totais e fecais em 1g ou 1ml; e. Ausência de Clostrídios sulfito redutores em 1g (exclusivamente para talcos).

Fonte: ANVISA, 1999.

- Farmacopéia Brasileira: é o Código Oficial Farmacêutico do País, onde se estabelecem, dentre outras coisas, os requisitos mínimos de qualidade para fármacos, insumos, drogas vegetais, medicamentos e produtos para a saúde. Está em sua 5ª edição e preconiza os limites microbianos utilizados para produtos farmacêuticos não estéreis. (BRASIL, 2010).
- The United States Pharmacopeia: A Farmacopéia Americana também é utilizada para o estabelecimento de testes, requisitos e limites para fins de qualidade microbiológica. Os testes e limites preconizados são similares aos utilizados pela Farmacopéia Brasileira (THE UNITED, 2000).

- Resolução nº 210, de 04 de agosto de 2003: considerando a necessidade de atualizar as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos e as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) sobre Certificação de Qualidade de produtos farmacêuticos fez-se necessária a instituição de uma norma de inspeção para fins da verificação do cumprimento das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, nessa tem-se a descrição do roteiro de inspeção a ser seguido (ANVISA, 2003).
- Resolução RDC nº 17, de 16 de abril de 2010: estabelece os requisitos mínimos a serem seguidos na fabricação de medicamentos para padronizar a verificação do cumprimento das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF) de uso humano durante as inspeções sanitárias. Os estabelecimentos fabricantes de medicamentos devem cumprir as diretrizes desta resolução em todas as operações envolvidas na fabricação de medicamentos. Essa resolução contempla todas as etapas de fabricação, validação, documentação, higienização e sanitização, bem como o transporte, resíduos e comercialização (ANVISA, 2010).
- Decretos nº 79.094/77 e nº 3.961/01 – regulamenta a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que submete os medicamentos, insumos farmacêuticos, drogas, correlatos, cosméticos, produtos de higiene, perfumes e similares, saneantes domissanitários, produtos destinados à correção estética e os demais ao sistema de vigilância sanitária; só poderão ser extraídos, produzidos, fabricados, embalados ou reembalados, importados, exportados, armazenados, expedidos ou distribuídos, obedecido ao disposto na Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976, e neste Regulamento (BRASIL, 1977; BRASIL, 2001).

Constata-se que a legislação contempla as normas de controle de qualidade dos produtos farmacêuticos na indústria, entretanto, este controle depende dos métodos e das técnicas aplicadas em cada empresa, já que não há um padrão

obrigatório e uniforme relatado pelos compêndios brasileiros, nem mesmo mundiais. Disto resulta que empresas que fabricam especialidades farmacêuticas contendo o mesmo princípio ativo, possuem limites microbianos diferentes, aceitos pelos órgãos controladores do país. Por outro lado, as regulamentações vêm sendo constantemente revisadas, para que se atinja, cada vez mais, um padrão de controle de qualidade uniforme e eficaz.

7 LIMITES MICROBIANOS E MÉTODOS DE ANÁLISE PARA CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DE PRODUTOS NÃO ESTÉREIS

A garantia de qualidade e os controles de produção devem ser tais que os micro-organismos capazes de proliferar e contaminar o produto estejam dentro dos limites. Os limites microbianos devem ser adequados às várias categorias de produtos que reflitam o tipo de contaminação mais provável introduzida durante a fabricação, bem como a via de administração, o consumidor final (neonatos, crianças, idosos), o uso de agentes imunossupressores, corticosteróides e outros fatores. Ao avaliar os resultados dos testes microbiológicos, o número e os tipos de micro-organismos presentes devem ser considerados no contexto mais abrangente uso do produto (BRASIL, 2010).

Os métodos de análise, envolvendo tanto os medicamentos não estéreis quanto os cosméticos, abrangem três etapas fundamentais: amostragem, englobando coleta, transporte e preparação da amostra para análise; determinação numérica ou contagem das formas viáveis; isolamento e identificação dos micro-organismos indesejáveis a serem pesquisados (PINTO et al., 2003).

Para os ensaios microbiológicos em produtos não estéreis, devem ser utilizadas técnicas assépticas na amostragem e na execução do teste. O teste deve ser realizado, preferencialmente, em capela de fluxo laminar e empregar, quando possível, a técnica de filtração por membrana. Se a amostra possuir atividade antimicrobiana, essa deve ser convenientemente removida ou neutralizada (BRASIL, 2010).

7.1 Limites Microbianos

Os limites microbianos de matérias-primas e produtos acabados podem se constituir em ausência absoluta de formas viáveis (produtos estéreis) ou sua presença em grandezas definidas, restritos ou não a determinadas cepas microbianas (produtos não estéreis). No caso de produtos cosméticos, observam-se os valores máximos aceitáveis de contaminantes viáveis, desde que somado a ausência de determinadas cepas microbianas. (PINTO et al., 2003).

A análise comparativa da Farmacopéia Brasileira (5ª edição) e da *United States Pharmacopeia* (USP 30ª edição) indica uma relação de similaridade quanto

aos aspectos dos limites microbianos preconizados para produtos farmacêuticos não estéreis. Sendo assim, pode-se fazer uma abordagem dos limites microbianos tendo como base ambos os compêndios oficiais.

Os limites de aceitação estão descritos na Tabela 7 e são interpretados do seguinte modo:

- 10^1 UFC: valor máximo aceitável = 20
- 10^2 UFC: valor máximo aceitável = 200
- 10^3 UFC: valor máximo aceitável = 2000 e, assim sucessivamente.

Tabela 7 – Limites microbianos para produtos não estéreis.

Via de administração*	Contagem total de bactérias aeróbias UFC/g ou mL	Contagem total de Fungos/leveduras UFC/g ou mL	Pesquisa de Patógenos
Produtos sintéticos e biológicos			
Preparação aquosa para uso oral	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1 g, ou MI
Preparação não aquosa para uso oral	10 ³	10 ²	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1 g, ou MI
Preparação para uso retal	10 ³	10 ²	-
Preparação uso tópico (oromucos, nasal, gengival, cutâneo, auricular)	10 ³	10 ²	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em 1 g, ou mL
Inala tórios	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e Bactéria Gram negativa bile tolerante em 1 g, ou mL
Preparação vaginal	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i> em 1 g, ou mL
Dispositivo Transdérmico (limite por unidade)	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> /dispositivo
Produtos de origem vegetal, mineral e/ou animal.			
Preparação para uso oral contendo matéria-prima de origem natural	10 ⁴	10 ²	Ausência de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em 1 g, ou mL. Limite Maximo de 10 ² bactérias Gram negativa bile tolerante em 1 g, ou mL.
Drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a quente	10 ⁷	10 ⁴	Limite Maximo de 10 ² <i>Escherichia coli</i> em 1 g. limite Maximo de 10 ⁴ bacterias Gram negativa bile tolerante em 1 g, ou mL. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10g
Drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a quente	10 ⁵	10 ³	Limite Maximo de 10 ¹ <i>Escherichia coli</i> em 1 g. limite Maximo de 10 ³ bactérias Gram negativa bile tolerante em 1 g, ou mL. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10g
Extrato seco	10 ⁴	10 ³	Ausência de <i>Salmonella</i> spp e <i>Escherichia coli</i> em 10g

Tabela 7 – Continuação

Via de administração*	Contagem total de bactérias aeróbias UFC/g ou mL	Contagem total de Fungos/leveduras UFC/g ou mL	Pesquisa de Patógenos
Tintura, Extrato fluido	10 ⁴	10 ³	-
Substâncias para uso farmacêutico			
Matéria- prima, base galênica	10 ³	10 ²	Ausência de <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em 1 g, ou mL. Ausência de <i>Salmonella</i> spp em 10g, ou mL.
(a) Para produtos que se enquadrem em mais de uma situação prevalecerão os limites mais restritivos			
(b) Outras enterobactérias			

Fonte: ANVISA, 2005.

No que diz respeito aos limites microbianos, vale destacar o estudo de Charnock (2004), em que o autor procurou isolar e identificar os principais micro-organismos presentes em produtos farmacêuticos não estéreis noruegueses presentes em 77 marcas registradas, sem o cumprimento do teste de esterilidade exigido por monografias relevantes neste setor. Isto se justifica porque certos tipos de produtos farmacêuticos não são obrigados a cumprir com o teste para a esterilidade descrito na quarta edição do Farmacopéia Européia. A contagem total viável aeróbica (TAMC) de tais produtos não deve, no entanto, em geral, exceder 10^2 - 10^3 micro-organismos/g (mL), dependendo do tipo de produto em questão. Além disso, certas bactérias patogênicas, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* devem estar ausentes (CHARNOCK, 2004).

Todos os produtos examinados respeitaram as normas em vigor, em relação aos números e tipos de micro-organismos isolados, indicando a eficácia da produção e o cumprimento das normas de BPF existentes (CHARNOCK, 2004).

Nesta pesquisa, Charnock usa o termo "micro-organismos censuráveis" para designar os organismos que podem causar infecções se o produto for adulterado a ponto de ser inaceitável a degradação dos atributos de qualidade do produto ou ser potencialmente comprometedor para a segurança do paciente. Embora patógenos primários e outras espécies bacterianas especificados em relevantes monografias farmacêuticas sejam classificados como questionáveis, uma gama mais ampla de micro-organismos do que aqueles mencionados nestes trabalhos podem ser relevantes.

Isso se aplica especialmente na prática clínica, onde pacientes imunocomprometidos podem estar envolvidos. Nestes casos, é sugerida a TAMC igual ou menor a 10 ufc/mL, para que todo o crescimento em meios seletivos atípicos garanta a identificação do micro-organismo e uma avaliação de seu significado. Se o isolado causar doença no trato gastrointestinal ou for capaz de se desenvolver no produto, isto deve ser usado como um critério para a rejeição do mesmo (CHARNOCK, 2004).

Em conclusão, Charnock observou que nenhum dos produtos continha uma carga microbiana que resultaria na rejeição de acordo com os critérios de qualidade da Farmacopeia Europeia (Eur. Ph.) e as diretrizes do *Norwegian Medical Agency* (NMA). Desta forma, produtos não estéreis farmacêuticos distribuídos na Noruega

atendem aos padrões atuais com respeito ao conteúdo microbiano. No entanto, é proposto que testes para *Pseudomonas* spp e *Enterococcus* devam ser considerados em futuras monografias que direcionam esses produtos. A reformulação das normas existentes para incluir um número de patógenos emergentes capazes de sobreviver e proliferar em produtos farmacêuticos, tais como *S. maltophilia* e particularmente *B. cepacia*, também parece se justificar em muitos estudos clínicos. (CHARNOCK, 2004).

Guardadas as devidas diferenças entre um país e outro, a pesquisa de tais patógenos poderia se aplicar ao Brasil, no sentido de ampliar a identificação de micro-organismos em produtos não estéreis.

7.2 Amostragem

A amostragem de produtos a ser efetuada para investigação quanto ao atendimento aos padrões microbianos deve ser representativa em termos de abrangência do volume contido, do número de unidades contenedoras e das operações unitárias envolvendo risco de contaminação adicional ou de proliferação microbiana. A Tabela 8 sugere uma abordagem geral para amostragem de produtos farmacêuticos não estéreis.

Tabela 8 – Amostragem de produtos farmacêuticos não estéreis

	Matéria-Prima e Adjuvantes	Produto Terminado
	Pulverizadas em Sacos ou barricas: obtenção de frações da parte inferior, mediana e superior de cada um de \sqrt{N} ou $\sqrt{N} + 1$ do número total dos recipientes.	
Amostragem	Material de acondicionamento, de embalagem ou dispensadores de produtos cosméticos ou medicamentosos: adoção de planos de amostragem respeitando conceitos estatísticos, por exemplo, o Military Standard.	Duplicata ou triplicata da amostra, representando início, meio e fim do processo de enchimento
Cuidados	Efetuar a assepsia na área próxima à coleta de amostras, usar preferencialmente recipientes com válvula de amostragem, na ausência, proceder a vedação hermética subsequente. Líquidos: evitar o emprego de pipetas ou tubos de vidro (risco de quebra e liberação de fragmentos no conteúdo). Cuidados semelhantes são pertinentes aos produtos a granel, seja ao se considerar reatores ou misturadores contendo cremes, pomadas ou líquidos.	Admite-se que após o fechamento do material de acondicionamento a introdução de contaminantes não mais existirá

Fonte: PINTO et.al.,2003

A Tabela 9 mostra abordagem que deverá ser feita para a amostragem de produto e subsequente análise baseada na Farmacopéia Brasileira.

Tabela 9 – Análise do produto

Análise do Produto: Quantidade de Amostra		
Salvo indicação em contrário, utilizar mistura de amostras contendo 10 g ou 10 mL do produto a examinar. Tomar 10 unidades para aerossol – forma líquida ou sólida e para dispositivos transdérmicos.	Substâncias ativas: quantidade por dose unitária (exemplo: comprimido, cápsula) é menor ou igual a 1 mg: quantidade de amostra a ser testada não deve ser menor que a quantidade presente em 10 doses unitárias. Número total de unidades do lote: menor que 200, usar duas unidades ou uma unidade se o lote for menor ou igual a 100 unidades.	Produtos em que o tamanho do lote é pequeno (menor que 1000 mL ou 1000 g): quantidade a ser testada deve ser 1% do lote ou menor quando justificado ou autorizado. Produtos em processamento: coletar 3 amostras do início, 4 do meio e 3 do fim do processo. Mistura e executar o teste.

Fonte: ANVISA, 2010.

7.3 Métodos de Análise

A determinação dos micro-organismos, quantificação e identificação de patógenos em produtos farmacêuticos não estéreis pode ser efetuada pelos métodos de filtração por membrana: método em placa, que incluem os métodos de profundidade e de superfície: método dos tubos múltiplos (MNP) ou contagem de patógenos. A escolha do método é determinada por fatores tais como a natureza do produto e o número esperado de micro-organismos. Qualquer método escolhido deve ser devidamente validado em cada empresa fabricante (BRASIL, 2010).

O método de filtração por membrana pode ser utilizado para soluções aquosas, oleosas e alcoólicas, visando a baixa contaminação do produto e o grande volume do mesmo. O crescimento das colônias na superfície da membrana permite um melhor isolamento para posterior identificação (BRASIL, 2010)

O método em placa é dividido em: método de profundidade e método de superfície. No primeiro, determina-se o número de micro-organismos aeróbicos totais, bolores e leveduras, respeitando somente as placas que apresentarem número de colônias inferior a 250 (bactérias) e 50 (bolores e leveduras) por placa deverão ser consideradas para o registro dos resultados. No segundo método, são

contados os mesmo micro-organismos do primeiro, mas a amostra é incorporada ao meio de cultura, enquanto no segundo ele é invertido em cima do meio de cultura.

O método de tubos múltiplos, ou número mais provável, baseia-se em estimativa fundamentada em probabilidade. Consiste na indicação do valor dentro de uma faixa que reflete o número de micro-organismos presentes. Permite uma melhor revitalização dos micro-organismos debilitados, em função do perfeito contato da amostra com o meio de cultura. É recomendada para amostras pouco solúveis e translúcidas. Embora permita a avaliação de amostras com níveis elevados de contaminação, sua indicação é para situações nas quais se esperam valores baixos de contagem, sendo esta característica otimizada pelo uso de caldo de dupla concentração (PINTO et al., 2003).

O método de pesquisa de patógenos possibilita verificar a presença ou a ausência de micro-organismos específicos em meios seletivos. O procedimento inclui etapas de pré-enriquecimento para garantir a recuperação dos micro-organismos, se presentes no produto. Abaixo, são relacionados os principais patógenos que podem ser detectados dentro dos limites estabelecidos, durante a pesquisa de micro-organismos:

Bactérias gram-negativas bile tolerantes: O crescimento de colônias bem desenvolvidas de bactérias Gram negativas em Ágar Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose, geralmente vermelhas ou avermelhadas, indica contaminação (resultado positivo).

Escherichia coli: O crescimento de colônias vermelhas em Ágar MacConkey, geralmente não mucosas, com micromorfologia característica de bacilo Gram negativo, indica presença provável de *E.coli* que deve ser confirmada por testes de identificação microbiana.

Salmonella: O crescimento de colônias bem desenvolvidas em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato, vermelhas com ou sem centro negro indica presença provável de *Salmonella* que deve ser confirmada por testes de identificação microbiana.

Pseudomonas aeruginosa: O crescimento de colônias em Ágar Cetrimida indica presença provável de *Pseudomonas aeruginosa* que deve ser confirmada por testes de identificação microbiana.

Staphylococcus aureus: O crescimento de colônias amarelas ou brancas rodeada por uma zona amarela indica presença provável de *S. aureus*, em Ágar Sal Manitol.

Clostridium: O crescimento de colônias catalase-negativas em Ágar Columbia, com micromorfologia de bacilo Gram positivo (com ou sem endósporos) indica presença provável de *Clostridium*.

Candida albicans: O crescimento de colônias brancas em Ágar Sabouraud ou colônias marrom/preta em Ágar Nickerson indica presença provável de *C. albicans*. (BRASIL, 2010).

Para adequação dos métodos farmacopéicos aos produtos não estéreis deve ser ainda demonstrada a eliminação de qualquer propriedade antimicrobiana antes da verificação da existência de contaminação microbiana nos produtos (BRASIL, 2010).

As metodologias dos testes para Contagem Total de Microrganismos Aeróbicos Viáveis e Contagem Total de Fungos e Leveduras, e para detecção e identificação das espécies também constam das farmacopéias. É um requerimento das BPF excluir micro-organismos indesejáveis de produtos farmacêuticos não estéreis (CUNDELL, 2006).

Pode-se, afirmar, enfim, que o controle microbiológico de produtos farmacêuticos não estéreis envolve uma série de ações que devem ser observadas na fabricação de medicamentos, cosméticos e fitoterápicos, garantindo a sua qualidade, segurança e eficácia. Tais iniciativas visariam uma maior qualificação técnica dos métodos aplicados, bem como a inclusão de novas especificações microbiológicas. Nesse sentido, é fundamental a interferência do Estado, por meio de orientações, normas e diretrizes de agências de vigilância, visando implementar o controle de qualidade microbiológica dos produtos farmacêuticos.

8 CONCLUSÃO

O farmacêutico microbiologista tem papel fundamental no sentido de se esforçar para que haja, cada vez mais, controle de qualidade na obtenção de produtos farmacêuticos e cosméticos realmente seguros à população, isolando e identificando patógenos, promovendo ações preventivas e corretivas, treinamento de funcionários, e a vigilância constante, entre outros aspectos.

O aprimoramento dos métodos de controle de qualidade é o desafio diário de quase todos os setores que compõem uma empresa. Contudo, as ações e os instrumentos de controle microbiológico precisam ser ampliadas e incorporados pelo setor industrial, pelos profissionais de saúde e também pelo consumidor.

A legislação concernente ao controle microbiológico dos produtos farmacêuticos representa um aperfeiçoamento das ações de controle sanitário dos produtos, por meio das Farmacopéias e das BPF. Nesse sentido, o estabelecimento de parâmetros para a indústria farmacêutica, a fiscalização e controle das indústrias, o estabelecimento de testes e limites de controle microbiológico, são de fundamental importância.

Quanto ao controle de qualidade microbiológico de produtos não estéreis, é necessário uma análise criteriosa, para posterior identificação de pontos críticos (PC), tais como matérias primas, água para uso farmacêutico, sistemas conservantes, embalagens e recipientes de acondicionamento, instalações e equipamentos, operadores e manipuladores.

Entretanto, salvo legislação específica, na análise microbiológica, observam-se apenas os limites quantitativos, havendo tolerância em relação à presença microbiana nesses produtos. No caso específico de fungos, há uma lacuna nos estudos relativos aos limites biológicos, embora estes micro-organismos, assim como as bactérias, também causem alterações no produto, perda da atividade terapêutica e doenças aos usuários como alergias e problemas graves em imunodeprimidos, além de prejuízos à empresa de produtos farmacêuticos e à sua respectiva imagem.

Conclui-se que a importância do controle microbiológico dos produtos farmacêuticos não estéreis está ligada à preservação do paciente e das propriedades físico-químicas destes produtos, bem como à comprovação de que são seguidas as regulamentações preconizadas pelas BPF e farmacopéias.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, F. D. **Análise de riscos e pontos críticos de contaminação microbiana na manipulação de produtos e insumos farmacêuticos**. Anápolis: Goiás: Instituto de Ciência, Tecnologia e Qualidade Industrial – ICTQ, 2006. Disponível em: <<http://www.ictq.com.br/baixar/MTI>>. Acesso em 25 abr. de 2012.
- ANSEL, Howard. C.; POPOVICH, Nicholas G.; ALLEN, Loyd V. Jr. **Formas Farmacêuticas & Sistemas de liberação de fármacos**. São Paulo: Editorial Premier, 2000. 568p.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANTIÁRIA. Portaria nº. 348, de 18 de ag. 1997, Brasília: Ministério da Saúde, 1997, 38p. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/portarias/348_97.pdf>. Acesso em 8 de ago. de 2012.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANTÁRIA. Resolução nº 481, de 23 de set. 1999. Brasília: Ministério da Saúde, 1999. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/resol/481_99.htm. Acesso em 15 de ago. de 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº. 210, de 4 de ago. 2003. Regulamento Técnico das Boas Práticas pra a Fabricação de Medicamentos. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>, 06 de junho de 2005. Acesso em 18 jul. de 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 17, de 16 de abr. de 2010. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em:ftp://ftp.saude.sp.gov.br/ftpssp/bibliote/informe_eletronico/2010/iels.abr.10/iels73/U_RS-MS-ANVISA-RDC-17_160410.pdf Acesso em 15 de jul. de 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Aprova o Fascículo 6 da Parte II da 4ª Edição da Farmacopéia Brasileira elaborado pela Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira – CPRFB. Resolução RDC nº. 313, de 25 out. 2005. Brasília: **Diário Oficial da União**, 31 out. 2005. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira/publicacoes/4_edicao/parte2/4_edicao_fasc6.pdf. >. Acesso em 10 de ago. de 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consulta Pública nº 25, de 23 mar. 2010. Brasília: **Diário Oficial da União**, 25 mar. 2010. Disponível em:<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/789e06004745814c8d77dd3fbc4c6735/CP+N%C2%BA+25+-+M%C3%A9todos.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 29 de ago. de 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Formulário nacional da Farmacopéia Brasileira, 2 ed. 2011. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira/arquivos/FNFB%20%20Vers%C3%A3o%20DICOL%2009%20Dez%202012.pdf>. Acesso em 23 de ago. de 2012.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Farmacopeia Brasileira. 5 ed., 2010. 546 p. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm>. Acesso em 07 de jul. de 2012
- BRASIL. Decreto nº 79.094/77, Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 1977. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/consolidada/decreto_79094_77.pdf. Acesso em 23 de jul. de 2012.
- BRASIL. Decreto nº 3.961/01, Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2001. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/128_02rdc.htm. Acesso em 29 de jul. de 2012.
- CARRANÇA, Thais. Mercado farmacêutico deve dobrar até 2017. **Diário Comércio Indústria & Serviços**, São Paulo, 2012.
- CARVALHO, Ilbanes et al. O controle de qualidade na indústria farmacêutica. **Ars Cyrandi**: a revista do clínico geral. São Paulo v. 12, n. 10, p. 35-61, dez.1979.
- CHARNOCK, C. The Microbial content on non-sterile pharmaceuticals distributed in Norway. **Journal of Hospital Infection**, Oslo, v. 57, p. 233-240, mar. 2004.
- CONSELHO REGIONAL DE FARMÁCIA, Paraná. Comissão da Indústria Cosmética do CRF-PR. **A indústria de produtos cosméticos – avanços científicos, tecnológicos e regulatórios**, 2011. Disponível em: http://www.crf-pr.org.br/uploads/comissao/6298/a_industria_de_produtos_cosmeticos_avanos_cientificos_tecnologicos_e_regulatorios.pdf. Acesso em 30 de jul. 2012.
- CORRÊA, J. C. V. **Qualidade dos medicamentos produzidos no Brasil segundo dados do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde e do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2003. (Dissertação, Mestrado em Produção e Controle Farmacêuticos). Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-30092011-122030/publico/Jose_Carlos_Valenca_Correa_Mestrado.>. Acesso em 23 de abr. de 2012.
- CUNDELL, A M. Microbial Identification Strategies in the Pharmaceutical Industry. PDA. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**. v. 60, nº 1, march-april, 2006.
- DELGADO, A. C. N. **Processos Microbiológicos**. Poços de Caldas: Curso de Farmácia e Bioquímica da Universidade José do Rosário Vellano, 2003. (mimeogr.).
- DENYER, S.P.; BAIRD, R.M. **Guide to microbiological control in pharmaceuticals**. New York: Ellis Harwood, 1990. 389p.

- DOMINIQUE, C.; FISCHER, Hermine, OHARA, Mitsuko Taba. Padrão microbianos em medicamentos não estéreis de uso oral – enquadramento de produtos fitoterápicos; **Revista brasileira de farmacognosia**. Curitiba. v. 1 – p. 29-37, jan.jun., 1996.
- FIORENTINO, F. A. M.; RICARTE, P. C.; CORREA, M. A.; GIANNINI, M. J. S. M.; ISAAC, V. L. B.; SALGADO, H. R. N. Análise microbiológica de embalagens destinadas ao acondicionamento de medicamentos e cosméticos. **Latin American Journal of Pharmacy**, 27 (5), p. 757-61, 2008.
- GIL, Eric de Souza BRANDÃO, André Luiz. **Excipientes: suas aplicações e controle físico-químico**. São Paulo: Pharmabooks Editora, 2007. 285p.
- HAYDEN, J. Safety evaluation of preservatives. In: BAIRD, R. M., BLOOMFIELD, S. F. **Microbial Quality Assurance in Cosmetics, Toiletries and Non-Sterile Pharmaceuticals**. London: Taylor & Francis Ltd, 1996. p.175-186.
- HEEMANN, A. C. W. et al. Guia da Profissão Farmacêutica: Indústria de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. Comissão da Indústria Cosmética. Conselho Regional de Farmácia do Paraná, 2010. Disponível em: <<http://www.crf-pr.org.br/arquivopdf/guiacosmetico/guia.pdf>>. Acesso em 11 de abr. de 2012.
- HIGIENE pessoal, perfumaria e cosméticos: mercado em franca expansão. São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.racine.com.br/noticias/portal-racine/noticias/higiene-pessoal-perfumaria-e-cosmeticos-mercado-em-franca-expansao>. Acesso em 14 de Jul. de 2012.
- LA ROSA, M.C.; MADINA, M.R.; VIVAR C. Microbiological quality of pharmaceutical raw materials. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**. 70(3), p.227-32, may, 1995.
- LAURENTIS, Wagner de. **Embalagem: um Mercado Potencial. Embalagem e Rotulagem**. São Paulo, p. 1-2, ago. 2010.
- LUNDOV, M. D.; MOSEBY, L.; ZACHARIAE, C.; JOHANSEN, J. D.; **Contamination versus preservation of cosmetics: a review on legislation, usage, infections, and contact allergy. Contact Dermatitis**, 2009. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0536.2008.01501.x/pdf>>. Acesso em 27 de abr. de 2012.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 518 - 25 de mar. Secretaria de Vigilância em Saúde Ambiental, Brasília, 2004,15p. Disponível em: <http://www.agrolab.com.br/portaria%20518_04.pdf>. Acesso em 14 de abr. de 2012.
- NEVES, Luiz Carlos Martins das. Validação dos Procedimentos de Limpeza de Equipamentos na Indústria Farmacêutica e Biotecnológica. **Fármacos & Medicamentos**, São Paulo, v.59, jul.ag.set.2009.

- OLIVEIRA, Nesser Cristiano de Paula. **Desinfecção e Antissepsia na Indústria Farmacêutica – Uma Abordagem Prática**. Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação. São Paulo: Vogal Comunicações, p. 18, 2005.
- PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 325p.
- RIGOLIN, C. R. A. Sistemas de Tratamento de Água para Uso Farmacêutico. **Fármacos & Medicamentos**, n. 26. Instituto Racine, 2009. Disponível em: <<http://www.racine.com.br/portal-racine/setor-industrial/instalacoes-e-projetos-industriais/sistemas-de-tratamento-de-agua-para-uso-farmaceutico>>. Acesso em 15 de abr. de 2012.
- SERRANO; GIL; ORLANDO & MATIAS. **Controle Físico Químico e Qualidade de medicamentos**. 1ª ed. Campo Grande, MS: Uniderp, p. 39-54, 2005.
- SILVA, A. F.; ARAÚJO, J. C. F.; SILVA, P. R. P. Metodologia Analítica por Titulometria para Paracetamol. **Controle de Contaminação**, Recife, v. 85, parte 1, p. 30, maio 2006.
- SIQUEIRA, V. L. Cuidados microbiológicos em cosméticos e produtos de higiene pessoal. **Informativo Conselho Regional de Química IV**, SÃO PAULO, MS, Artigo Técnico, jul.ago. de 2005. Disponível<http://www.crq4.org.br/default.php?p=informativo_mat.php&id=394>. Acesso em 18 de abr. de 2012.
- TAVARES, Fernanda, TORRES, Vanessa Camila Essu;, OHNUKI Thiana, Boas Práticas de Fabricação (BPF): Comparação entre a Normalização para Cosméticos e para Medicamentos de Uso Dermatológico. **Fármacos & Medicamentos**, 54, set.out. 2008.
- THE UNITED States Pharmacopeia; the national formulary – USP, Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 2000. 2391p
- VENERANDA, Naia. Tratamento de Ar na Indústria Farmacêutica. **Controle de Contaminação** . São Paulo, p. 23-27, jun. 2004.
- VIEIRA, D. C. M. **Pesquisa de Patógenos Oportunistas em Medicamentos Tópicos: Padronização e Análise Comparativa de Metodologias Convencional e Molecular**. Universidade Federal de Alfenas: 2007. (Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas). Disponível em: <http://www.unifal-mg.edu.br/ppgcienciasfarma/files/file/dissertacoes/daniela_macedo.pdf>. Acesso em 28 de abr. de 2012.
- VILLANOVA, Janaína Cecília Oliveira, SÁ, Regina Vânia de. **Excipientes. Guia Prático de Padronização - formas farmacêuticas orais sólidas e líquidas**. São Paulo: Pharmabooks Editora, 2009. 417p.

YAMAMOTO, C. H., PINTO, T. J. A., MEURER, V. M., CARVALHO, A. M., REZENDE, P. Controle de Qualidade Microbiológico de Produtos Farmacêuticos, Cosméticos e Fitoterápicos Produzidos na Zona da Mata, MG. In: 2º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2004, Belo Horizonte. **Anais**. Belo Horizonte: UFMG, 2004.