



FACULDADE NOVA ESPERANÇA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

RITA DE CÁSSIA PEREIRA DA SILVA

**ANÁLISE DE CONTAMINANTES MICROBIOLÓGICOS EM SOLUÇÃO
ORAL DE DAPIRONA 500MG/ML**

JOÃO PESSOA
2022

RITA DE CÁSSIA PEREIRA DA SILVA

**ANÁLISE DE CONTAMINANTES MICROBIOLÓGICOS EM SOLUÇÃO
ORAL DE DAPIRONA 500MG/ML.**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Faculdade Nova Esperança
como requisito exigido para a obtenção
do título de Bacharelado em Farmácia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Deysiane
Oliveira Brandão.

JOÃO PESSOA
2022

S583a Silva, Rita de Cássia Pereira da
Análise de contaminantes microbiológico em solução oral de dipirona
500mg/ml / Rita de Cássia Pereira da Silva. – João Pessoa, 2022.
33f.;il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Deysiane Oliveira Brandão.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Faculdade
Nova Esperança - FACENE

1. Controle de Qualidade. 2. Produtos não Estéreis. 3. Contaminação
Microbiológica. 4. Técnica de Semeadura em Profundidade. I. Título

CDU: 615.15

RITA DE CÁSSIA PEREIRA DA SILVA

**ANÁLISE DE CONTAMINANTES MICROBIOLÓGICOS EM SOLUÇÃO
ORAL DE DIPIRONA 500MG/ML**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado pela aluna Rita de Cássia Pereira da Silva do curso de bacharelado em farmácia, tendo obtido o conceito de _____, conforme a apreciação da banca examinadora constituída pelos professores:

Aprovado(a) em: _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dr^a. Deysiane Oliveira Brandão
Orientadora (FACENE)

Membro Prof. Dr. Diego Igor Alves Fernandes Araújo (FACENE)

Membro Prof. Me. Mysrayn Yargo Freitas Araújo Reis (FACENE)

JOÃO PESSOA

2022

Dedico este trabalho à minha mãe e ao
meu irmão.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Maria de Fátima, mulher forte e de coração bom, a qual me deu a vida e nunca me deixou desamparada, sempre me apoiou e acreditou em mim.

Ao meu irmão, Rafael, que é meu companheiro desde sempre, acreditou em mim, e me ajudou em toda a minha trajetória de vida, compartilhando de momentos bons e ruins.

Aos professores que fizeram parte da minha trajetória acadêmica, sem eles chegar aqui, seria impossível.

À minha orientadora, Dra. Deysiane Brandão, por aceitar a orientação e disponibilidade.

Aos professores Diego Igor e Mysrayn Yargo por aceitarem participar da minha banca e pelas contribuições no trabalho.

À professora Maria Denise por toda contribuição na minha vida acadêmica, profissional e pessoal, sempre acreditando em seus alunos, nos dando apoio em todas as etapas, dedicação e amor para conosco.

A todos os amigos da turma, sempre estivemos juntos nos momentos felizes e difíceis, em especial a minha turminha Adriana, Jefferson e Sílvia, que todos os dias durante essa trajetória estiveram constantemente me dando apoio, e mostrando o verdadeiro significado de amizade, sem eles o caminho até aqui teria sido bem mais difícil.

“O importante não é ver o que ninguém nunca viu, mas sim, pensar o que ninguém nunca pensou sobre algo que todo mundo vê”.

Arthur Schopenhauer

RESUMO

A dipirona é um fármaco que faz parte da classe de medicamentos conhecido como antiinflamatório não esteroides (AINES), com ação analgésica e antitérmica. Está entre os fármacos mais utilizados pela população sendo disponibilizado em várias formas farmacêuticas como, comprimido, injetável, supositórios e solução oral, sendo essa última uma das mais utilizadas pela sua facilidade de administração e rapidez de absorção. Esse fármaco apresenta facilidade de contaminação por microrganismos, podendo oferecer riscos para o usuário, como ineficácia no tratamento ou quadros de toxicidade. O controle microbiológico de qualidade de medicamentos é importante para avaliar a segurança e eficácia do produto farmacêutico. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de soluções orais de dipirona 500 mg/mL através da aplicação da técnica de avaliação de produtos não estéreis. As soluções foram obtidas em farmácias comunitárias na cidade de João Pessoa/PB, onde se adquiriu 7 amostras sendo 1 referência (R), 3 genéricos (G) e 3 similares (S). Os ensaios analíticos que foram empregados estão descritos nos compêndios oficiais da Farmacopeia Brasileira 6ª edição e Farmacopeia Americana 39 edição como métodos gerais de ensaios microbiológicos. Foram realizadas as seguintes diluições seriadas dos medicamentos 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 , preenchidos com 9 mL de soro fisiológico 0,9%. A técnica seguida foi de “*Pour Plate*”, segundo o método da Farmacopeia Brasileira (2019), utilizando os meios de cultura ágar nutriente para pesquisa de bactérias e ágar *Sabourad* para pesquisa de fungos. Depois do período de incubação ocorreu a determinação da carga microbiana e a identificação dos contaminantes presentes nas amostras, conforme recomendações da Farmacopeia Brasileira (2019). Com isso foi possível observar que as amostras não ultrapassaram o limite permitido, onde G1, G3 e S2 apresentaram crescimento de 10^1 UFC/mL, o G2 e S1 apresentaram crescimento de 10^2 UFC/mL e o S3 e a amostra de referência R, não apresentaram crescimento microbiano. A análise para presença de *Escherichia coli* teve como resultado a ausência de crescimento das 7 amostras e as análises para carga fúngica mostraram que as amostras não ultrapassaram o limite, onde apenas o S1 apresentou crescimento de 10^1 UFC/mL. Sendo assim, o presente estudo evidenciou que as amostras analisadas se encontram em conformidade com os padrões estabelecidos pela farmacopeia.

Palavras chaves: Controle de qualidade; Produtos não estéreis; Contaminação microbiológica; Técnica de semeadura em profundidade; Dipirona.

ABSTRACT

Dipyrone is a drug that is part of the class of drugs known as non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), with analgesic and antipyretic action, it is among the drugs most used by the population and is available in several pharmaceutical forms such as tablets, injectables, suppositories and oral solution, the latter being one of the most used because of its ease of administration and rapid absorption, however, this drug in its liquid form is easily contaminated by microorganisms, and may pose risks to the user, such as ineffective treatment or toxicity conditions . Microbiological control of drug quality is important to assess the safety and efficacy of the pharmaceutical product. Thus, the objective of this work was to evaluate the microbiological quality of oral solutions of dipyrone 500 mg/mL through the application of the technique of evaluation of non-sterile products. The solutions were obtained from community pharmacies in the city of João Pessoa- PB, where 1 reference (R) samples, 3 generics (G) and 3 similar (S) were acquired. The analytical tests that were used are described in the official compendiums of the Brazilian Pharmacopoeia 5th edition and American Pharmacopoeia 39th edition as general methods of microbiological test. The following serial dilutions of drugs 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 and 10^6 were performed filled with 9 mL of 0,9% saline solution. The technique followed was deep swin (*Pour-Plate*), according to the Brazilian Pharmacopoeia method (2019), using the culture media nutrient ágar for the bacterial research and Sabourad ágar for fungal research. After the incubation period, the microbial load was determined and the contaminants present in the samples were identified as recommended by the Brazilian Pharmacopoeia (2019). With this, it was to be able to observe did not exceed the allowed limit, where G1, G3 and S2 showed growth of 10^1 CFU/mL, G2 and S1 showed growth of 10^2 CFU/mL, S3 and the reference samples, did not showed microbial growth. The analysis for the presence of *Escherichia coli* resulted in the absence of growth of the samples. The analysis for the fungal load showed that the samples did not exceed the limit, where only S1 showed growth of 10^1 CFU/mL. Therefore, the present study showed that the analyzed samples are in accordance with the standards established by the Pharmacopoeia.

Keywords: Quality control; Non-sterile products; Microbiological contamination; Deep seeding technique; Dipirone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular da dipirona	19
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Determinação da carga bacteriana nas amostras de medicamentos genéricos analisadas.....	24
Tabela 2 - Determinação da carga bacteriana nas amostras de medicamentos similares analisadas.....	24
Tabela 3 - Determinação da carga bacteriana nas amostras de medicamentos de referência analisadas.....	25
Tabela 4 - Determinação da carga fúngica nas amostras de medicamentos genéricos analisadas.....	25
Tabela 5 - Determinação da carga fúngica nas amostras de medicamentos similares analisadas.....	25
Tabela 6 - Determinação da carga fúngica nas amostras de medicamentos de referência analisadas.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS

AINE – Anti-inflamatório não esteroides

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

MIP - Medicamento isento de prescrição

NCD - Número de colônias na diluição

NMP - Número maior provável

UFC - Unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 CONTROLE DE QUALIDADE.....	16
3.2 CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO.....	16
3.2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
3.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	17
3.2.3 <i>Salmonella</i>	18
3.2.4 <i>Escherichia coli</i>	18
3.2.5 <i>Clostridium</i>	18
3.2.6 <i>Candida albicans</i>	18
3.3 SOLUÇÕES FARMACÊUTICAS.....	18
3.3.1 Xaropes.....	19
3.3.2 Elixires.....	19
3.3.3 Tinturas.....	19
3.3.4 Gotas.....	20
3.4 DIPIRONA.....	20
4. METODOLOGIA.....	22
4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	22
4.2 ENSAIO MICROBIOLÓGICO.....	22
4.2.1 Meios de cultura.....	22
4.2.2 Manuseio e preparação das amostras.....	22
4.2.3 Método do Ensaio (<i>Pour-Plate</i>)	23
4.2.4 Leitura e interpretação dos resultados.....	23
4.3 TRATAMENTO DE DADOS.....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1 DETERMINAÇÃO DA CARGA BACTERIANA.....	25
5.2 DETERMINAÇÃO DA CARGA FÚNGICA.....	26
6. CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

A qualidade de um serviço ou produto é um fator muito importante, estando sempre em constante processo de evolução, foram desenvolvidas técnicas de controle da qualidade, onde é possível acompanhar, monitorar todos os processos de fabricação para garantir que os mesmos estejam de acordo com as normas pré-estabelecidas e que também se adéquem às necessidades dos consumidores (LOBO, 2018).

De forma ainda mais rigorosa, os produtos farmacêuticos precisam seguir características essenciais de qualidade para obtenção de segurança e garantia de funcionalidade, para isso, diversos setores estão inseridos no controle da qualidade. Produtos como medicamentos biológicos, fitoterápicos, correlatos, cosméticos, saneantes e insumos são submetidos ao controle de qualidade microbiológico, onde são analisados a fim de constatar a presença ou ausência de microrganismos viáveis e não viáveis, garantindo, assim, a segurança e eficácia para uso, já que a presença de microrganismos viáveis dependendo da quantidade podem prejudicar a efetividade do produto e desencadear efeitos indesejáveis e tóxicos ao consumidor (PINTO; KANEKO; PINTO, 2015).

Dentre os métodos aplicados para a avaliação dos contaminantes em produtos farmacêuticos, a análise de produtos não estéreis permite identificar e quantificar a presença de microrganismos viáveis e patogênicos, onde existe um limite de carga microbiana para os microrganismos viáveis, pois eles em cargas elevadas podem comprometer e alterar características organolépticas do produto, assim como sua eficácia, além disso, é proibida a presença de microrganismos patogênicos, visto que, eles oferecem um risco maior de liberar toxinas e provocar quadros infecciosos (PINTO; KANEKO; PINTO, 2015).

Vários fatores podem interferir na qualidade microbiológica de um produto, e é imprescindível que tanto as fontes diretas de contaminação (matérias-primas) quanto fontes indiretas (instalações, pessoal, ar) sejam submetidos a processos de controle para a garantia de segurança do produto (VIEIRA; VIANNA; ALMEIDA, 2020).

Pelo conceito, soluções são “preparações líquidas que contêm uma ou mais substâncias químicas dissolvidas em um solvente adequado, ou em uma mistura de solventes mutuamente miscíveis” (ALLEN, 2013).

Dentre as várias formas farmacêuticas apresentadas pela indústria, a mais utilizada, por motivos comerciais e de estabilidade, são as formas sólidas, porém estas, nem sempre oferecem facilidade de uso, em especial ao grupo de idosos e pediátricos, pois estes apresentam maior dificuldade de deglutição, impossibilitando a adesão ao tratamento, sendo assim, as formas farmacêuticas líquidas se tornam as de uso mais comum entre este público, visto que, além de facilitar a deglutição, são rapidamente absorvidos proporcionando um efeito mais rápido. Entretanto, essas formulações requerem um cuidado maior devido à instabilidade que um fármaco na forma líquida pode apresentar, pois, são susceptíveis à degradação físico-química e contaminação microbiológica, podendo acarretar uso incorreto da dose a ser administrada e ingestão de microrganismos intoleráveis (FERREIRA; SOUZA, 2011).

O ácido 1-fenil-2,3-dimetil-5-pirazolona-4-metilaminometanossulfônico popularmente conhecido como Dipirona, tem efeito analgésico e antipirético, e é indicado para o tratamento de vários sintomas, entre eles, cefaleias, febre, dores pós-operatórias, etc. É apresentado nas formas farmacêuticas orais (comprimido e em solução), retal (supositório) e injetável e em função da facilidade de administração a dipirona solução oral é bastante consumida (FERREIRA *et al.*, 2014).

A dipirona é um medicamento isento de prescrição (MIP), podendo ser comercializada sem necessidade de prescrição médica, por esse motivo, ela se torna um dos medicamentos mais consumidos no Brasil, diante disso, é necessário que o controle de qualidade microbiológico esteja presente nos processos de fabricação para garantir que o medicamento encontre-se de acordo com os padrões de segurança a fim de proporcionar um tratamento seguro para o paciente (FERREIRA *et al.*, 2014).

O presente trabalho buscou avaliar se o controle de qualidade microbiológico do dipirona em sua fabricação é de fato efetiva, pois é importante assegurar a qualidade e segurança do medicamento para evitar complicações no seu uso, e assim contribuir para a melhoria dos processos de fabricação e de controle, assim como satisfação do consumidor.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade microbiológica de soluções orais de dipirona através da aplicação da técnica de análise de produtos não estéreis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter amostras de soluções orais contendo dipirona em marcas diferentes classificados entre referência, genérico e similar;
- Avaliar as UFC/mL das soluções obtidas;
- Identificar os possíveis contaminantes presentes nas amostras obtidas;
- Comparar os resultados de acordo com a forma de apresentação (medicamento genérico, similar e de referência).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 CONTROLE DE QUALIDADE

O controle de qualidade pode ser caracterizado por um conjunto de operações onde se tem o objetivo de garantir os padrões de qualidade exigidos. As boas práticas farmacêuticas se encarregam de assegurar que os produtos fabricados estejam nas normas exigidas de qualidade através de alguns requisitos como, por exemplo, métodos validados, pessoal qualificado, instalações e áreas adequadas, etc. (ANVISA, 2019).

Desse modo, o controle de qualidade é a parte das boas práticas farmacêuticas que executam os testes, assim como, organizam documentos e procedimentos de liberação dos produtos fabricados. Vantagens como otimização de processos, redução de tempo e desperdício, padronização de procedimentos, qualidade do ambiente, insumos e dos produtos finais fazem parte do controle, desde que esse processo esteja presente em todas as etapas de fabricação (PINTO; KANEKO; PINTO, 2015).

3.2 CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO

Nas boas práticas farmacêuticas o controle de qualidade microbiológico está relacionado à amostragem, especificações, testes, procedimentos organizacionais, documentos e procedimentos de liberação, que asseguram que sejam realizados ensaios relevantes e necessários a fim de garantir que a qualidade dos materiais usados na fabricação, quanto os produtos finais para venda sejam considerados satisfatórios. O controle de qualidade deve estar inserido em todas as etapas do processo de fabricação (CORREIA, 2003).

Produtos não estéreis são aqueles onde é permitida uma quantidade limitada de carga microbiana baseando-se nas características de utilização do produto. O controle de qualidade microbiológico garante tanto quantitativamente e qualitativamente o não comprometimento da qualidade final do produto quanto à segurança do paciente, tendo como objetivo urgente detectar a ausência de microrganismos patogênicos e determinar o número de microrganismos viáveis (PINTO; KANEKO; PINTO, 2015).

Condições do ar, materiais de acondicionamento e embalagem, equipamentos e utensílios de produção, das matérias-primas, água utilizada no processo do ar comprimido e do ar ambiente e contaminação nos produtos por microrganismos como bactérias, fungos e leveduras. Há grandes possibilidades de estes microrganismos crescerem, pois, produtos farmacêuticos proporcionam um ambiente ideal. Alguns produtos como de origem vegetal, mineral, e animal, assim como produtos com alto teor de água devem ser

testados rotineiramente, pois há um risco maior de contaminação. Comprimidos, pós, cápsulas e entre outros, podem ser testados a partir da base em dados históricos de testes de monitoramento (SAFAR, 2012).

Em decorrência da contaminação é possível que haja um comprometimento do desempenho do produto acarretando alterações físicas, inativação do princípio ativo, excipientes, além do mais, após administração pode haver o agravamento de quadros clínicos (YAMAMOTO *et al.*, 2004).

Mudanças na cor, produção de gás e odor de produtos farmacêuticos foram observadas. A capacidade de promover degradação microbiana depende da capacidade de gerar as enzimas adequadas, e o maior risco no caso de produtos farmacêuticos e cosméticos é a extrema flexibilidade das vias bioquímicas dos microrganismos, permitindo a síntese de enzimas degradantes (LUNDOV *et al.*, 2009).

A quantificação e qualificação de microrganismos patogênicos em produtos farmacêuticos não estéreis podem ser feitas através de alguns métodos, estes incluem, os métodos de “*Pour-plate*” onde a semeadura das bactérias é feita em profundidade da placa e o método de “*Spread-plate*” onde a mostra semeadura é feita na superfície da placa, o método de Membrana Filtrante que permite a pesquisa em materiais líquidos e o método de Número Maior Provável (NMP) que se baseia em estimativa fundamentada em probabilidade onde o valor indicado reflete o número de microrganismos presentes (PINTO; KANEKO; PINTO, 2015).

Após um trabalho de harmonização, estes são os micro-organismos pesquisados em razão de sua presença indesejável:

3.2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

São bastonetes gram-negativos móveis, retos ou ligeiramente curvados, dispostos em pares, são encontradas no solo, matéria orgânica da deteriorada, vegetação e água, crescem rapidamente e tem colônias planas com bordas espalhadas, pigmentação verde e verde-amarelo e um odor doce semelhante ao de uva (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

3.2.2 *Staphylococcus aureus*

São células esféricas gram-positivas não esporuladas com cálculos isolados em pares ou em correntes curtas, é considerado o patógeno mais importante da espécie e seu *habitat* principal é a pele e as membranas de mucosas dos mamíferos e aves (ALMEIDA

et al., 2016).

3.2.3 *Salmonella*

Possui bacilos não formadores de esporos, flagelados, gram-negativos, anaeróbios facultativos, é caracterizado por ser um dos principais agentes causadores de doenças transmitidas por alimentos (LUSTOSA *et al.*, 2021).

3.2.4 *Escherichia coli*

Pertencente à família enterobacteriaceae são bacilos aeróbios gram-negativos mais comuns, está associada a várias doenças relacionadas ao trato gastrointestinal (MURRAY, 2018).

3.2.5 *Clostridium*

São bactérias anaeróbias formadoras de esporos que são encontradas no solo e em outros locais, são responsáveis por causar infecções exógenas monomicrobianas (MURRAY, 2018).

3.2.6 *Candida albicans*

Faz parte do gênero *Candida* que é o principal grupo de leveduras a causar infecções em seres humanos, é constituído por uma levedura diploide com dois pares de 8 cromossomos (VIEIRA; SANTOS, 2017).

3.3 SOLUÇÕES FARMACÊUTICAS

Soluções são preparações líquidas que contém uma ou mais substâncias químicas dissolvidas em um solvente adequado, ou em uma mistura de solventes naturalmente miscíveis”. Podem ser classificadas com solução oral tópica e oftálmica, em função de sua composição e finalidade elas podem ser classificadas como soluções aquosas, soluções hidroalcoólicas, soluções edulcorantes e entre outras, o fato de elas serem solúveis em sistema aquoso facilita a absorção do fármaco no sistema gastrointestinal possibilitando uma ação mais rápida (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

A forma farmacêutica a ser administrada influencia bastante na adesão ao

tratamento, principalmente ao grupo de crianças e idosos onde estas apresentam uma dificuldade de deglutição. Para garantir a qualidade de uma solução oral é preciso cuidado em suas preparações, pois preparações líquidas estão mais vulneráveis a degradação física, química e microbiológica uma vez que essas preparações não estejam estáveis elas podem ocasionar vários problemas que vão de dose sub terapêutica a uma dose tóxica para o paciente. (FERREIRA; SOUZA, 2011).

A estabilidade química em uma preparação líquida pode levar a reação de degradação como hidrólise, oxidação e redução e isso pode ser influenciado pelo pH, presença de metais, exposição à luz e mudança de temperatura. A estabilidade física em suspensões orais pode levar à sedimentação do fármaco causando dificuldade de ressuspender as partículas podendo acarretar erros de medida dose assim como a temperatura pode alterar a viscosidade de uma suspensão. A estabilidade microbiológica em uma formulação oral líquida além de causar mudanças de odor, sabor, aparência e turbidez ela pode conter alto número de micro-organismos que podem ser perigosos para os pacientes que fazem uso levando a toxicidade ou agravamento da doença, é importante durante a sua preparação o cuidado para minimizar a contaminação mantendo os equipamentos matérias-primas assim como o pessoal todos sanitizados (FERREIRA; SOUZA, 2011).

As soluções orais são divididas em vários tipos entre elas estão:

3.3.1 Xaropes

São preparações aquosas, de alta viscosidade, conferida pela presença de sacarose ou outros açúcares, ou outros agentes espessantes e edulcorantes, podendo ser ou não medicamentoso, geralmente contém flavorizantes (ANVISA, 2019; ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

3.3.2 Elixires

São preparações de uso oral, hidroalcoólicas com teor alcoólico de 20% a 50%, transparentes, edulcoradas e aromatizadas, podem conter um ou mais fármacos (ANVISA, 2010; UNIVERSIDADE DE COIMBRA, 2015).

3.3.3 Tinturas

São soluções alcoólicas ou hidroalcoólicas preparadas a partir de matérias-primas vegetais ou substâncias químicas (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

A análise da estabilidade de fármacos é de suma importância, pois a garantia da qualidade é a confirmação de que o produto consegue manter suas propriedades e características após sua fabricação, essa análise garante a integridade do produto quanto ao efeito físico, químico, terapêutico, microbiológicos e toxicológicos. Fatores como umidade, aumento de temperatura, contaminação microbiana, luz, substâncias ativas e excipientes podem levar a instabilidade do fármaco (RODRIGUES *et al.*, 2021).

4. METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As soluções foram obtidas em farmácias comunitárias na cidade de João Pessoa/PB. As análises foram feitas em parceria com o Laboratório da Farmácia escola situado na Universidade Estadual da Paraíba-CG.

Foram adquiridas amostras de referência, 3 genéricos de fabricantes diferentes e 3 similares de fabricantes diferentes.

4.2 ENSAIO MICROBIOLÓGICO

Os ensaios analíticos que foram empregados estão descritos nos compêndios oficiais da Farmacopeia Brasileira 6ª edição (ANVISA, 2019) e Farmacopeia Americana 39 edição (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2016), como métodos gerais de ensaios microbiológicos.

4.2.1 Meios de cultura

Foram utilizados, na pesquisa de possíveis contaminantes microbiológicos dos produtos em estudo, os seguintes meios de culturas:

- Meio I – Ágar nutriente - este meio nutritivo é adequado para o cultivo de diversas bactérias. São utilizados para determinação do número de microrganismos por isso é enriquecido e preparado como os meios de cultivo especiais.
- Meio II – Ágar Sabouraud-dextrose - utilizado para pesquisa de fungos.

Os meios de cultura foram preparados de acordo com especificações contidas nas embalagens cedidas pelos fabricantes.

4.2.2 Manuseio e Preparação das Amostras

Foi utilizada a técnica de diluição seriada para a homogeneização dos medicamentos obtidos. Foi retirada uma alíquota de 1 mL, que foi transferida para o primeiro tubo de ensaio contendo 9 mL de soro fisiológico a 0,9%, obtendo a diluição 10^1 . Na sequência, foi retirado 1 mL do primeiro tubo e adicionado ao segundo tubo obtendo a diluição 10^2 , este processo foi repetido nos tubos restantes em sequência (10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6), e foi desprezado 1 mL do último tubo. Esse processo foi feito em capela de fluxo laminar.

4.2.3 Método do Ensaio (*Pour Plate*)

A técnica seguida foi a de semeadura em profundidade (*Pour Plate*), segundo o método da Farmacopeia Brasileira (2019).

Adicionou-se em placas de Petri uma alíquota de 1 mL de cada diluição, contendo a amostra, e verteu-se de 15-20 mL de ágar nutriente e ágar Sabouraud-dextrose, liquefeito e estéril, sobre cada uma das placas, seguido de homogeneização. As placas foram incubadas em estufa com incubação a 30-37 °C, de 3 a 5 dias para bactérias mesófilas e para fungos 20-25°C, de 5 a 7 dias. O ensaio foi realizado em triplicata.

4.2.4 Leitura e interpretação dos resultados

Depois do período de incubação ocorreu a determinação da carga microbiana e a identificação dos contaminantes presentes nas amostras.

A carga microbiana foi determinada conforme recomendações da Farmacopeia Brasileira (2010).

Assim, foram contadas as colônias e determinou-se a média da quantidade de UFC/mL de acordo com a fórmula:

$$\text{Média de UFC/mL} = (\text{NCD } 10^1 \times 100 + \text{NCD } 10^2 \times 1000 + \text{NCD } 10^3 \times 1000 + \text{NCD } 10^4 \times 10000 + \text{NCD } 10^5 \times 100000 + \text{NCD } 10^6 \times 1000000) / 6.$$

Onde: NCD= Número de colônias na diluição

Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) e os produtos foram classificados como aprovados ou reprovados de acordo com os relatos da Farmacopeia 6ª edição dispostos na Tabela onde determina os limites microbianos para produtos não estéreis.

No caso de preparação aquosa para uso oral os limites microbianos permitidos são: 10² para bactérias mesófilas e 10¹ para fungos e ausência de *Escherichia coli* em 1 mL da amostra.

Para pesquisa de *Escherichia coli* foi utilizado o caldo de enriquecimento MacConkey Broth, realizando-se a subcultura em Agar MacConkey para crescimento das colônias.

4.3 TRATAMENTO DE DADOS

Os dados obtidos foram tabulados e analisados por meio do programa estatístico Microsoft Office Excel 2010®, para a realização de estatísticas descritivas (frequência, porcentagem e média) para discussões dos resultados encontrados. Os resultados foram apresentados através de tabelas e comparados com a literatura relevante.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 7 amostras de medicamentos contendo dipirona, sendo 1 de referência (R), 3 genéricos (G1, G2 e G3) e 3 similares (S1, S2 e S3) de laboratórios diferentes, todas dentro do prazo de validade e lotes diferentes.

Após o período de incubação, foi realizada a contagem do número de colônias e através das análises verificou-se que todas elas estavam dentro do limite permitido.

5.1 DETERMINAÇÃO DA CARGA BACTERIANA

Os dados obtidos estão dispostos na tabela 1 a 3.

Tabela 1. Determinação da carga bacteriana nas amostras de medicamentos genéricos analisadas

Amostras	UCF/mL			Presença de <i>Escherichia coli</i>		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
G1	10 ¹	10 ¹	10 ¹	ausente	ausente	ausente
G2	10 ¹	10 ²	10 ¹	ausente	ausente	ausente
G3	10 ¹	10 ¹	10 ¹	ausente	ausente	ausente

Fonte: SILVA, 2022.

Tabela 2. Determinação da carga bacteriana nas amostras de medicamentos similares analisadas

Amostras	UCF/mL			Presença de <i>Escherichia coli</i>		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
S1	10 ²	10 ²	10 ²	ausente	ausente	ausente
S2	10 ¹	10 ¹	10 ¹	ausente	ausente	ausente
S3	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente

Fonte: SILVA, 2022.

Tabela 3. Determinação da carga bacteriana nas amostras de medicamentos de referência analisadas

Amostras	UCF/mL			Presença de <i>Escherichia coli</i>		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
R	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente

Fonte: SILVA, 2022.

O limite microbiano permitido de colônias para bactérias é de 10^2 UFC/mL. As amostras não ultrapassaram o limite permitido, onde G1, G3 e S2 apresentaram crescimento de 10^1 UFC/mL, o G2 e S1 apresentaram crescimento de 10^2 UFC/mL. O S3 e a amostra de referência R, não apresentaram crescimento microbiano. A análise para presença de *Escherichia coli* teve como resultado a ausência de crescimento das 7 amostras.

5.2 DETERMINAÇÃO DA CARGA FÚNGICA

Os dados obtidos estão dispostos da tabela 4 a 6

Tabela 4. Determinação da carga fúngica nas amostras de medicamentos genéricos analisadas

Amostras	UCF/mL		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3
G1	ausente	ausente	ausente
G2	ausente	ausente	ausente
G3	ausente	ausente	ausente

Fonte: SILVA, 2022.

Tabela 5. Determinação da carga fúngica nas amostras de medicamentos similares analisadas

Amostras	UCF/mL		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3
S1	10^1	10^1	10^1
S2	ausente	ausente	ausente
S3	ausente	ausente	ausente

Fonte: SILVA, 2022.

Tabela 6. Determinação da carga fúngica nas amostras de medicamentos de referência analisadas

Amostras	UCF/mL		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3
R	ausente	ausente	ausente

Fonte: SILVA, 2022.

Segundo a farmacopeia brasileira, o limite permitido para carga fúngica é de 10^1 UFC/mL. As amostras não ultrapassaram o limite, onde apenas o S1 apresentou crescimento de 10^1 UFC/mL.

Medicamentos industrializados devem apresentar a qualidade esperada, já que estabelecimentos como drogarias e postos de saúde não possuem infraestrutura necessária para a realização de ensaios de qualidade. Nesse caso é importante que sejam armazenados em locais que garantirão estabilidade físico-química e microbiológica. Porém, isto não é uma solução para aqueles produtos que já são adquiridos com problemas de qualidade (KNAPPMAN; MELO, 2010).

Segundo estudo realizado por Schindler, *et al.* (2015), porém, com medicamentos em uso, obteve também um resultado negativo em relação ao crescimento de bactérias e fungos em produtos não estéreis, onde, o crescimento esteve de acordo com as especificações farmacopeicas.

No estudo realizado por Santos (2018), ainda com medicamentos in use, evidenciou-se que apenas 1 entre 10 amostras estava fora do padrão para análise de presença de fungos, e todas as demais se adequaram ao padrão estabelecido para bactérias e fungos.

No estudo de Fornari (2012), onde a análise de 6 amostras ocorreu pré e pós armazenamento domiciliar, verificou-se que nenhuma das amostras apresentou crescimento significativo tanto para fungos quanto para bactérias. Considera-se que a principal fonte de contaminação do produto acabado ocorre pela equipe de produção, pelas matérias-primas, e pelo ar que pode conter esporos de fungos e leveduras, levando a contaminação do produto.

Em Vieira, *et al.* (2020), avaliou-se o controle microbiológico de produtos não estéreis. Apenas 1 das 77 amostras de preparações aquosas para uso oral que foram avaliadas apresentou contaminação por bactérias.

Todos os estudos citados no trabalho se tratavam de amostras recolhidas em domicílio, medicamentos abertos, onde de alguma forma poderia haver contaminação devido a fatores extrínsecos, diferente das amostras analisadas no presente estudo, adquiridas nas farmácias.

6. CONCLUSÃO

A garantia da qualidade e o controle de fabricação previstos nas boas práticas devem garantir que o produto cumpra as especificações determinadas, isto é, que atendam além de outros parâmetros, aos limites aceitáveis para micro-organismos.

Com base nos resultados obtidos na análise microbiológica da dipirona solução oral 500 mg/mL é possível concluir que o crescimento de UFC está dentro dos limites permitidos pela farmacopeia.

Apenas 1 (S1) amostra apresentou crescimento de carga fúngica estando dentro do limite de 10^1 UFC/mL.

Na análise de carga microbiana, 2 (R e S3) amostras não apresentaram crescimento, e 5 (G1, G2, G3, S1 e S2) amostras apresentaram crescimento dentro do limite permitido de 10^2 UFC/mL.

Não houve diferenciação de resultados entre as formas de apresentação entre referência, genéricos e similares.

O presente estudo evidenciou também a efetividade do controle de qualidade na indústria farmacêutica.

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n° 301, de 21 de agosto de 2019, dispõe sobre Boas Práticas de fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 21 de ago. 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou>. Acesso em: 24 nov. 2021.

ALMEIDA, Maria *et al.* *Staphylococcus aureus*. **Mostra científica em Biomedicina**, Quixadá, v 1, n° 1, 2016. Disponível em: <file:///C:/Users/Albertino/Downloads/842-2907-1-PB.pdf>. Acesso em: 24 nov. 2021.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>. Acesso em: 11 dez. 2021.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 6ª Ed. Brasília, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>. Acesso em: 11 dez. 2021.

CABRAL, C; PITA, R.B. **FORMAS E FORMATOS DOS MEDICAMENTOS: A evolução das formas farmacêuticas**. COIMBRA: [s. n.], 2015. 36 p. ISBN 978-972-8627-59-1. Disponível em: https://www.uc.pt/ffuc/patrimonio_historico_farmaceutico/publicacoes/catalogosdeexpoicoes. Acesso em: 11 dez. 2021.

CORRÊA, J.C.V. **Qualidade dos medicamentos comercializados no Brasil segundo dados do Instituto Nacional de Controle em Saúde do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, 2003. 152 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-30092011-122030/publico/Jose_Carlos_Valenca_Correa_Mestrado.pdf. Acesso em: 13 nov. 2021.

FERREIRA, A. O; SOUZA, G.F. **Preparações orais líquidas**. 3. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2011. Disponível em: <https://issuu.com/pharmabooks/docs/pol3/6>. Acesso em: 23 set. 2021.

FERREIRA, Bruna *et al.* Estudo de estabilidade físico-química e microbiológica de dipirona em gotas armazenadas em residências do município de São Luís de Montes Belos-GO. **Revista Faculdade Montes Belos**, Goiás, v 7, n° 1, p.109-120, 2014. Disponível em: <http://revista.fmb.edu.br/index.php/fmb/article/view/111/106>. Acesso em: 24 set. 2021.

FORNARI, A. **Qualidade de soluções orais de dipirona 500mg/ml armazenados em farmácias domiciliares**. Cascavel, 2012. 26 p. Monografia (Bacharelado em Farmácia). Faculdade Assis Gurgacz. Disponível em: <https://www.fag.edu.br/upload/graduacao/tcc/515306ea47cb5.pdf>. Acesso em: 23 mai. 2022.

JR., L.V. A.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. Porto Alegre: Grupo A, 2013. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788565852852/>. Acesso em: 22 set. 2021.

JUNIOR, J.A.B. **Controle de qualidade de dipirona solução oral comercializada na cidade de Cuité-PB**: avaliação físico-química entre medicamentos de referência, genérico e similares. Paraíba, 2013. 37p. Monografia (Bacharelado em Farmácia) Universidade Federal de Campina Grande. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/handle/riufcg/10060>. Acesso em: 26 nov. 2021.

KNAPPMAN, A.L; MELO, E.B. Qualidade de medicamentos isentos de prescrição: um estudo com marcas de dipirona comercializadas em uma drogaria de Cascavel-PR. **Ciência e Saúde Coletiva**. Paraná-PR, v15, n3, p.3467-3476, 2010.

LOBO, R. N. **Gestão da Qualidade**. São Paulo: Editora Saraiva, 2010. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536517797/>. Acesso em: 22 set. 2021.

LUNDOV, M. D.; MOSEBY, L.; ZACHARIAE, C.; JOHANSEN, J. D.; Contamination versus preservation of cosmetics: a review on legislation, usage, infections, and contact allergy. **The Authors Journal compilation Blackwell Munksgaard**, v 60, p.70-78, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/j.1600-0536.2008.01501.x>. Acesso em: 14 abr. 2022.

LUSTOSA, Alane *et al.* Aspectos gerais de infecções por bactérias do gênero Salmonella, um problema de saúde pública e animal. **Society and Development**, v 10, n° 4, 2021. Disponível em: [file:///C:/Users/Albertino/Downloads/13656-Article-181439-1-10-20210402%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Albertino/Downloads/13656-Article-181439-1-10-20210402%20(1).pdf). Acesso em: 24 nov. 2021.

MURRAY, P.R. **Microbiologia Médica Básica**. Rio de Janeiro: Grupo Gen, 2018. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788595151758/epubcfi/6/8%5B%3Bvnd.vst.idref%3DB9788535290363000300%5D!/4/2/64%5Bp0150%5D/1:24%5Bck%20%2CR.%5D>. Acesso em: 24 nov. 2021.

MURRAY, P.R; ROSENTHAL, K.S; PFALLER, M.A. **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Grupo Gen, 2017. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788595151741/epubcfi/6/10%5B%3Bvnd.vst.idref%3DB9788535285758000801%5D!/4/2/7:63%5Bor%3%A7%2Coss%20%5D>. Acesso em: 24 nov. 2021.

PINTO, T.D.J. A.; KANEKO, T. M.; PINTO, A. F. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. São Paulo: Editora Manole, 2015. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520450062/>. Acesso em: 22 set. 2021.

RODRIGUES, Bruna *et al.* Estudo sobre a estabilidade do princípio ativo da dipirona sódica. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**. Minas Gerais, v 36, n 1, p 124-129, set-nov 2021. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20210906_133233.pdf. Acesso em: 27 nov. 2021.

SAFAR, L.G. **Controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos não estéreis**. Belo Horizonte, 2012. 56 p. Monografia (Especialista em Microbiologia) Universidade Federal de Minas Gerais. Disponível em: <https://docplayer.com.br/52226508-Controle-de-qualidade-microbiologico-de-produtos-farmacuticos-nao-estereis.html>. Acesso em: 12 nov. 2021.

SANTOS, T. **Avaliação da qualidade microbiológica de amostras de dipirona solução oral *in use***. Cuité, 2018. 54p. Monografia (Bacharelado em Farmácia) Universidade Federal de Campina Grande. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/6890>. Acesso em: 22 mai. 2022.

VIEIRA, A.; SANTOS, J. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos Anfotericina B, Fluconazol e caspofungina. 2016. Disponível em: http://www.sgponline.com.br/rbac/sgp/doi/article.asp?cod_fluxo=407&cod_versao=440&ObjSubmissao=1. Acesso em: 25 nov. 2021.

VIEIRA, N.; VIANNA, W.; ALMEIDA, J. Controle de qualidade microbiológica de produtos não estéreis. **Brazilian Journal of development**, Curitiba, v.6, n 1, p. 2889-2901, jan.2020. Disponível em: <https://normas-abnt.espm.br/index.php?title=Artigo>. Acesso em: 22 set. 2021.

YAMAMOTO, C. H; PINTO, T. J A; MEURER, V. M; CARVALHO, A.M.; REZENDE, P. R. Controle de Qualidade Microbiológico de Produtos Farmacêuticos, Cosméticos e Fitoterápicos Produzidos na Zona da Mata. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA**, 2., 2004, Belo Horizonte. Anais. Belo Horizonte: UFMG, 2004. Disponível em: <https://www.ufmg.br/congnext/Desen/Desen7.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2021.