

Controle de Qualidade Microbiológico de Produtos Farmacêuticos, Cosméticos e Fitoterápicos Produzidos na Zona da Mata, MG

Área Temática de Desenvolvimento Regional

Resumo

No processo de fabricação de medicamentos, cosméticos e fitoterápicos, constitui exigência da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a garantia da qualidade de produtos para sua segurança e eficácia. Envolvendo ações neste sentido, implantação das normas de boas práticas de fabricação (BPF) e controle de qualidade de produtos são requeridos para manutenção da integridade do produto e proteção do usuário. Neste projeto, iniciado em 1999, com gerenciamento financeiro e administrativo realizado pela Fundação de Desenvolvimento Regional, foram realizadas consultorias para implantação das normas de BPF e do laboratório de controle de qualidade e ensaios de avaliação da qualidade microbiana e eficácia de produtos. A prestação de serviços teve como público-alvo as indústrias farmacêuticas, cosméticas e fitoterápicas e farmácias de manipulação da região da Zona da Mata, sendo atendidas 25 empresas. Foram analisadas 240 amostras, segundo métodos descritos na Farmacopéia Americana (2003). Dentre as amostras analisadas, 7,7% foram reprovadas por presença de microrganismos acima do limite máximo e patógenos. Os dados obtidos foram importantes no estabelecimento de medidas corretivas e preventivas do processo de fabricação, treinamento de funcionários e constante melhoria e desenvolvimento das empresas. Para a instituição, o projeto possibilitou o treinamento de alunos e aquisição de materiais e equipamentos.

Autoras

Professora Doutora Célia Hitomi Yamamoto, UFJF
Professora Titular Terezinha de Jesus Andreoli Pinto, USP
Farmacêutica Vaneida Maria Meurer, UFJF
Aluna de graduação Ana Maria de Carvalho, UFJF
Bolsista Patrícia Rezende, UFJF

Instituição

Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF e Universidade de São Paulo - USP

Palavras-chave: controle de qualidade; microbiológico; boas práticas de fabricação

Introdução e objetivo

A evolução tecnológica no desenvolvimento e produção de medicamentos, cosméticos e fitoterápicos exige o cumprimento de diretrizes regulamentadas para a evitar e prevenir os riscos na qualidade e segurança dos produtos. A garantia da qualidade é um importante aspecto a ser considerado desde o projeto até a liberação do produto ao consumidor.

A qualidade microbiológica de produtos constitui um dos atributos essenciais para o seu desempenho adequado, principalmente em relação à segurança, eficácia e aceitabilidade destes produtos. Falha nas medidas preventivas e de controle do processo de fabricação pode resultar em produtos inadequados ao consumo. 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 fase 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.

Relatos publicados em periódicos de grande circulação e abrangência demonstram como resultado de falha no controle do processo de fabricação de várias empresas produtoras de medicamentos e cosméticos graves conseqüências à saúde do consumidor, pelo uso de produtos em desacordo com suas características de qualidade estabelecidas, ocasionando casos de morte dos pacientes.

Nos últimos anos, medicamentos administrados por via parenteral em pacientes hospitalizados foram relatados. Os processos de fabricação devem ser documentados a cada lote de produção, constando do histórico do produto todas as ações de controle de qualidade em todas as etapas do processo de fabricação consideradas críticas. Para o controle do processo e do produto terminado, padrões de qualidade são estabelecidos na fase de desenvolvimento do produto e validação dos processos. Todos os lotes produzidos devem apresentar conformidade com estes padrões de qualidade. A qualidade microbiológica de medicamentos, cosméticos e fitoterápicos é definida por padrões microbianos descritos em compêndios oficiais e normas regulamentadoras. Limites máximos de presença de microrganismos no produto e dentre estes, ausência de patógenos estão estipulados.

Os produtos com composição complexa como medicamentos e cosméticos constituem fonte rica em nutrientes para o crescimento de microrganismos. Da mesma forma, produtos com maior atividade de água comparados com amostras com baixo teor de água também favorecem o crescimento.

Matérias-primas, água e pessoal são fontes importantes de contaminação microbiana e devem ser controlados. As matérias-primas de origem natural incluem grupos de produtos obtidos de plantas, partes de plantas ou mesmo extratos e óleos essenciais extraídos por processos químicos bem como aqueles oriundos de minerais ou animais. Tradicionalmente, acredita-se que produtos formulados com estas matérias-primas, especialmente plantas, produzem ação desejada causando menos efeitos tóxicos que as de origem sintética, levando ao emprego crescente dos mesmos como terapêuticos ou cosméticos.

Nas farmácias de manipulação, prescrições com fórmulas contendo matérias-primas de origem vegetal ou animal têm sido cada vez mais freqüentes. A diferença que existe entre a farmácia de manipulação e a indústria farmacêutica ou cosmética é a característica de formulação magistral individualizada. 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 pedidos com quantidades específicas. Neste processo de fracionamento, podem ser carreados para as matérias-primas partículas viáveis e não-viáveis aumentando a carga microbiana contaminante.

A contaminação microbiana pode levar ao comprometimento do desempenho do produto devido à quebra da estabilidade da formulação, alteração das características físicas e aparência e levar a inativação dos princípios ativos e excipientes da formulação e ainda, causar a perda de confiança na empresa. Além disso, a administração de produtos contaminados pode agravar quadros clínicos de pacientes já debilitados pela doença. Ressalta-se ainda, a necessidade de investigar o sistema conservante visto que muitos fabricantes utilizam-no na tentativa de manter a carga microbiana dentro do limite estipulado, contudo, desconsiderando a toxicidade decorrente do uso desse sistema. Para pequenas empresas produtoras e farmácias de manipulação, a implantação de laboratório de controle de qualidade microbiológico limitada pelo investimento necessário para a 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.

O presente projeto teve como objetivo contribuir para o desenvolvimento tecnológico das empresas de produção e manipulação de medicamentos, cosméticos e fitoterápicos através da prestação de serviços no controle de qualidade microbiológico e consultoria para implementação das normas de boas práticas de fabricação e manipulação e melhoria dos serviços prestados à comunidade. Com a realização das ações estabelecidas, possibilitou a integração dos profissionais e acadêmicos do curso de Farmácia e Bioquímica com a realidade do campo profissional, promovendo treinamento e atualização dos recursos humanos.

Metodologia

A Fundação para o Desenvolvimento Regional (FUNDER) realizou a gestão financeira e administrativa das atividades do projeto. O desenvolvimento das atividades de prestação de serviços de garantia da qualidade pelo Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico da Faculdade de Farmácia e Bioquímica foi realizado de acordo com a solicitação pelas empresas produtoras da região mineira da Zona da Mata ou por meio de convênio firmado com a Pró-Reitoria de Extensão da Universidade Federal de Juiz de Fora. Participaram deste projeto, no período de 1999 à 2004, 25 empresas, sendo que os trabalhos envolveram atividades relacionadas com consultoria para implantação de laboratório de controle de qualidade microbiológico, estudo da eficácia de produtos cosméticos e normas de boas práticas de fabricação, análises microbiológicas de matérias-primas, produtos em processo e produtos acabados de diferentes apresentações de medicamentos, cosméticos e fitoterápicos. As 240 amostras enviadas, nas formas de matérias-primas, cremes e loções, sabonetes, xampus, condicionadores capilar, géis, extratos de plantas, cápsulas, xaropes, líquidas, emulsões, suspensões e outras, foram analisadas e os certificados de análise correspondentes encaminhados às empresas.

Os ensaios analíticos empregados estão descritos, como métodos gerais de contagem em placas de microrganismos aeróbios e fungos, pesquisa dos microrganismos patogênicos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus* e teste de eficácia do sistema conservante, na Farmacopéia Americana 26ed. (2003). No procedimento de contagem adotado, alíquota de 10 g ou mL de cada amostra foram transferidas para 90 mL de caldo caseína de soja estéril. A partir desta primeira diluição, foram realizadas mais 3 a 5 diluições 10^{-1} , empregando o mesmo diluente. Para as contagens de microrganismos aeróbios viáveis e de fungos totais foram empregados, respectivamente, meios ágar caseína de soja e ágar Sabouraud dextrose. Das duas últimas diluições, foi retirado 1 mL e depositado no centro de uma placa esterilizada, procedendo a análise em duplicata. Para cada placa, foram adicionados 15 mL de ágar caseína de soja, esterilizado e fundido a cerca de 45 °C. Após a solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas por 48 a 72 horas entre 30 a 35 °C. Para a contagem de fungos, seguir o procedimento empregado na contagem de bactérias aeróbias totais com meio de cultura ágar Sabouraud-Dextrose, incubando as placas entre 20 a 25 °C por 5 a 7 dias. Pesquisa de microrganismos patogênicos foi realizada com a pesagem e transferência de 1 g do produto para meio de caldo caseína de soja e meio caldo lactosado. Após a incubação por 24 a 48 horas, com o auxílio de alça microbiológica, foram transferidas alçadas do meio caldo caseína para placas de Petri contendo meio ágar Vogel-Johnson e ágar Manitol por estrias de esgotamento. As placas foram incubadas entre 30 a 35 °C por 24 a 48 horas.

Na presença de presença de colônias, após a observação de colônias típicas de *Staphylococcus aureus*, foram realizados testes de confirmação de coloração de Gram, provas de catalase e coagulase. Para a pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* o mesmo procedimento anterior foi adotado, empregando meio ágar cetrimida. Para a confirmação, foram realizados o teste de coloração de Gram, prova de citocromo-oxidase e em ágar inclinado de infusão de cérebro e coração. A pesquisa de *Escherichia coli* foi realizada a partir de transferência de

alçadas do meio caldo lactosado para placas contendo ágar MacConkey. A pesquisa de *Salmonella* spp envolveu o enriquecimento em meios de caldos selenito-cistina e tetrionato de sódio e subculturas por estrias de esgotamento em meios de cultura ágar sulfito-bismuto e ágar verde brilhante. No teste de desafio microbiológico, os produtos foram propositalmente contaminados com microrganismos específicos e a carga microbiana avaliada em intervalos de tempo definidos. Os microrganismos-testes recomendados foram *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Escherichia coli* ATCC 8739. A suspensão microbiana padronizada foi preparada com repique do microorganismo-padrão para tubo de ensaio contendo o meio inclinado seguido de incubação a 35 ± 1 °C por cerca de 24 horas. Foram adicionados ao tubo inclinado, 5 mL de solução fisiológica estéril. Foram realizadas contagem de microrganismos presente na suspensão com a técnica de semeadura em profundidade em meio ágar caseína de soja. A concentração do inóculo foi ajustada para 10^5 a 10^6 UFC/g do produto. As amostras foram inoculadas com a suspensão de cada microrganismo separadamente. Quantidade de 20 g do produto foi inoculado com 0,2 mL da suspensão microbiana. Os frascos com as amostras inoculadas foram mantidos entre $22,5 \pm 2,5$ °C. Contagens da carga de microbiana foram realizadas até 28 dias após a inoculação. Os resultados foram comparados com limites estabelecidos para avaliar a eficácia do sistema conservante presente no produto. Determinações do pH e as características físicas do produto foram realizados.

As atividades laboratoriais foram desenvolvidas com a colaboração de técnico nível superior e, após o treinamento, alunos do curso de graduação da Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Neste treinamento, foram ministrados conhecimentos dos processos produtivos, considerando aspectos da qualidade desde o recebimento das matérias-primas, material de embalagem, controle do processo e do produto e a importância da interação entre os setores de controle de qualidade e produção.

Resultados e discussão

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 de Vigilância Sanitária (ANVISA), tem atuado mais próxima às empresas produtoras, incluindo indústrias e farmácias de manipulação, e exigido o cumprimento às regulamentações técnicas estabelecidas e procedimentos documentados do processo de fabricação garantindo a qualidade final do produto. As atividades desenvolvidas neste projeto incluíram a consultoria relacionada com procedimentos para a garantia da qualidade dos produtos e prestação de serviço para avaliação da qualidade sanitária das amostras analisadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Atividades de extensão universitária desenvolvidas pelo Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora no período de 1999 à 2004.

Atividade	Alcance
Auditoria	Quatro empresas
Avaliação da eficácia de produto cosmético	Uma empresa
Consultoria para implantação do laboratório de controle de qualidade microbiológico	Duas empresas
Consultoria para implantação das normas de Boas Práticas de Fabricação	Uma empresa
Controle de qualidade microbiológico de produtos	25 empresas
Relatório técnico	Um
Treinamento de pessoal	Oito alunos

As atividades de inspeção ou auditoria nas empresas possibilitou detectar falhas de procedimento e documentação de dados. Os procedimentos padronizados descritos, a documentação de cada lote de produção com controle de todas as etapas de produção constituiu em material para treinamento de pessoal efetivo pela observação da relação entre a falha do processo, aplicação de medidas corretivas e preventivas, evitando perdas de material e tempo, resultando em melhoria da qualidade de serviços e produtos. O estudo da eficácia de produtos cosméticos foi realizado resultando em elaboração de documentos técnicos para processo de pedido de registro por uma empresa de cosmético.

Em relação à qualidade sanitária, várias são as fontes de contaminação dos produtos. Nas farmácias de manipulação, a preparação de formulações é prescrita individualmente e os produtos elaborados artesanalmente, exigindo aquisição de menor quantidade de matérias-primas. Desta forma, fornecedores fracionam as matérias-primas, possibilitando neste procedimento a introdução de contaminantes microbianos.

Os resultados das análises microbiológicas para a avaliação da qualidade sanitária das amostras em relação à contaminação e pesquisa de microrganismos patogênicos estão na Tabela 2. Com a realização das atividades com empresas envolvidas no projeto, o aluno tem oportunidade para conhecer o campo profissional possibilitando sua capacitação profissional.

Tabela 2 – Resultados das análises microbiológicas de matérias-primas, produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos, de 25 empresas produtoras, realizados no Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico, no período de 1999 à 2003.

Amostras	Total
Analisadas	260 (100%)
Aprovadas	240 (92,3%)
Reprovadas	20 (7,7%)
Reprovadas por contagem de microrganismos aeróbios acima do limite estabelecido	13 (5%)
Reprovadas por contagem de fungos acima do limite estabelecido	8 (3,1%)
Reprovadas por presença de <i>Escherichia coli</i>	2 (0,8%)
Reprovada por presença de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	1 (0,4%)

Do total das empresas, 10 (40%) apresentaram falha no atendimento às especificações quanto à presença de contaminantes acima do limite especificado. De acordo com as especificações quanto às contagens de microrganismos aeróbios viáveis e fungos totais, os valores encontrados e comparados com o padrão FIP (1976) demonstraram que 7,7% das amostras analisadas estavam fora do limites aceitáveis (Tabela 2).

Dados da literatura correlacionam níveis de contaminação mais elevados para matérias-primas de origem natural como as plantas. No entanto, neste trabalho não foi observada esta correlação. Amostras de cápsulas contendo derivados de partes da plantas, extratos e tinturas apresentaram conformidade com a especificação.

Entre produtos industrializados e manipulados, maior número de amostras contaminadas foi observado em indústria de cosmético em fase de implantação do laboratório de controle de qualidade. Em relação à pesquisa de microrganismos patogênicos, duas amostras na forma de creme cosmético apresentaram presença de *Escherichia coli* e uma destas, presença também de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Os ensaios microbiológicos de vários tipos de preparações, a necessidade de validação de procedimentos, controle das condições de realização dos procedimentos constituíram em treinamento de

alunos de graduação da instituição. As análises realizadas possibilitaram obtenção de recurso para a manutenção dos serviços prestados pelo laboratório.

Para a Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia, Prefeitura do Campus Universitário e Fundação gestora, recursos são adquiridos com a execução do projeto, auxiliando no desenvolvimento e manutenção das atividades desenvolvidas.

Conclusões

É importante ressaltar que existe no mercado grande diversidade de matérias-primas e produtos em várias formas de apresentação evidenciando, a necessidade de um controle de qualidade rigoroso, principalmente quando ocorre a dificuldade na identificação ou conhecimento da procedência dos mesmos. Para as empresas produtoras de medicamentos, cosméticos e fitoterápicos, as atividades desenvolvidas no presente projeto permitiram o atendimento às exigências da Vigilância Sanitária presente no Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação e Manipulação relacionadas com o controle de qualidade de produtos. Os resultados das análises possibilitaram detectar falha no processo de fabricação, avaliar os procedimentos operacionais padronizados, analisar a ficha de fabricação e estabelecer medidas corretivas e preventivas adequando e melhorando os procedimentos através de treinamento de pessoal. Com isto, obtendo melhoria da qualidade, maior produtividade e desenvolvimento da empresa e de seus funcionários.

A implantação das normas de boas práticas possibilitou a padronização dos procedimentos nos setores produtivos, organização e otimização de processos. No estudo de eficácia de produtos cosméticos, relatórios técnicos foram elaborados com a documentação dos resultados, possibilitando à empresa cosmética obter o registro de seus produtos junto ao Ministério da Saúde para a autorização de sua produção e comercialização. Os recursos financeiros obtidos possibilitaram a aquisição de equipamentos como contador de colônias, agitador *Vortex*, materiais de consumo como meios de cultura, vidraria, reagentes, gaiolas e animais de laboratório.

Referências bibliográficas

ARAÚJO, A.L.A. **Qualidade microbiológica de drogas vegetais comercializadas em feira do município de São Paulo e de infusos derivados**. 1998. 83 f. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998

BRASIL. Resolução RDC n. 33, de 19 de Abril de 2000. Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas de manipulação de medicamentos em farmácias. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/show>> acesso em: 15 de abril de 2004.

UNITED STATES OF PHARMACOPEIA. 26 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2003

BRASIL. Resolução RDC n. 33, de 19 de Abril de 2000. Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas de manipulação de medicamentos em farmácias. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/show>> acesso em: 15 de abril de 2004.

BRASIL. Resolução RDC n. 210, de 04 de agosto de 2003. Dispõe o regulamento técnico das boas práticas de fabricação de medicamentos. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/show>> acesso em: 15 de abril de 2004.

FRÖES, L. Xampus irritam olhos e couro cabeludo. **O Globo**, Rio de Janeiro, 4 de agosto de 1996. Jornal da família, p. 2.

LABORATÓRIO culpa soro por morte de 23. **Folha de São Paulo**, São Paulo. 1º de novembro de 1997. cad. São Paulo 3. p. 6

LAUDO culpa laboratório por morte de bebês. **Folha de São Paulo**, São Paulo. 15 de outubro de 1997. cad. São Paulo 3. p. 3

PINTO, Terezinha de Jesus Andreoli; KANEKO, Telma Mary; OHARA, Mitsuko Taba. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. São Paulo: Atheneu, 2000. 309p.

YAMAMOTO, C.H. et al. Contaminação microbiana em matérias-primas de origem natural empregadas em farmácia de manipulação. **Farmácia e Química**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 42-47, 2000.