

Universidade de Brasília
Departamento de Farmácia



Gabriel Torres de Lima

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE CONSERVANTES EM AMOSTRAS DE
DROPROPIZINA XAROPE**

Brasília
2023

Universidade de Brasília
Departamento de Farmácia

Gabriel Torres de Lima

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE CONSERVANTES EM AMOSTRAS DE
DROPROPIZINA XAROPE**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Departamento de Farmácia da Universidade de Brasília como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Bacharel em Farmácia. Sob a orientação da Professora Pérola De Oliveira Magalhães Dias Batista.

Brasília

2023

RESUMO

Os medicamentos multidose são amplamente utilizados nos dias atuais, pois oferecem maior praticidade e custo-benefício tanto para os pacientes quanto para os fabricantes da indústria farmacêutica. No entanto, é necessário que o medicamento passe por uma série de testes que assegurem a qualidade e a segurança durante todo o ciclo de vida do produto. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia do sistema conservante do produto mencionado, fabricado por dois diferentes fabricantes, seguindo a metodologia e os critérios de aceitação estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), conforme descritos na Farmacopeia Brasileira, VI edição. O produto farmacêutico avaliado foi DROPROPIZINA 3 MG/ML XAROPE que é um medicamento líquido. A contaminação microbiológica e a estabilidade do medicamento são aspectos cruciais a serem considerados na avaliação da qualidade e segurança de um produto farmacêutico. A contaminação microbiológica refere-se à presença indesejada de microrganismos, como bactérias, fungos e vírus, em um medicamento. Essa presença pode representar um risco significativo para a saúde do paciente, especialmente para aqueles com sistema imunológico comprometido. Após a realização dos testes seguindo os procedimentos estabelecidos pelo órgão regulador, foi possível comprovar que os produtos avaliados estão em conformidade com os critérios de qualidade e segurança estabelecidos pela ANVISA. Esses resultados respaldam a confiabilidade e a eficácia do sistema conservante do produto, garantindo que eles são adequados e seguros para uso pelos pacientes. Essas conclusões são essenciais para assegurar a qualidade e a eficácia dos medicamentos, promovendo a saúde e a segurança dos usuários.

Palavras-chave: Contaminação microbiológica, estabilidade do medicamento, medicamentos multidose, eficácia do sistema conservante.

ABSTRACT

Multi-dose medications are widely used nowadays as they offer greater convenience and cost-effectiveness for both patients and pharmaceutical manufacturers. However, it is necessary for the medication to undergo a series of tests to ensure quality and safety throughout the product's lifecycle. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of the preservative system of the mentioned product, manufactured by two different manufacturers, following the methodology and acceptance criteria established by the Agência Nacional de Vigilância Sanitária (National Health Surveillance Agency) (ANVISA), as described in the Brazilian Pharmacopoeia, 6th edition. The evaluated pharmaceutical product was DROPROPIZIN 3 MG/ML SYRUP, which is a liquid medication. Microbiological contamination and medication stability are crucial aspects to consider in evaluating the quality and safety of a pharmaceutical product. Microbiological contamination refers to the undesired presence of microorganisms such as bacteria, fungi, and viruses in a medication. This presence can represent a significant risk to patient health, especially for those with compromised immune systems. Following the tests according to the procedures established by the regulatory agency, it was possible to demonstrate that the evaluated products comply with the quality and safety criteria established by ANVISA. These results support the reliability and effectiveness of the product's preservative system, ensuring that they are suitable and safe for patient use. These conclusions are essential to ensure the quality and effectiveness of medications, promoting the health and safety of users.

Keywords: Microbiological contamination, medication stability, multi-dose medications, effectiveness of the preservative system.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF – Boas práticas de Fabricação

UFC – Unidade Formadora de Colônia

TNTC – *Too Numerous To Count* (Muito Numeroso Para Contar)

TSA – *Tryptic Soy Agar* (Ágar Tríptico de Soja)

SDA – *Sabouraud Dextrose Agar* (Ágar Sabouraud Dextrose)

ATCC – *American Type Culture Collection*

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Microrganismos de referência utilizados nos testes de recuperação microbiana e eficácia de conservantes. (6)	10
Quadro 2 - Composição dos produtos referentes ao fabricante 1 e 2.	10
Quadro 3 - Conservantes e agentes neutralizantes. (6)	11
Quadro 4 - Categorização de produtos conforme formas farmacêuticas para Eficácia de Conservantes. (6).....	12
Quadro 5 - Microrganismos, respectivos meios de cultura e condições de incubação. (6).....	13
Tabela 1 - Critérios de aceitação para as categorias de produto. (5).....	16
Tabela 2 - Avaliação dos resultados do tempo inicial para o Fabricante 1	17
Tabela 3 - Avaliação dos resultados do tempo inicial para o Fabricante 2	17
Tabela 4 - Avaliação dos resultados do 14º dia para o Fabricante 1	19
Tabela 5 - Avaliação dos resultados do 14º dia para o Fabricante 2	19
Tabela 6 - Avaliação dos resultados do 28º dia para o Fabricante 1	20
Tabela 7 - Avaliação dos resultados do 28º dia para o Fabricante 2.....	20
.....	

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVO.....	9
3. MATERIAIS E MÉTODOS	9
3.1. Meios de cultura e soluções utilizadas.....	9
3.2. Microrganismos.....	10
3.3. Procedimentos.....	10
3.3.1. Amostragem	10
3.3.2. Considerações gerais.....	11
3.4. Teste-controle de Meios e Cultura e Diluentes	13
3.5. Teste de Controle Positivo do Inóculo.....	13
3.6. Teste de Eficácia de Conservantes	14
4. CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO	15
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
6. CONCLUSÃO.....	21
7. REFERÊNCIAS.....	22

1. INTRODUÇÃO

Preparações orais aquosas em recipientes multidose pertencem aos produtos mais propensos ao crescimento microbiano. Como esse crescimento pode levar à deterioração microbiana, perda da atividade terapêutica ou riscos para a saúde do paciente, tais produtos geralmente contêm um conservante antimicrobiano. (1) Todos os produtos estão sujeitos à contaminação por microrganismos, e o crescimento destes depende de diversos fatores químicos e físicos, incluindo a disponibilidade de água, a composição do produto, a temperatura de armazenamento e a presença, ou não, de substâncias químicas antimicrobianas. (2)

Conservantes são substâncias adicionadas aos produtos farmacêuticos, multidose estéreis ou não estéreis, com o objetivo de protegê-los do crescimento de microrganismos acidentalmente introduzidos durante o processo de fabricação ou durante o seu consumo e é importante ressaltar que a adição de conservantes a um produto não substitui as Boas Práticas de Fabricação (BPF) (2). Para maior proteção dos pacientes, a concentração do conservante deve ser adequada e em um nível não tóxico. O teste de avaliação da eficácia de conservantes é realizado para assegurar que o tipo e a concentração de um sistema de conservação de um determinado produto é eficaz e produz um resultado satisfatório, garantindo segurança ao produto e ao paciente, consistindo na inoculação de microrganismos em uma concentração conhecida, neste caso 1×10^8 unidades formadoras de colônia (UFC) (3).

O produto DROPROPIZINA XAROPE é um produto farmacêutico oral de base aquosa e com função multidose, é indicada para o tratamento sintomático de curto prazo da tosse seca em adultos e crianças acima de 2 anos de idade, que pode ser causada por diversas doenças do sistema respiratório (4). Levando em consideração o amplo uso de antitussígenos na população mundial é necessária uma produção industrial adequada, assim como um rigoroso controle de qualidade. Nesse sentido, deve-se destacar que o teste de eficácia de conservantes é uma das ferramentas de controle de qualidade utilizadas na indústria farmacêutica para verificar a adequação do produto, além de ser de importância para a determinação do prazo de validade do produto (4). Dada a categoria do produto, este foi analisado imediatamente após a inoculação dos microrganismos, após 14 dias e, por fim, 28 dias após a inoculação (4). Ressalta-se que para que o teste seja realizado de forma adequada, um bom sistema de recuperação deve ser escolhido. Quando um agente antimicrobiano é incluído na preparação pode causar

problemas de incompatibilidade, como a perda de potência pela interação com outros componentes ou distribuição entre fases diferentes ainda mais pelo fato do objeto de estudo tratar-se de uma suspensão, ou seja, a matriz do produto não está bem distribuída em todo o conteúdo do frasco (2).

O conservante deve ser compatível com outros excipientes. Ele deve permanecer estável em uma ampla faixa de pH e temperatura. O conservante determina a vida útil do produto. O composto não deve causar qualquer reação adversa (6).

O objeto de estudo foi avaliado também quanto à sua variabilidade entre fabricantes, ou seja, foram utilizadas duas amostras do xarope presentes no mercado e de dois fabricantes diferentes. Considerando que cada fabricante utiliza formulações e processos diferentes e as matérias-primas envolvidas na produção deste medicamento possuem qualidade diferentes, o estudo permitiu que a qualidade e a segurança do medicamento fossem testadas independente de qualquer variável envolvida no processo de formulação.

2. OBJETIVO

O objetivo deste estudo de eficácia de conservantes foi avaliar a qualidade e segurança do medicamento DROPROPIZINA 3,0 MG/ML XAROPE de dois fabricantes diferentes que podem ser encontrados em diversas farmácias de todo o Brasil. As atividades bacteriostática e bactericida das formulações foram desafiadas por meio da capacidade de inibição do crescimento microbiano de uma quantidade determinada de cepas quantificadas inoculadas e incubadas junto ao produto, e o parecer dado ao final deste estudo foi realizado considerando os critérios de aceitação estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da Farmacopeia Brasileira VI edição.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Meios de cultura e soluções utilizadas

- a) Ágar Trípico de Soja (TSA)
- b) Ágar Sabouraud Dextrose (SDA)
- c) Solução salina 0,9% (NaCl 0,9%)

Todos os meios de cultura, reagentes e soluções utilizados neste estudo estavam estéreis. Para garantir tal condição, foi realizado um controle negativo destes a cada teste realizado. Além disso, todos os materiais foram utilizados considerando um prazo de, no máximo, 7 dias após o preparo/esterilização.

Os meios de cultura utilizados nos testes foram fundidos em micro-ondas e deixados em banho-maria à aproximadamente 45°C para a estabilização de sua temperatura.

3.2. Microrganismos

Os microrganismos utilizados foram obtidos a partir de cepas de referência adquiridas já padronizadas e liofilizadas (Quadro 1) e preconizados pela Farmacopeia Brasileira VI edição (6). Ao iniciar o teste, o conteúdo das cepas foi reconstituído em um fluido de reidratação fornecido pelo próprio fornecedor dos microrganismos.

Quadro 1 - Microrganismos de referência utilizados nos testes de recuperação microbiana e eficácia de conservantes. (6)

Microrganismos	ATCC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538
<i>Escherichia coli</i>	8739
<i>Candida albicans</i>	10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404

3.3. Procedimentos

3.3.1. Amostragem

- a) Os ensaios foram realizados utilizando o produto DROPROPIZINA 3,0 MG/ML XAROPE do Fabricante 1 e do Fabricante 2 cuja composição é apresentada no Quadro 2.

Quadro 2 - Composição dos produtos referentes ao fabricante 1 e 2.

Fabricante 1	Fabricante 2
Dropropizina	Dropropizina
Sacarose	Sacarina sódica
Sorbitol	Propionato de sódio
Ácido benzoico	Ciclamato de sódio
Benzoato de sódio	Cloreto de amônio
Álcool etílico	Ácido cítrico

Corante amarelo FD &C nº6	Citrato de sódio di-hidratado
Essência de laranja	Ácido sórbico
Ácido cítrico	Álcool etílico
Glicerina	Corante vermelho ponceau 4R
Água purificada	Aroma de caramelo
	Sacarose
	Água purificada

b) Para avaliar as condições do produto em cada tempo de estudo (Inicial, 14 dias e 28 dias) os conservantes da formulação foram neutralizados pela técnica de diluição e, a partir de cada tempo (Inicial, 14 dias e 28 dias), não interferiram mais no crescimento dos microrganismos presentes na formulação. Para isso a Farmacopeia Brasileira VI edição apresenta uma alternativa (Quadro 3) para a neutralização dos conservantes (6).

Quadro 3 - Conservantes e agentes neutralizantes. (6)

Conservantes	Agentes neutralizantes
Álcool	Diluição
Aldeídos	Diluição, Tiosulfato, Glicina
Bis-biguanidas	Lecitina
Cloreto de mercúrio e outros compostos mercuriais	Tiosulfato de sódio
Clorhexamida	Polissorbato e Lecitina
Compostos amônio quaternários	Lecitina, Polissorbato 80
Compostos fenólicos	Diluição e Polissorbato 80
EDTA	Íons de Mg ⁺⁺ e Ca ⁺⁺
Glutaraldeído	Glicina e Bissulfato de sódio
Halogênios	Tiosulfato
Hipoclorito de sódio	Tiosulfato de sódio
Ácidos orgânicos e seus ésteres	Diluição e Polissorbato 80
Parabenos	Polissorbato 80 e Lecitina
Sorbato	Diluição
Antibiótico beta-lactâmico	Beta-lactamase
Cloranfenicol	Cloranfenicol acetiltransferase
Sulfonamida	Ácido p-aminobenzoico
Trimetoprima	Timidina

3.3.2. Considerações gerais

a) O objetivo do teste de eficácia de conservantes é avaliar as atividades bacteriostática e bactericida das formulações através da capacidade de inibição do crescimento

microbiano de uma quantidade determinada de cepas quantificadas inoculadas e incubadas junto ao produto.

- b) A técnica de *Pour Plate* foi utilizada para a realização do teste e demonstrou ser uma técnica capaz de recuperar os microrganismos sobreviventes à incubação junto ao produto analisado.
- c) Os resultados de contagem de microrganismos sobreviventes em diferentes tempos de incubação foram comparados com o inóculo inicial (controle positivo) e/ou com a contagem do 14º dia de incubação no caso da leitura do 28º dia.
- d) De acordo com a Farmacopeia Brasileira VI edição, os produtos são divididos em 4 categorias (Quadro 4) de acordo com suas formas farmacêuticas. O produto DROPROPIZINA 3,0 MG/ML XAROPE é classificado como categoria 3.

Quadro 4 - Categorização de produtos conforme formas farmacêuticas para Eficácia de Conservantes. (6)

Categoria	Formas Farmacêuticas
1	Injetáveis, outros parenterais incluindo emulsões, produtos otológicos, nasais estéreis, oftálmicos feitos com base ou veículo aquoso.
2	Produtos de uso tópico, com base ou veículo aquoso, produtos nasais não estéreis e emulsões, incluindo aquelas aplicadas em membranas mucosas.
3	Produtos orais com base ou veículo aquoso, exceto antiácidos.
4	Antiácidos com base aquosa.

- e) Para se obter resultados válidos do teste de Eficácia de Conservantes, deve-se garantir que o método utilizado é capaz de recuperar e quantificar os microrganismos presentes na amostra analisada, portanto os seguintes testes foram realizados:
 - Teste-controle de meios de culturas e diluentes: tem como objetivo avaliar se os meios de cultura utilizados (TSA e SDA) e diluentes (NaCl 0,9%) utilizados são aprovados para utilização (avaliação física, esterilidade, capacidade de promoção de crescimento). Foi realizado o Controle Negativo de todos os meios de culturas e diluentes utilizados em todas as etapas da Avaliação da Eficácia de Conservantes.
 - Teste de Controle Positivo de Inóculo: é o teste que determina as quantidades (UFC/mL) inoculadas inicialmente no teste de eficácia.

- Teste de Eficácia de Conservantes: os microrganismos são inoculados diretamente sobre as amostras e são incubados durante 28 dias. Os microrganismos sobreviventes são mensurados por meio de método validado em intervalos de tempos de incubação (0, 14 e 28 dias).
- f) Os testes foram realizados em condições assépticas, sob capela de fluxo laminar previamente sanitizado com Álcool 70%.

3.4. Teste-controle de Meios e Cultura e Diluentes

- a) Para o controle negativo do diluente NaCl 0,9%, foi pipetado 1 mL (em duplicata) em placa de Petri estéril. Em seguida, verteu-se os meios de cultura TSA e SDA.
- b) Para o controle negativo dos meios de cultura TSA e SDA, verteu-se os meios em placa de Petri estéril vazia em duplicata.

3.5. Teste de Controle Positivo do Inóculo

- a) Foram reservados 5 tubos estéreis para cada microrganismo. No primeiro tubo, foi pipetado 9,9 mL de NaCl 0,9% e adicionado o inóculo de 100uL correspondente a 10^8 UFC do microrganismo.
- b) Foram realizadas diluições seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}) nos próximos 4 tubos utilizando 9mL de NaCl 0,9% como diluente e pipetado 1 mL de cada diluição em placa de Petri (em duplicata) e logo após verteu-se o meio de cultura apropriado (TSA para bactérias e SDA para fungos). Após solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas de acordo com o microrganismo analisado (Quadro 5).

Quadro 5 - Microrganismos, respectivos meios de cultura e condições de incubação. (6)

Microrganismo	ATCC	Meio de Cultura	Temperatura de Incubação	Tempo de Incubação
<i>Escherichia coli</i>	9027	TSA	30 - 35°C	3 – 5 Dias
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6538	TSA	30 - 35°C	3 – 5 Dias
<i>Staphylococcus aureus</i>	8739	TSA	30 - 35°C	3 – 5 Dias
<i>Candida albicans</i>	10231	SDA	20 - 25°C	5 – 7 Dias

<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	SDA	20 - 25°C	5 – 7 Dias
---------------------------------	-------	-----	-----------	------------

- c) Após o período de incubação, a leitura das placas foi realizada, e a quantidade de UFC encontrada multiplicada pela diluição escolhida. O resultado encontrado foi considerado como controle de inóculo/controlado positivo, ou seja, a quantidade de microrganismo inicialmente inoculada na amostra, no tempo zero.

3.6. Teste de Eficácia de Conservantes

- a) Para cada um dos dois fabricantes avaliados no teste, foi transferido 10mL do conteúdo da embalagem original para tubos estéreis, de volume adequado, sendo 1 tubo para cada microrganismo teste.
- b) Em cada tubo contendo 10 mL de amostra os 5 microrganismos foram inoculados separadamente, na concentração 1×10^8 UFC. Utilizando alíquotas de 100uL para fazer o inóculo de forma com que a concentração final do microrganismo no produto fosse de 10^5 até 10^6 UFC/mL. Após a inoculação, a solução foi homogeneizada utilizando agitador de tubos (vórtex). Em seguida foi realizado o teste inicial (Tempo zero) para cada um dos 5 microrganismos analisados:
- Foi transferido 1 mL da amostra para tubo contendo 9 mL de NaCl 0,9% (Diluição 10^{-1}).
 - Utilizando mais 5 tubos contendo 9 mL de NaCl 0,9%, realizou-se as diluições seriadas de modo a obter as diluições 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} . Pipetou-se 1 mL de cada diluição em placa de Petri utilizando o meio TSA para bactérias e SDA para fungos em duplicata.

Após a realização dos testes iniciais (Tempo zero), as amostras de produto inoculado com o microrganismo foram incubadas em estufa incubadora a 20 - 25°C para a realização dos testes após 14 e 28 dias de incubação (Figura 1).

- c) Após incubação nos intervalos de tempo aplicáveis à categoria do produto as placas foram lidas e as colônias que se desenvolveram contadas.

- d) A média de cada diluição foi calculada a partir dos valores obtidos nas placas 01 e 02. Foi dada preferência para leitura das diluições que apresentassem resultados entre 10 e 200 UFC por placa. Foi calculado então a diferença logarítmica entre o resultado encontrado para cada tempo de incubação e o controle positivo de inóculo (realizado no tempo inicial) ou com o resultado de 14 dias de incubação.
- e) Placas com contagem evidente acima de 200 UFC foram consideradas como *TNTC* (*Too numerous to count*), ou seja, muito numeroso para contar.

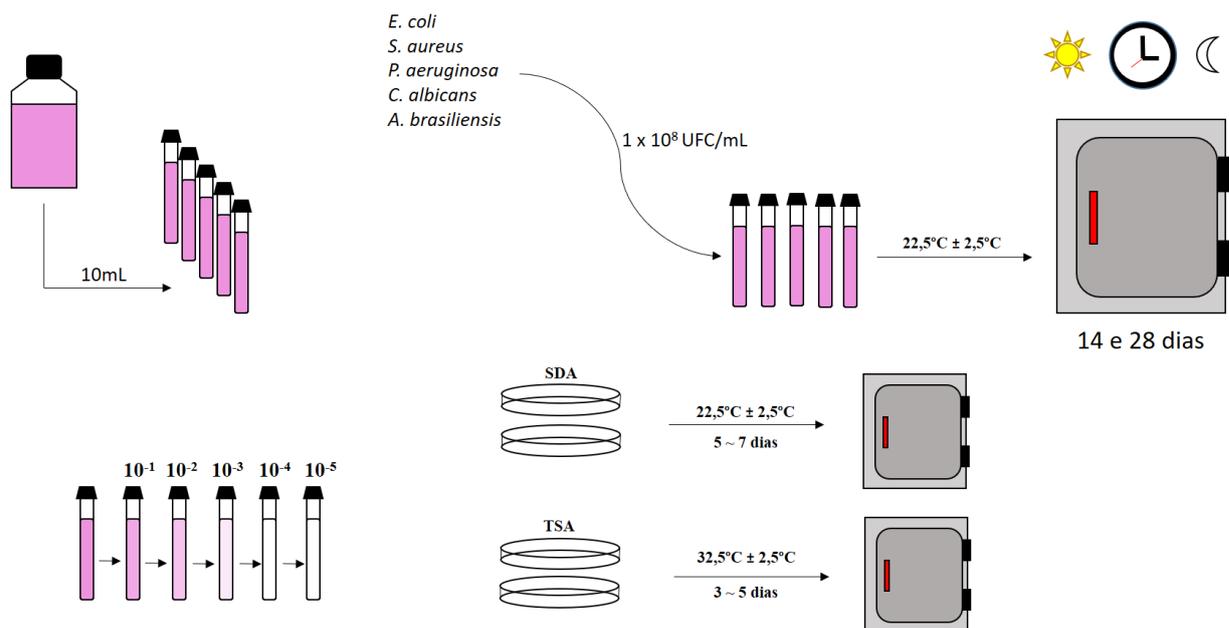


Figura 1. Esquema representativo da análise de eficácia de conservantes.

4. CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO

- Análise todos os controles negativos executados durante a validação para garantir que não haja interferência nos resultados encontrados.
- Os requisitos para aprovar a eficácia antimicrobiana da formulação conservante estão especificados no Tabela 01.
- O “não aumento” do nº de UFC’s inoculados é definido como não mais que $0,5 \log_{10}$ de unidades maiores que o valor previamente obtido.

Tabela 1 - Critérios de aceitação para as categorias de produto. (6)

Categoria	Microrganismo	7° Dia	14° Dia	28° Dia
CATEGORIA 1: Injetáveis, outros parenterais Incluindo emulsões, produtos otológicos, nasais estéreis, oftálmicos feitos com base ou veículo aquoso.	Bactérias	Deve haver redução de 1 log do n° de UFC's inicialmente inoculados.	Deve haver redução de 3 logs do n° de UFC's inicialmente inoculados.	A contagem não deve aumentar em relação ao 14° dia.
	Fungos	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados*.	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados*.	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados*.
CATEGORIA 2: Produtos de uso tópico, com base ou veículo aquoso, produtos nasais não estéreis e emulsões, incluindo aquelas aplicadas em membranas mucosas.	Bactérias	-	Deve haver redução de 2 logs do n° de UFC's inicialmente inoculados.	Não deve haver aumento da contagem em relação 14° dia
	Fungos	-	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados
CATEGORIA 3: Produtos orais com base ou veículo aquoso, exceto antiácidos.	Bactérias	-	Deve haver redução de 1 log do n° de UFC's inicialmente inoculados.	A contagem não deve aumentar em relação 14° dia.
	Fungos	-	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados
CATEGORIA 4: Antiácidos com base aquosa.	Bactérias	-	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados
	Fungos	-	Não deve haver	Não deve haver aumento do n° de UFC's inicialmente

			aumento do n° de UFC's inicialmente inoculados	inoculados
--	--	--	---	------------

- a) Para a avaliação do teste de eficácia, cada microrganismo foi avaliado separadamente e o teste foi considerado aprovada apenas em caso de todos os microrganismos estarem de acordo com o critério de aceitação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização do teste no tempo inicial foi feita a sua leitura para cada microrganismo utilizado de acordo com o tempo estabelecido no Quadro 5. O controle positivo do inóculo apresentou concentração satisfatória de, aproximadamente, 10^8 UFC/mL. As placas com crescimento entre 20 e 200 UFC foram consideradas para realizar os cálculos de concentração e de redução.

A concentração do microrganismo no produto atendeu os critérios estabelecidos pela farmacopeia brasileira VI edição estando entre 10^5 e 10^6 UFC/mL (Tabela 2 e Tabela 3).

Tabela 2 - Avaliação dos resultados do tempo inicial para o Fabricante 1

Microrganismo	Controle do inóculo/ Controle positivo	Log do controle positivo	Concentração do inóculo no Fabricante 1 (tempo inicial)	Log da concentração Fabricante 1	Redução Log no tempo inicial	Critério de aceitação
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	$1,6 \times 10^7$	7,2	$2,2 \times 10^5$	5,3	1,9	N/A
<i>Candida albicans</i>	$6,1 \times 10^7$	7,8	$5,7 \times 10^5$	5,8	2,0	N/A
<i>Escherichia coli</i>	$6,1 \times 10^7$	7,8	$3,4 \times 10^5$	5,5	2,3	N/A
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$4,7 \times 10^7$	7,7	$2,8 \times 10^5$	5,4	2,3	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i>	$5,6 \times 10^7$	7,7	$7,7 \times 10^5$	5,9	1,8	N/A

Tabela 3 - Avaliação dos resultados do tempo inicial para o Fabricante 2

Microrganismo	Controle do inóculo/ Controle positivo	Log do controle positivo	Concentração do inóculo no Fabricante 2 (tempo inicial)	Log da concentração Fabricante 2	Redução Log no tempo inicial	Critério de aceitação
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	$1,6 \times 10^7$	7,2	$2,9 \times 10^5$	5,5	1,7	N/A

<i>Candida albicans</i>	6,1 x 10 ⁷	7,8	6,0 x 10 ⁵	5,8	2,0	N/A
<i>Escherichia coli</i>	6,1 x 10 ⁷	7,8	1,2 x 10 ⁶	6,1	1,7	N/A
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,7 x 10 ⁷	7,7	4,3 x 10 ⁵	5,6	2,1	N/A
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,6 x 10 ⁷	7,7	5,5 x 10 ⁵	5,7	2,0	N/A

A Farmacopeia brasileira VI ed. não estabelece critérios de aceitação para o teste no tempo inicial. O objetivo deste teste inicial (Tempo zero) é avaliar apenas a concentração do inóculo no produto e não a redução microbiana final, uma vez que a atividade do conservante ainda não está sendo avaliada. Contudo, foi realizado adicionalmente, o cálculo da redução. É possível observar que já no tempo inicial, entre a inoculação do microrganismo no produto e a neutralização do conservante, ocorre redução na população de microrganismos.

Para os resultados referentes ao 14^o dia, a amostra do fabricante 1 apresentou uma redução logarítmica satisfatória atendendo os critérios estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (Tabela 4). Como pode ser observado nos resultados apresentados, nenhuma das espécies do grupo de bactérias testadas pôde ser recuperada, indicando uma redução logarítmica total. No entanto, para o grupo de bolores e leveduras, o critério estabelecido pela Farmacopeia Brasileira é que não haja aumento em relação à quantidade inicialmente inoculada. Considerando isso, os conservantes da amostra 1 foram capazes de atender aos critérios estabelecidos pelo órgão regulador.

Na Tabela 5, pode ser notado que, para os resultados referentes ao 14^o dia, o teste realizado com a amostra do fabricante 2 apresentou resultados semelhantes à amostra do fabricante 1, demonstrando uma redução logarítmica satisfatória. Nenhuma das espécies de bactérias testadas pôde ser recuperada, indicando uma redução logarítmica total. Além disso, não houve recuperação de *C. albicans*. No entanto, a recuperação de *A. brasiliensis* foi significativamente inferior ao critério estabelecido pela Farmacopeia Brasileira. Com base nisso, podemos concluir que os conservantes utilizados pelo fabricante 2 também atendem aos critérios estabelecidos pelo órgão regulador.

Tabela 4 - Avaliação dos resultados do 14º dia para o Fabricante 1

Microrganismo	Controle do inóculo/ Controle positivo	Log do controle positivo	Concentração do inóculo no Fabricante 1 (tempo 14 idas)	Log da concentração Fabricante 1	Redução Log no tempo inicial	Critério de aceitação
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	1,6 x 10 ⁷	7,2	1,5 x 10 ⁴	4,2	3,0	Não deve haver aumento
<i>Candida albicans</i>	6,1 x 10 ⁷	7,8	1,8 x 10 ⁴	4,3	3,5	Não deve haver aumento
<i>Escherichia coli</i>	6,1 x 10 ⁷	7,8	0	0	7,8	1 log
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,7 x 10 ⁷	7,7	0	0	7,7	1 log
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,6 x 10 ⁷	7,7	0	0	7,7	1 log

Tabela 5 - Avaliação dos resultados do 14º dia para o Fabricante 2

Microrganismo	Controle do inóculo/ Controle positivo	Log do controle positivo	Concentração do inóculo no Fabricante 2 (tempo 14 dias)	Log da concentração Fabricante 2	Redução Log no 14º dia	Critério de aceitação
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	1,6 x 10 ⁷	7,2	5,0 x 10 ¹	1,7	5,5	Não deve haver aumento
<i>Candida albicans</i>	6,1 x 10 ⁷	7,8	0	0	7,8	Não deve haver aumento
<i>Escherichia coli</i>	6,1 x 10 ⁷	7,8	0	0	7,8	1 log
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,7 x 10 ⁷	7,7	0	0	7,7	1 log
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,6 x 10 ⁷	7,7	0	0	7,7	1 log

Para os resultados referentes ao 28º dia, na tabela 6 pode ser observado que a amostra 1 apresentou uma redução logarítmica satisfatória em relação ao controle positivo e também em relação ao tempo anterior (14º dia); entretanto se for realizada uma comparação, o sistema conservante do fabricante 2 desempenhou uma performance melhor havendo uma redução total na carga microbiana de *C. albicans* e *A. brasiliensis*. Para o grupo de bactérias analisadas houve a redução total da carga microbiana. Pode ser considerado que o produto do fabricante 1 atendeu os requisitos estabelecidos pelo órgão regulador e pode ser considerado como um medicamento seguro e confiável.

A amostra do fabricante 2, como pode ser observado na tabela 7, apresentou um perfil de redução microbiana muito similar à amostra do fabricante 1; entretanto, como mencionado no parágrafo anterior, a amostra 2 conseguiu desempenhar uma performance melhor, havendo redução logarítmica total para todos os cinco microrganismos testados, atendendo os critérios estabelecidos pelo órgão regulador e demonstrando ser um produto seguro e confiável para o uso contínuo.

Tabela 6 - Avaliação dos resultados do 28º dia para o Fabricante 1

Microrganismo	Controle do inóculo/ Controle positivo	Log do controle positivo	Concentração do inóculo no Fabricante 1 (tempo 28 dias)	Log da concentração Fabricante 1	Redução Log no 28º dia	Critério de aceitação
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	1,6 x 10 ⁷	7,2	2,5 x 10 ³	3,4	3,8	Não deve haver aumento
<i>Candida albicans</i>	6,1 x 10 ⁷	7,8	1,6 x 10 ²	2,2	5,8	Não deve haver aumento
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	Redução logarítmica total	Não deve haver aumento em relação ao 14º dia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	Redução logarítmica total	Não deve haver aumento em relação ao 14º dia
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	Redução logarítmica total	Não deve haver aumento em relação ao 14º dia

Tabela 7 - Avaliação dos resultados do 28º dia para o Fabricante 2

Microrganismo	Controle do inóculo/ Controle positivo	Log do controle positivo	Concentração do inóculo no Fabricante 2 (tempo 28 dias)	Log da concentração Fabricante 2	Redução Log no 28º dia	Critério de aceitação
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	1,6 x 10 ⁷	7,2	0	0	7,2	Não deve haver aumento
<i>Candida albicans</i>	6,1 x 10 ⁷	7,8	0	0	7,8	Não deve haver aumento
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	Redução logarítmica total	Não deve haver aumento em relação ao 14º dia

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	Redução logarítmica total	Não deve haver aumento em relação ao 14º dia
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	Redução logarítmica total	Não deve haver aumento em relação ao 14º dia

6. CONCLUSÃO

A avaliação da eficácia dos conservantes em amostras de Dropropizina xarope, pertencente à categoria 3, permitiu avaliar a segurança e eficácia dos conservantes inseridos na formulação deste produto. Foram adquiridas duas amostras de fabricantes diferentes no mercado (Fabricante 1 e Fabricante 2). Embora a concentração do ativo (Dropropizina) seja de 3,0 mg/mL para ambos os fabricantes testados, há diferenças nos excipientes adicionados às formulações, incluindo os conservantes como expresso no Quadro 2. Os conservantes foram devidamente neutralizados pelo método de diluição com solução salina 0,9%, e os controles negativos das soluções e meios de cultura utilizados não apresentaram carga microbiana, demonstrando a qualidade do material preparado e dos processos de esterilização. O controle positivo, além de servir como base para a comparação da redução logarítmica, demonstrou a fertilidade dos meios de cultura ao promover um crescimento adequado das cepas quantificadas. Em relação ao teste, no tempo inicial, todas as concentrações de microrganismos estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira VI edição foram alcançadas tanto para o controle positivo quanto para as amostras inoculadas. Tanto no 14º dia quanto no 28º dia (períodos estabelecidos para a Categoria 3), observou-se uma redução adequada da carga microbiana para ambos os fabricantes testados e todas as classes de microrganismos. O Fabricante 2 apresentou um desempenho superior, reduzindo totalmente a carga microbiana para todos os microrganismos testados. No entanto, na amostra do Fabricante 1, ainda foi possível detectar uma carga microbiana para os microrganismos *C. albicans* e *A. brasiliensis*, embora todas as amostras testadas tenham atendido aos critérios de aceitação estabelecidos pelo órgão regulador. Adicionalmente, vale ressaltar que o estudo foi conduzido de acordo com os critérios estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira, garantindo a conformidade com as diretrizes regulatórias. Esses resultados sugerem que o produto Dropropizina 3,0 mg/mL xarope disponível nas farmácias e drogarias do Distrito Federal apresenta um sistema conservante adequado, o que o torna um produto confiável e seguro para uso, garantindo sua eficácia e

minimizando o risco de contaminação microbiológica. Essa informação é relevante para profissionais da saúde, pacientes e consumidores em geral, pois reforça a qualidade do produto e a confiabilidade de seu uso como um medicamento de dose múltipla.

No entanto, é importante ressaltar que futuros estudos podem ser realizados para investigar ainda mais a estabilidade e a eficácia dos conservantes em diferentes condições de armazenamento e prazos de validade, a fim de garantir a manutenção da qualidade e segurança do produto ao longo do tempo. Essas investigações adicionais podem fornecer uma base mais robusta para a avaliação contínua da eficácia dos conservantes utilizados no xarope de Dropropizina. Além disso, estudos adicionais podem ser realizados para avaliar a atividade antimicrobiana inerente aos excipientes ou até mesmo ao próprio princípio ativo.

7. REFERÊNCIAS

- 1- VAN DOORNE, H. ; LEIJEN, J. B. The preservation of some oral liquid preparations. The replacement of chloroform by other preservatives. *Pharmacy world & science: PWS*, v. 16, n. 1, p. 18–21, 1994.
- 2- Androli Pinto T, Kaneko T, Pinto A. **CONTROLE BIOLÓGICO DE QUALIDADE DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS, CORRELATOS E COSMÉTICOS**. 4th ed. São Paulo: Editora Manole; 2015.
- 3- United States Pharmacopeia. Antimicrobial Effectiveness Testing. In: *United States Pharmacopeia*. 42nd ed. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention; 2019. Chapter 51, p. 388-396.
- 4- MACHADO, Anna Karolina Mouzer da Silva; NEMITZ, Marina Cardoso; TODESCHINI, Vitor; et al. Characteristics, Properties and Analytical Methods for Determination of Dropropizine and Levodropropizine: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 51, n. 2, p. 174–182, 2019.
- 5- DAO, Huy; LAKHANI, Prit; POLICE, Anitha; et al. Microbial Stability of Pharmaceutical and Cosmetic Products. *AAPS PharmSciTech*, v. 19, n. 1, p. 60–78, 2018.
- 6- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. 6. ed. Brasília: ANVISA, 2019.

