



**VIVIANE DA SILVA DE SOUZA**

**AVALIAÇÃO DO SISTEMA CONSERVANTE FRENTE A AÇÃO MICROBIOLÓGICA  
EM PREPARAÇÕES FARMACÊUTICAS**

Rio de Janeiro - RJ

2017

AVALIAÇÃO DO SISTEMA CONSERVANTE FRENTE A AÇÃO MICROBIOLÓGICA  
EM PREPARAÇÕES FARMACÊUTICAS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu*, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para obtenção do título de Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas.

Orientador:

Prof. M.Sc. Damázio Daniel de Lima Santos

Rio de Janeiro - RJ

2017

Ficha catalográfica elaborada pela  
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

S719a Souza, Viviane da Silva de

Avaliação do sistema conservante frente a ação microbiológica em preparações farmacêuticas. / Viviane da Silva de Souza. – Rio de Janeiro, 2017.

ix, 41 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Damázio Daniel de Lima Santos.

Monografia (Especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Pós-graduação em Tecnologia Industriais Farmacêuticas, 2017.

Bibliografia: f. 38-41

1. Conservantes. 2. Medicamentos. 3. Estabilidade. I. Título.

CDD 615.1

Viviane da Silva de Souza

AVALIAÇÃO DO SISTEMA CONSERVANTE FRENTE A AÇÃO MICROBIOLÓGICA  
EM PREPARAÇÕES FARMACÊUTICAS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu*, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para obtenção do título de Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas.

Aprovada em 24 de agosto de 2017.

COMISSÃO EXAMINADORA

---

Prof. M.Sc. Damázio Daniel de Lima Santos, FIOCRUZ (Orientador)

---

M.Sc. Silvia Pereira da Silva Santos, FIOCRUZ

---

Esp. Alexandre de Campos França, FIOCRUZ

Rio de Janeiro - RJ

2017

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, pelo dom precioso da vida. Devemos tudo Àquele que nos deu sabedoria para descobrirmos nossa vocação, força para superarmos os obstáculos, tornando um sonho realidade. “A Tua presença é qualquer coisa como a luz e a vida, e eu sinto que, em meu gesto, existe o Teu gesto e em minha voz, a Tua voz” (Vinícios de Moraes).

À minha querida e amada mãe, Silvia, razão do meu existir, meus irmãos, familiares e amigos pelo constante apoio, confiança e carinho em todos os momentos e circunstâncias. Foram inúmeros os dias em que não nos vimos durante o desenvolvimento deste trabalho, mas sei que estivemos juntos em alma, pois somos um só ser.

Ao professor Olivar Silvestre Santos Filho, pela orientação, confiança e amizade. Meu eterno agradecimento a quem soube ser, ao mesmo tempo, orientador e amigo, ensinando que o segredo para a realização dos nossos objetivos consiste em atitude, perseverança e fé.

Ao professor Damázio Daniel de Lima Santos pela confiança para finalização e defesa.

Aos participantes da Comissão Examinadora, M.Sc. Silvia Pereira da Silva Santos e Esp. Alexandre de Campos França, pelas suas críticas e sugestões para este trabalho.

À Profa. Carmen Lúcia Pagotto, Coordenadora do Curso, e Elizabeth Santos, Secretária Acadêmica, pelo apoio, amizade e colaboração.

Aos demais professores do Curso de Pós-graduação em Tecnologia Industrial Farmacêutica com os quais no decorrer do curso pude conviver e aprender e aos amigos de turma que foi maravilhoso conviver.

A todos que me apoiaram, ajudaram e me fizeram acreditar na realização de mais uma conquista.

## RESUMO

Conservantes antimicrobianos são aditivos que retardam ou inibem a proliferação de microrganismos nocivos à saúde humana. Podem englobar diversas substâncias químicas como Cloreto de Benzalcônio, Ceftriaxona, Clorobutanol, Ácido Benzoico, Álcool Benzílico, Fenol dentre outros. A ciência de conservação dos produtos farmacêuticos e cosméticos é relativamente nova, e somente nos últimos 60 anos tem sido tratada de maneira científica. Hoje, grande importância é dada ao assunto, devido à preocupação não apenas do aspecto microbiológico, mas de potencial de irritação e toxicidade ao consumidor. Encontrar um produto que atenda às necessidades da indústria não é tarefa facilmente construída, há inúmeros fatores envolvidos na escolha do conservante. Dentre as características desejáveis encontram-se ser compatível com componentes da fórmula, sem causar interferências no produto. O conservante deve ainda manter sua atividade antimicrobiana na presença de outros insumos da fórmula, não se decompondo durante esterilização térmica e devendo apresentar ação biostática. Este trabalho objetivou avaliar a efetividade do sistema conservante frente às possibilidades de contaminação microbiana por agentes microbianos, o uso adequado dos conservantes, a possibilidade de interação dos conservantes com outros componentes da formulação, caracterizando ainda os parâmetros de aceitação de carga microbiana, definidos pelos compêndios oficiais, visando manter as formulações farmacêuticas dentro dos padrões microbiológicos aceitáveis, na etapa de desenvolvimento, na produção e no tempo de vida útil do medicamento. A qualificação microbiana é um aspecto importante na qualidade das formulações farmacêuticas, esta etapa contribui para o controle microbiológico, assegurando que num limite especificado, microrganismos não influenciaram na qualidade do produto, tão pouco, na segurança do paciente. Apresentando contaminação microbiana, haverá perda e alteração da eficácia terapêutica, aceitação do produto e da biodisponibilidade. No entanto, o trabalho proposto por meio desta dissertação evidenciou que, para se obter um sistema conservante eficaz que não seja danoso à saúde humana e mantenha as propriedades farmacológicas intactas, as características da formulação, a qualidade microbiana e uma profunda análise do conservante, são fatores imprescindíveis para atingir tal objetivo.

**Palavras-chaves:** Conservantes. Medicamentos. Estabilidade.

## ABSTRACT

Antimicrobial preservatives are additives that retard or inhibit the proliferation of microorganisms harmful to human health. They can include various chemical substances such as Benzalkonium Chloride, Cetrimide, Chlorobutanol, Benzocyclic Acid, Benzyl Alcohol and Phenol among others. The science of preserving pharmaceuticals and cosmetics is relatively new, and only in the last 60 years has it been scientifically treated. Today, great importance is given to the subject, due to the concern not only of the microbiological aspect, but of potential irritation and toxicity to the consumer. Finding a product that meets the needs of the industry is not easily built task, there are numerous factors involved in choosing the preservative. Among the desirable characteristics are to be compatible with components of the formula, without causing interference in the product. The preservative should also maintain its antimicrobial activity in the presence of other inputs of the formula, not decomposing during thermal sterilization and should present biostat action. The objective of this work was to evaluate the effectiveness of the preservative system against the possibilities of microbial contamination by microbial agents, the proper use of preservatives, the possibility of interaction of the preservatives with other components of the formulation, characterizing also the microbial load acceptance parameters defined by the compendium To maintain the pharmaceutical formulations within acceptable microbiological standards, at the stage of development, production and shelf-life of the medicament. Microbial qualification is an important aspect in the quality of pharmaceutical formulations. This step contributes to the microbiological control, ensuring that within a specified limit, microorganisms have not influenced the quality of the product, or the safety of the patient. With microbial contamination, there will be loss and alteration of therapeutic efficacy, product acceptance and bioavailability. However, the work proposed by this dissertation has shown that, in order to obtain an effective preservative system that is not damaging to human health and maintains pharmacological properties intact, the characteristics of the formulation, the microbial quality and a deep analysis of the preservative are Factors that are necessary to achieve this

**Key-words:** Preservatives. Drug. Stability.

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1 -</b>	Conservantes comumente utilizados em formulações farmacêuticas	15
<b>Tabela 2 -</b>	Prováveis modo de Ação de alguns conservantes	21
<b>Tabela 3 -</b>	Microrganismos com suas prováveis fontes de contaminação	22
<b>Tabela 4 -</b>	Atividade de Água (aW) e Crescimento Microbiano	24
<b>Tabela 5 -</b>	Estratégia de Testes e Limites Microbianos	25
<b>Tabela 6 -</b>	Categorias de Produtos e Critérios para eficácia	28
<b>Tabela 7 -</b>	Agentes Conservantes e Neutralizantes	30
<b>Tabela 8 -</b>	Conservantes em preparações de uso oral	32
<b>Tabela 9 -</b>	Conservantes em preparações de uso externo	33
<b>Tabela 10 -</b>	Misturas (Blends) de Conservantes	35

## Lista de ilustrações

<b>Figura 1</b> - Estrutura Molecular dos Parabenos	18
<b>Figura 2</b> - Estrutura Molecular do Ácido Benzoico	18
<b>Figura 3</b> - Estrutura Molecular do Clorobutanol	19
<b>Figura 4</b> - Estrutura Molecular do Cloreto de Benzalcônio	19
<b>Figura 5</b> - Estrutura Molecular do Ácido Benzílico	20
<b>Figura 6</b> - Etapas da produção e respectivas estratégias para garantir a qualidade microbiológica de preparações farmacêuticas	23

## Lista de abreviaturas e siglas

<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>EP</b>	European Pharmacopeia
<b>EDTA</b>	Ácido Etileno Diamina Tetra Acético
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>RDC</b>	Resolução da Diretoria Colegiada
<b>TAMC</b>	Total aerobic microbial count
<b>TCYMC</b>	Total combined yeast and mold count
<b>UFC</b>	Unidade Formadora de Colônia
<b>USP</b>	United States Pharmacopeia
<b>WHO</b>	World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>10</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b>	<b>12</b>
<b>3 OBJETIVOS</b>	<b>12</b>
3.1 GERAL	12
3.2 ESPECÍFICOS	12
<b>4 METODOLOGIA</b>	<b>13</b>
<b>5 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>14</b>
5.1 SISTEMA CONSERVANTE	14
5.2 CONSERVANTES ANTIMICROBIANOS	16
<b>5.2.1 Classificação Química dos Conservantes</b>	<b>17</b>
5.2.1.1 Parabenos	17
5.2.1.2 Ácido Benzoico	18
5.2.1.3 Clorobutanol	19
5.2.1.4 Cloreto de Benzalcônio	19
5.2.1.5 Álcool Benzílico	20
5.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS	21
5.4 CONTAMINAÇÃO MICROBIANA	22
<b>5.4.1 Atividade da Água nos Produtos</b>	<b>23</b>
5.5 TESTE DESAFIO DO SISTEMA CONSERVANTE	26
<b>5.5.1 Inativação do Sistema Conservante</b>	<b>29</b>
<b>5.5.2 Fatores Envolvidos na Eficácia do Sistema Conservante</b>	<b>30</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>36</b>
<b>Referências</b>	<b>38</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define estabilidade farmacêutica como a capacidade do produto farmacêutico manter suas propriedades químicas, físicas, microbiológicas e biofarmacêuticas dentro de limites especificados durante todo seu prazo de validade (WHO, 1996).

Portanto a peculiaridade microbiológica estabelece uns dos parâmetros fundamentais para a segurança, eficácia e aceitabilidade dos produtos farmacêuticos, constituindo fatores indispensáveis para recuperação e preservação da saúde (RAMOS, 2010).

Levando em consideração que, a atividade anti-séptica de determinada substância deve-se a capacidade de impedir o crescimento ou mesmo, destruir os microrganismos, a ação biocida elimina os microrganismos. Igualmente, é atividade biostática, que mantém ou reduz o nível de contaminação por intermédio da inibição o crescimento, contudo não destrói. (TURATTI, 2008; LOURENÇO, 2016).

Todos os produtos estão vulneráveis à contaminação com microrganismos, e o crescimento dos mesmos depende de diversos fatores químicos e físicos, incluindo a água, a composição, a temperatura de estoque dentre outros (PINTO, 2000).

A capacidade de um microrganismo em proporcionar a deterioração do medicamento depende da sua habilidade em sobreviver e multiplicar-se em meios contendo substâncias inibidoras do seu crescimento, como por exemplo, os conservantes (DAVIN-REGLI *et al*, 2006).

Conservantes são substâncias químicas, cuja função é inibir o crescimento de microrganismo no produto, conservando-o livre de deteriorações causadas por bactérias, fungos e leveduras. Eles são um importante meio de restringir o desenvolvimento microbiano em diversos produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentos (RUSSELL, 1991).

Adicionados em formas farmacêuticas não estéreis com a finalidade de protegê-las de qualquer crescimento microbiano, enquanto que as formas farmacêuticas estéreis, acondicionadas em embalagens de doses múltiplas para inibir o crescimento de microrganismos contaminantes durante o uso repetido das doses (BRASIL, 2010).

Com finalidade ímpar, os conservantes são substâncias empregadas para preservar a plenitude do produto farmacêutico durante o período de prateleira, tal como na fase de sua utilização pelo consumidor, além de promover a proteção do usuário contra infecção acidental (SANTOS, 2007).

Existem muitos fatores relacionados às formulações que afetam a ação do conservante, como o pH do produto, a absorção pelo material de acondicionamento, o coeficiente de partição, a presença de tensoativos e agentes umectantes, a temperatura e estocagem, que podem afetar a concentração inicial do conservante (SANTOS, 2007).

Em função desses fatores, torna-se imprescindível que o teste de eficácia de conservante seja seguido para cada tipo de formulação com o intuito de assegurar a confiabilidade e um menor índice de contaminação microbiana. Diante disso, os testes poderão ser estabelecidos com base na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010).

A quantidade de conservante usada em uma formulação deverá ser a mínima necessária para promover a proteção do produto, sem prejuízo para o paciente e consumidor (ANVISA, 2010).

Compostos fungicidas são tidos como os que possuem maior probabilidade de proporcionar reações tóxicas e de hipersensibilidade, em comparação àqueles que têm atividade bactericida, assim, a escolha do conservante torna-se uma tarefa complexa (RAVITA, 2009).

Quando as preparações farmacêuticas não possuem elas próprias propriedades conservantes adequadas, podem adicionar-se-lhes agentes de conservação antimicrobianos, particularmente em preparações aquosas, com o fim de evitar ou limitar a proliferação microbiana que pode ocorrer nas condições normais de conservação e de emprego e assim apresentar um risco de infecção para o doente e deterioração da preparação, nomeadamente nos recipientes multidoses. Os agentes de conservação antimicrobianos não são utilizados para substituir o cumprimento das Boas Práticas de Fabricação (Farmacopeia Portuguesa, 2002, p. 470).

A avaliação microbiana coopera para o controle microbiológico de medicamentos, seguindo os parâmetros de limites de carga microbiana, descritos nos compêndios oficiais, os microrganismos não comprometerão a qualidade e propriedade do produto, nem tão pouco a segurança do paciente. Caso contrário a essas especificações, havendo contaminação microbiológica, resultará à perda ou

alteração da eficácia, da terapêutica, da biodisponibilidade do produto e aceitação pelo consumidor (CUNDELLI, 2006).

## **2 JUSTIFICATIVA**

Os conservantes inibem o desenvolvimento de microrganismos que frequentemente são introduzidos inadvertidamente em algumas preparações farmacêuticas de forma a garantirem o êxito desse sistema e assegurar níveis e tipos de microrganismos toleráveis e obter formas farmacêuticas seguras para utilização. Desempenhando um papel imprescindível, os conservantes se adicionados às preparações farmacêuticas em quantidades inferior as que são preconizadas, poderá resultar em crescimento microbiano, como em quantidades acima dos níveis aceitáveis, podem causar reações indesejáveis, comprometendo a segurança do indivíduo. O intuito da conservação das preparações farmacêuticas é certificar que o produto esteja microbiologicamente seguro e estável e que não promova danos à saúde.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 GERAL**

A utilização dos conservantes tem um papel fundamental e imprescindível na formulação, produção e no produto farmacêutico acabado. Garantir que o sistema conservante mantém em níveis mínimos e toleráveis a presença de microrganismo, sem propiciar alterações nas formulações e concomitante fornecer um produto que não comprometa sua função inicial é indiscutível um trabalho minucioso e de muita importância.

### **3.2 ESPECÍFICOS**

- ✓ Avaliar a eficácia do sistema conservante
- ✓ Avaliar a adaptação microbiana frente ao sistema conservante
- ✓ Analisar fatores que comprometem a eficácia do sistema conservante
- ✓ Evidenciar características imprescindíveis para um sistema conservante eficaz

#### **4 METODOLOGIA**

A metodologia adotada para elaboração desta monografia foi a pesquisa qualitativa, sendo realizado um levantamento e análise bibliográfica, caracterizada pelo estudo teórico através de base de dados PubMed, Scielo, Google Academic dentre outras, além de uma pesquisa em revistas como Química Nova. Foram selecionados 31 artigos publicados entre 1991 e 2017.

## 5 REFERENCIAL TEÓRICO

### 5.1 SISTEMA CONSERVANTE

Com o objetivo de prevenir e limitar o crescimento microbiano, os conservantes são adicionados em uma série de formulações farmacêuticas, cosméticos e alimentos. Essa utilização tem como objetivo principal, reduzir a probabilidade de crescimento e posterior contaminação em produtos aquosos e comumente reduzir a chance de sobrevivência microbiana em produto anidro que podem ser contaminados ou umedecidos durante seu uso (PEREIRA, 2011).

Os conservantes têm como alvo microrganismos. A escolha do conservante é uma tarefa complexa, isso porque, os compostos fungicidas são tidos como os que possuem maior possibilidade de provocar reações tóxicas ou de hipersensibilidade em humanos em comparação dos que tem atividade bactericida (RAVITA, 2009).

Normalmente, nas formulações farmacêuticas, os conservantes são utilizados em concentrações muito baixas, ou seja, menos que 1% da formulação, e são direcionados a espécies como *Pseudomonas spp*, *Serratia spp*, *Aspergillus niger*, *Klebsiella spp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp* (BRANNAN, 1992).

Formulações estéreis em recipientes com doses múltiplas devem ter um sistema conservante capaz de os auto-esterelizar, pois eles também estão susceptíveis à contaminação. Atendendo as normativas das agências reguladoras governamentais, é indicado o uso de conservantes em todas as formulações multidoses (FASSIHI, 2001).

Apresentações farmacêuticas não estéreis necessitam, também, de sistema conservante que seja capaz de reduzir sua carga microbiana a níveis aceitáveis em um intervalo de tempo razoável, mantendo a formulação segura sem comprometer sua eficácia e não ser danosa ao consumidor (PEREIRA, 2011).

Com o objetivo de alcançar um método correto de conservação às formulações farmacêuticas, a conservação tem como fundamento importantes princípios: um conservante não deve ser inserido a um produto com objetivo de encobrir qualquer deficiência nos processos de fabricação; o conservante deve integrar a formulação, para assim, proporcionar uma proteção em um ambiente específico (PAKER, 2005).

Desse modo, é primordial o cuidado no momento da escolha do conservante, para que o melhor desempenho possível seja alcançado com o menor potencial de toxicidade (HODGES, 1991).

Contudo, todos os conservantes são tóxicos. Para assegurar ao máximo a proteção aos consumidores, a concentração do produto final deverá estar bem abaixo dos níveis tóxicos para humanos. A Tabela 1 dispõe dos níveis aceitáveis de conservantes nas formulações farmacêuticas (FASSIHI, 2001).

**Tabela 1** – Conservantes comumente utilizados em formulações farmacêuticas

Tipo de Produto	Conservante	Concentração (%w/v)	% de formulações USP nas quais o conservante é utilizado*
<b>Parenteral</b>	Álcool benzílico	0,1-3,0	31,0
	Metil/propilparabeno	0,08-0/0, 001-0,023	13,8
	Fenol	0,2-0,5	7,9
	Metilparabeno (apenas)	0,1	6,6
	Clorobutanol	0,25-0,5	5,3
	Metabissufito de sódio	0,025-0,66	5,3
	Bissulfito de sódio	0,13-0,2	2,6
			Total 69,9
<b>Oftálmico</b>	Cloreto de benzalcônico	0,0025-0,2133	50,0
	Tiomersal	0,001-0,5	19,8
	Metil/propilparabeno	0,05/0,01	6,6
	Cloreto de benzalcônico mais EDTA	0,01/0,1	3,3
			Total 79,7
<b>Oral</b>	Benzoato	ND	34,4
	Metil/propilparabeno	ND	18,3
	Metilparabeno (Apenas)	0,1	9,7
	Metilparabeno mais Benzoato de sódio	ND	7,5
			Total 69,9
<b>Cremes</b>	Álcool benzílico	1,0-2-0	25,4
	Metil/propilparabeno	ND	18,6
	Metilparabeno (apenas)	0,1-0,3	11,9
	Ácido benzoico	0,2	8,5
	Ácido sórbico	0,1	8,5
	Clorocresol	0,05	6,8
<b>ND, não disponível</b>			
<b>w/p, Peso por volume</b>			

**USP, United States Pharmacopeia**

\* Estão listados apenas os agentes mais comumente utilizados, assim, as percentagens em cada categoria de produto não perfazem 100%. Segundo Dabbah (1996).

Fonte: Adaptado de AULTON, 2007.

É relevante ressaltar que os conservantes não devem ser utilizados em substituição das boas práticas de fabricação ou mesmo para diminuir o potencial microbiano de produtos estéreis, tal qual a quantidade de conservante utilizado em formulação deverá ser mínima necessária, para a proteção do produto sem causar dano à saúde (DRUMOND, 2017).

A finalidade do uso de conservantes em produtos farmacêuticos é garantir que o mesmo esteja microbiologicamente seguro e estável. O teste de eficácia de conservante é realizado para estabelecer o tipo e a concentração efetiva (DRUMOND, 2017).

## 5.2 CONSERVANTES ANTIMICROBIANOS

A adição dos conservantes às preparações farmacêuticas tem como objetivo estabilizar ou inibir o crescimento de microrganismos imprópriamente introduzidos nas formulações farmacêuticas durante sua utilização. Sua atividade deve manter-se ativa durante a vida útil do produto nas condições de armazenamento adequadas (JORGE, 2013).

Segundo Prista (1996), um bom conservante, além das características já citadas, na continuidade de garantir um excelente desempenho, deverá compilar as seguintes qualidades:

- Ação contínua: mesmo que ocorra contaminação do produto durante, a produção esvaziamento, embalagem ou uso, tendo passado por um processo de autoclavação ou outro mais extremo assim como as condições de processamento, volte a ser tornar estéril;
- Atuação rápida: se a formulação for contaminada, que em um breve espaço de tempo se reesterilize;
- Atoxicidade: não produzindo reações de hipersensibilidade;
- Estabilidade: deve ser quimicamente estável, não modificando o pH e a tonicidade;

- Solubilidade: deverá ser de fácil solubilização nos veículos que se fizerem necessária.
- Inativação: deverá ser capaz de neutralizar ou atenuar facilmente a sua ação antimicrobiana, quando da necessidade de ensaio de esterilidade.

### 5.2.1 Classificação Química dos Conservantes

Uma diversidade de conservantes pode ser utilizada na formulação de preparações farmacêuticas para prevenir a contaminação por microrganismo e, a adulteração do produto. Além de tudo, almeja-se que a atividade do conservante seja suficientemente rápida para garantir que qualquer contaminação pelo consumidor seja eliminada entre sua utilização (DAVIN-REGLI *et al*, 2006).

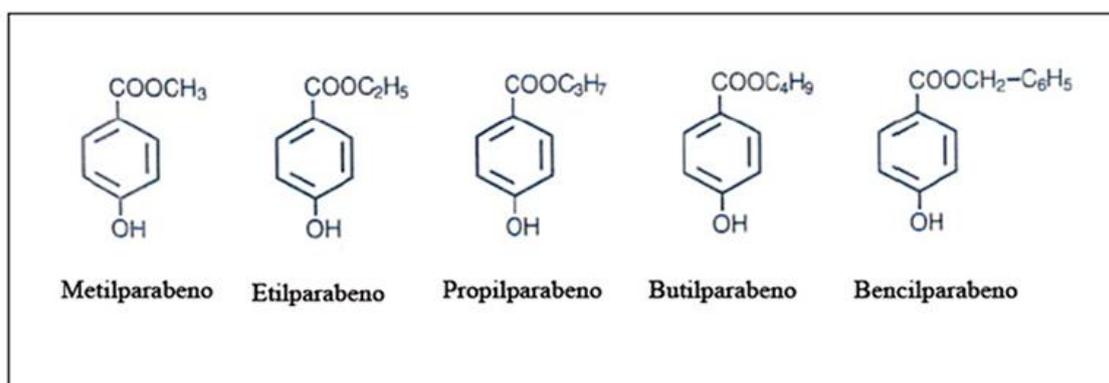
Com o objetivo de garantir que a formulação farmacêutica proporcione um ambiente hostil aos microrganismos, a correta escolha de um conservante é primordial e baseia-se em alguns fatores. As características das preparações e a eficiência exigida do sistema conservante são os preceitos primários. Outras considerações devem ser observadas no decorrer da formulação, contaminação mais frequente, solubilidade com água para alcançar a concentração adequada na fase aquosa em um sistema com duas fases ou mais, a quantidade de conservantes que permanece não dissociada no pH da formulação, a concentração essencial para assegurar o conforto e segurança do usuário, a estabilidade durante o prazo de validade da preparação, a paridade com todos integrantes da preparação e sua possível interação com a embalagem do produto acabado (ALLEN *et al*, 2013).

#### 5.2.1.1 Parabenos

Os Parabenos são compostos utilizados como conservantes antimicrobianos, utilizados em produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos. Constituem uma série homóloga de ésteres do ácido p-hidroxibenzoico, (metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, isopropilparabeno e benzilparabeno, (Figura 1) e são utilizado na forma pura ou combinado para exercer efeito antimicrobiano, feito este decorrente da atividade antifúngica desses compostos. Embora, classificado como sendo o grupo mais popular de conservantes, eles podem apresentar falhas em proporcionar os requisitos necessários para grande parte das formulações, quando aplicados individualmente (AMARAL, 2010).

Os parabenos são eficazes em várias faixas de pH e possuem um largo espectro de ação antimicrobiana, sejam eficientes contra bolores e leveduras. Eles também são mais ativos contra bactérias Gram-positivas do que contra bactérias Gram-negativas. Há diferentes graus de permeabilidade na parede dos microrganismos. As bactérias Gram-positivas retêm o cristal violeta devido à presença de uma espessa camada de peptidoglicano (polímero constituído por açúcares e aminoácidos que originam uma espécie de malha na região exterior à membrana celular das bactérias) em suas paredes celulares, apresentando-se na cor roxa. Já as bactérias Gram-negativas possuem uma parede de peptidoglicano mais fina que não retém o cristal violeta durante o processo de descoloração e recebem a cor vermelha no processo de coloração final. (BRASIL, 2001; ROWE *et. al.*, 2009).

**Figura 1** – Estrutura Molecular dos Parabenos

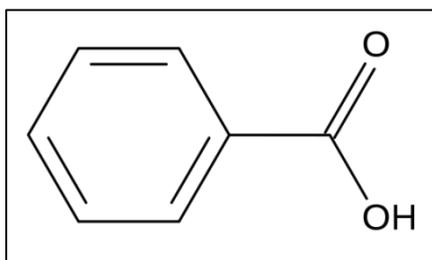


Fonte: Adaptado de CEZAR, 2014.

### 5.2.1.2 Ácido Benzoico

O ácido benzoico, (Figura 2) tem sua propriedade antimicrobiana ocorrendo apenas com a forma não dissociada e, desse modo, sua atividade é pH dependente (atividade ótima ocorre abaixo de pH 4,5. Em pH acima de 5,0 o ácido benzoico é quase inativo). A faixa de pH de maior atividade antimicrobiana está entre 2,5 e 4,5. Este conservante tem longa tradição de uso como agente antifúngico em preparações tópicas, mas é inativo contra esporos (PEREIRA, 2011b).

**Figura 2** - Estrutura Química do Ácido Benzoico

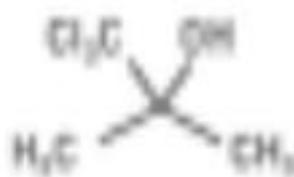


Fonte: Adaptado de SANTOS, 2012.

### 5.2.1.3 Clorobutanol

O clorobutanol (Figura 3) é largamente utilizado em formulações oftálmicas e parenterais. Em preparações orais não é utilizado devido ao marcante sabor e odor de cânfora. A sua instabilidade, limita sua utilização como conservante oftálmico, exceto em pH ácido e por sua atuação ser lenta frente à ação antimicrobiana. Sua concentração efetiva é de 0,5%, a sua atividade pode ser comprometida devido ao fenômeno de sorção às superfícies de polietileno ou borracha de recipientes oftálmicos ou conta-gotas (VILLIERS, 2013).

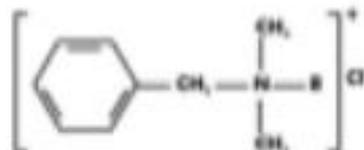
**Figura 3** - Clorobutanol



Fonte: Adaptado de VILLIERS, 2013.

### 5.2.1.4 Cloreto de Benzalcônio

Os compostos de amônio quaternário, representado pelo cloreto de benzalcônio, são estáveis e efeitos bactericidas. Estes conservantes são muitas vezes associados a um agente quelante, como EDTA, que marcadamente aumenta o efeito do cloreto de benzalcônio contra a ação de microrganismos. Este conservante, associado ou não com EDTA, é amplamente utilizado em preparações oftálmicas, nasais ou otorrinos. Tem incompatibilidade com tensoativos aniônicos, citratos, nitratos, iodetos, metais pesados, álcalis, alguns oxidantes, algumas misturas de borracha e alguns tipos de plásticos. Concentração de uso: 0,01% a 0,25%, conforme figura 4 (LOURENÇO, 2016).

**Figura 4** – Cloreto de Benzalcônio

Fonte: Adaptado de MACHADO, 2005.

#### 5.2.1.5 Álcool Benzílico

O álcool benzílico (Figura 5), é um composto utilizado para produtos orais, contudo não é muito empregado nessas preparações devido ao seu sabor bem picante. Ele é utilizado com frequência em produtos parenterais manufacturados, visto suas propriedades como anestésico local. Pode também ser usado em preparações tópicas, e, deveras, tem sido aplicado terapeuticamente como anestésico, quando combinado, em partes iguais, com álcool e água. Apesar de caracterizado como conservante, aprovado para produtos oftálmicos, não é muito encontrado nessas preparações (VILLIERS, 2013).

O composto é estável a condições de autoclavação, levemente oxidável (benzaldeído e ácido benzônico) ao ar, desidrata a pH baixo. Sua concentração efetiva é de 1% a 2%, tem efeito bactericida, e é incompatível com agentes oxidantes e inativados por tensoativos não iônicos. O álcool benzílico, é mais eficiente em pH abaixo de 5 e desenvolve atividade mínima em pH igual ou superior a 8 (LOURENÇO, 2016).

**Figura 5** – Álcool Benzílico

Fonte: Adaptado de MACHADO, 2005.

Frente a algumas particularidades, a utilização de conservantes químicos é a única forma de assegurar a qualidade microbiológica em preparações farmacêuticas ao longo da vida de prateleira e de sua utilização (DOORNE, 2007).

Houve nas últimas sete décadas, um grande avanço no que diz respeito aos conservantes e tendem a evoluir muito mais. Hoje o ápice ou, a prevalência dos conservantes, concentra-se na classe dos derivados dos fenólicos, especificamente os ésteres p-hidroxibenzoicos, como os parabenos, atribuídos a eles uma ação germicida e germistática (PIMENTA *et al*, 2008).

### 5.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS

Os Microrganismos sofrem interferência no seu crescimento, na multiplicação e no metabolismo, através da ação dos conservantes, por meio de um ou mais mecanismos, expostos a seguir (ALLEN JUNIOR, 2007):

- ✓ Mudança na permeabilidade da membrana celular e liberação dos constituintes celulares (Lise parcial)
- ✓ Dissolução e ruptura citoplasmática
- ✓ Coagulação irreversível dos constituintes citoplasmáticos (ex: precipitação de proteínas)
- ✓ Inibição do metabolismo celular, como a interferência com sistemas enzimáticos ou inibição da síntese da parede celular
- ✓ Oxidação dos constituintes celulares
- ✓ Hidrólise

Na tabela 2, estão descritos alguns dos conservantes farmacêuticos mais usuais e seus prováveis modo de ação.

**Tabela 2** – Prováveis mecanismos de ação de alguns conservantes

Conservantes	Mecanismo de ação
Ácido Benzoico	Desnaturação de proteínas
Ácido Bórico	
p-Hidroxibenzoatos	
Fenóis e compostos Fenólicos clorados	Ação lítica e desnaturação sobre membrana citoplasmáticas e para os conservantes clorados, também pela oxidação de enzimas
Álcoois	Ação lítica e desnaturação de membrana
Compostos Quaternários	Ação lítica sobre as membranas
Mercurais	Desnaturação de enzimas pela combinação com grupos tiois (-SH)

Fonte: Adaptado de ALLEN JUNIOR, 2007.

## 5.4 CONTAMINAÇÃO MICROBIANA

Para alcançar um nível aceitável e seguro de qualidade microbiana nas formulações farmacêuticas, é muito importante ter conhecimento das fontes e mecanismos responsáveis por esta contaminação. Por constituírem uma parte do meio ambiente, os microrganismos podem estar presentes no ar, água e solo (PAKER, 2005).

A estabilidade do produto farmacêutico fica comprometida com elevadas cargas microbianas, uma vez que, o princípio ativo pode ser degradado, o pH da formulação pode ser alterado e a aparência pode ser prejudicada (VILLANOVA & SÁ, 2009).

Uma série de elementos que estão inseridos na contaminação microbiana das formulações farmacêuticas, e do emprego dos procedimentos descritos, podem resultar em uma variedade de produtos, com características distintas entre si, sendo estéril ou apresentando um nível aceitável de microrganismos presentes (AULTON, 2007a).

Para diminuir a contaminação e a degradação de medicamentos durante seu uso, se fazem necessárias, medidas posteriores a esse processo. Entretanto, desde que seja permitido, é possível obter uma proteção adicional, inserindo elementos com características antimicrobianas ou conservante à formulação (AULTON, 2007a).

Desde a matéria-prima até o envase do produto final, muitos fatores contribuem para o grau de contaminação das preparações farmacêuticas. Para evidenciar essa exposição, na tabela 3, estão listados microrganismos mais comuns como fonte de contaminação (PAKER, 2005).

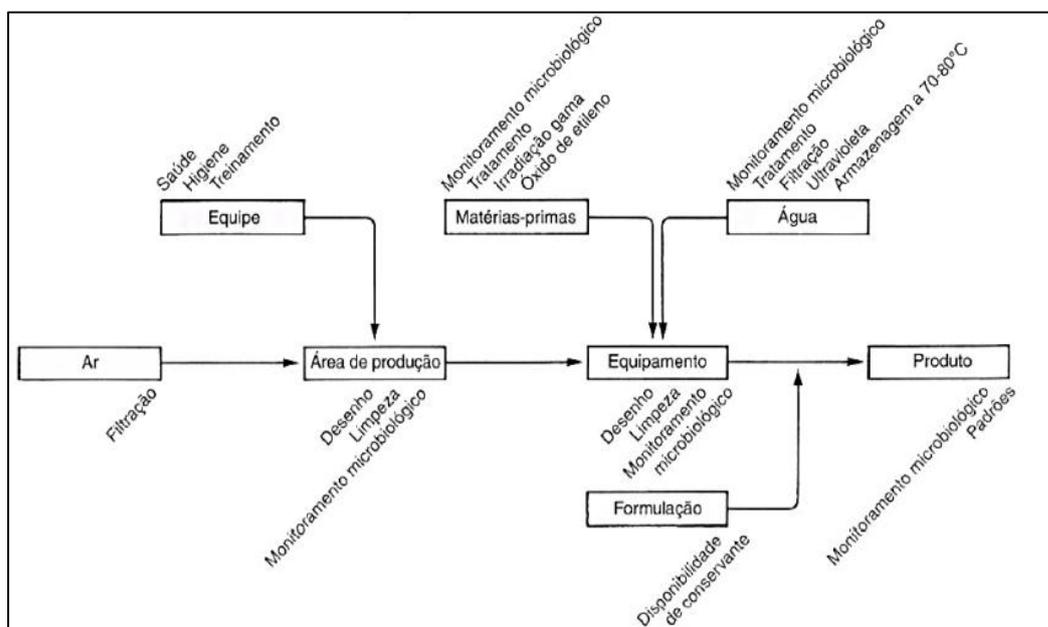
**Tabela 3** – Microrganismos com suas prováveis fontes de contaminação

Microrganismos	Fonte de Contaminação
<i>Pseudomonas spp</i> , <i>Xantomonas spp</i> , <i>Flavabacterium spp</i> , <i>Achromobacter</i> .	Água
Esporos de fungos <i>Penicillium spp</i> , <i>Mucor spp</i> , <i>Aspergillus spp</i> , leveduras.	Ar
Esporos bacterianos: <i>Bacillus spp</i> . e Micrococos.	
<i>Clostridium spp</i> ; <i>Salmonella spp</i> ; Coliformes.	Matéria-prima
Coliformes, <i>Staphylococcus spp</i> , <i>Streptococcus spp</i> .	Pessoal

Fonte: Adaptado de PARKER, 2005.

Estudos realizados nas décadas de 60 e 70 descreveram o isolamento de microrganismos patogênicos em matéria-prima e em produtos manufaturados farmacêuticos. Diante deste fato, ficou evidente a necessidade de um melhor controle de qualidade microbiológica, que no decorrer do processo de fabricação do produto deve ser realizado seguindo orientações das Boas Práticas de Fabricação (BPF), evidenciando que todo processo de fabricação, estará em nível de qualidade apropriada, minimizando a possibilidade de contaminação. A figura 6 reproduz aspectos de manufatura higiênica. (PAKER, 2005; PINTO *et al*, 2013).

**Figura 6** – Etapas da produção e respectivas estratégias para garantir a qualidade microbiológica de preparações farmacêuticas



Fonte: Adaptado de: AULTON, 2007.

#### 5.4.1 Atividade da Água nos Produtos Farmacêuticos

Segundo a Farmacopeia Americana, United States Pharmacopeia - USP (2016), para determinar se a susceptibilidade do produto é maior à contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, preliminarmente, analisa-se a atividade de água no produto, otimizando assim, a formulação e resultando na eficácia do sistema conservante. Quanto mais aquosa, mais vulnerável a contaminação. A redução da atividade da água é fundamental na prevenção da proliferação microbiana.

A baixa atividade de água em uma formulação confere à fórmula farmacêutica, caráter auto conservador, isso se torna possível com pequenas mudanças na concentração de alguns componentes, como por exemplo: o cloreto de

sódio, sacarose, álcool, propileno glicol ou glicerina, essas alterações podem diminuir drasticamente seu potencial de contaminação (USP, 2016).

Para terem meios ótimos de desenvolvimento e, posteriormente, desencadear em a contaminação microbiológica nas formulações farmacêuticas, determinados microrganismos dependeram, dentre outros fatores, da porção, livre de água no meio, para se multiplicarem. Espécies de *Pseudomonas aeruginosas*, *Escherichia coli* e *Salmonella* não proliferam ou sobrevivem em produtos com atividades de água abaixo de 0,91, à medida que, bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus* não se multiplicam abaixo de 0,86, e *Aspergillus niger* não irá se reproduzir abaixo de 0,77. A tabela 4 descreve os microrganismos com suas respectivas atividades em água e possibilidade de crescimento microbiano (USP, 2016).

**Tabela 4** - Atividade de Água (aW) e Crescimento Microbiano

Bactéria	Atividade de Água	Fungos	Atividade de Água
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,97	<i>Rhizopus nigricans</i>	0,93
<i>Bacillus cereus</i>	0,95	<i>Mucor plumbeus</i>	0,92
<i>Clostridium botulinum</i> , Type A	0,95	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,92
<i>Escherichia coli</i>	0,95	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,90
<i>Clostridium perfringens</i>	0,95	<i>Paecilomyces variott</i>	0,84
<i>Lactobacillus viridescens</i>	0,95	<i>Penicillium chrysogenum</i>	0,83
<i>Salmonella spp</i>	0,95	<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,82
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,94	<i>Penicillium glabrum</i>	0,81
<i>Bacillus subtilis</i>	0,90,	<i>Aspergillus flavus</i>	0,78
<i>Micrococcus lysodekticus</i>	0,93	<i>Aspergillus niger</i>	0,77
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86	<i>Zygosachharomyces rouxii</i> (Osmófila – Levedura)	0,62
<i>Halobacterium halobium</i> ( <i>halophilic bacterium</i> )	0,75	<i>Xeromyces bisporus</i> (Xerófilo - Fungo)	0,61

Fonte: Adaptado de USP, 2016.

Apresentações farmacêuticas com atividade de água abaixo de 0,75, como por exemplo: cápsulas em pó e líquidas, pomadas, comprimidos, supositórios retais, não suportariam o crescimento de esporos e bactérias. Para tal, o teste de limites microbiano reduzido pode ser justificado, através da avaliação de riscos (USP, 2016).

A tabela 5, relaciona a forma farmacêutica, testes de limites microbianos, associados a atividade de água nas formas farmacêuticas.

**Tabela 5** – Estratégia de Testes e Limites Microbianos para Formas Farmacêuticas e Atividade de Água

Produtos	Atividade de Água (aw)	Maior potência de contaminantes	Teste Recomendado
Inalador nasal	0,99	Bactéria Gram-negativa	TAMC*, TCYMC, ausência de <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i>
Shampoo para cabelo	0,99	Bactéria Gram-negativa	TAMC, TCYMC, ausência de <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i>
Anti-ácidos	0,99	Bactéria Gram-negativa	TAMC*, TCYMC, ausência de <i>E. coli</i> e <i>Salmonella spp</i>
Crems tópicos	0,97	Bactéria Gram-positiva	TAMC, TCYMC, ausência de <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i>
Soluções orais	0,90	Bactéria Gram-positiva e Fungos	TAMC e TCYMC
Suspensões orais	0,87	Fungos	TAMC e TCYMC
Pomada tópica	0,55	Nenhum	Testes Reduzidos
Bálsamo labial	0,36	Nenhum	Testes Reduzidos
Supositórios vaginal e retal	0,30	Nenhum	Testes Reduzidos
Comprimidos	0,36	Nenhum	Testes Reduzidos
Cápsulas líquidas	0,30	Nenhum	Testes Reduzidos

Fonte: Adaptado de USP, 2016.

Nota: **TAMC** - Total aerobic microbial count; **TCYMC** - Total combined yeast and mold count

A capacidade de um patógeno de sobreviver e multiplicar-se em meios contendo substâncias que inibem seu crescimento, como por exemplo, os conservantes, depende da sua habilidade em sobreviver e promover deterioração do medicamento. O risco maior está nas variáveis via bioquímicas desses microrganismos, promovendo a biossíntese de diferentes enzimas. Levando em consideração a estrutura das moléculas existentes e peculiaridade do produto,

número e tipo de microrganismo, essa atividade pode levar horas, meses e até anos (DAVIN-REGLI *et al*, 2006).

### 5.5 Teste Desafio do Sistema Conservante

A constatação dos níveis de contaminação microbiana na formulação farmacêutica é realizada através de testes, teste de desafio microbiológico, que tem por objetivo quantificar contaminantes indesejáveis que, conseqüentemente seriam danosos à saúde (ANVISA, 2010).

A Farmacopeia Brasileira (2010), considera que a frequência de testes irá variar de acordo com as características do produto. Considerando cada categoria, os testes deverão ser realizados rotineiramente com relação à contaminação microbiana total, nomeadamente: produtos de origem vegetal, mineral e/ou animal, igualmente, produtos com teor elevado de água (soluções orais aquosas, cremes e etc). Para comprimidos, pós, cápsulas, produtos líquidos não aquosos, pomadas e supositórios, a periodicidade do teste pode ser determinada a partir de dados históricos dos testes de monitoramento ambiental como o de equipamentos.

A contaminação microbiana promove perdas consideráveis nas formulações farmacêuticas, podendo comprometer a estabilidade, a eficácia e a ação do medicamento, causando sérios danos à saúde do consumidor. Diante do exposto, a realização do teste de eficácia do sistema conservante é pertinente à fase de desenvolvimento do produto, durante o período de estabilidade, para assegurar as características organolépticas, físico-químicas e microbiológicas, quando houver alterações nas fórmulas farmacêuticas, bem como, quando houver alteração no sistema conservante (SANTOS, 2007).

O teste de desafio microbiológico ou "*Challenge Test*", o teste de eficácia de conservante, tem como objetivo final verificar a resistência de um produto ou material à contaminação microbiana, refletindo diretamente a eficácia do sistema conservante (GRADIN & ANJOS, 2015).

O objetivo central é assegurar a eficácia de conservantes antimicrobianos aos produtos farmacêuticos. A eficiência antimicrobiana seja ela inerente ao produto ou devido à adição de conservantes, precisa ser demonstrada para produtos orais, oftálmicos, otológicos, nasais, fluidos de diálise, irrigação, etc (ANVISA, 2010).

Os testes de eficácia são aplicados com essa finalidade, em substituição dos ensaios químicos, uma vez que, não é possível prever a atividade de uma substância com características conservantes, quando ela pode sofrer influência pelos componentes ativos, adjuvantes de formulações e pelo próprio material do recipiente (AULTON, 2007b).

Por intermédio deste teste, é possível verificar se a dosagem de conservante está adequada ao produto final, e se o produto está apto a aguentar quaisquer condições externas na qual será submetido, no decorrer do período de validade (GRADIN & ANJOS, 2015).

Na formulação, certos medicamentos, podem não ter conservantes. Isso ocorre, porque substâncias ativas apresentam ação antimicrobiana suficiente ou porque a quantidade de açúcar ou sais em solução, são capazes de restringirem o crescimento microbiano. (AULTON, 2007b).

A eficácia microbiana, seja ela peculiar ao próprio produto ou devida a adição de conservantes, necessita ser demonstrada para produtos de uso tópicos multidoses, produtos de uso oral, oftálmicos, otológicos, nasais, entre outros (DRUMOND, 2014).

A Farmacopeia brasileira preconiza a utilização de cinco microrganismos, a concentração de inóculo deve ser suficiente para se obter uma concentração final do produto entre  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  UFC/g ou mL, aplicáveis na categoria 1, 2 e 3 (vide tabela 4 – “Tipo de Produto”). Para a categoria 4, a concentração do inóculo deverá ser suficiente para obter uma concentração final no produto entre  $1 \times 10^3$  e  $1 \times 10^4$  UFC/g ou mL (ANVISA, 2010).

A atividade conservante de produtos farmacêuticos é testada com microrganismos-teste da coleção norte americana de microrganismo American Type Culture Collection - ATCC. Os cinco microrganismos testados são: *Staphylococcus aureus* (bactéria gram positiva, ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (bactéria gram negativa, ATCC 9027), *Escherichia coli* (bactéria gram negativa, ATCC 8739), *Candida albicans* (fungo, ATCC 10231) e *Aspergillus niger* (fungo ATCC 16404). Inoculação deverá ser realizada em intervalos de 7, 14 e 28 dias (ANVISA, 2010).

A tabela 6 descreve categorias de produtos e critérios para eficácia antimicrobiana, segundo a Farmacopeia Brasileira (2010).

**Tabela 6** – Categorias de Produtos e critérios para eficácia antimicrobiana

<b>Tipo de Produto</b>	<b>Microrganismo</b>	<b>7º dia</b>	<b>14º dia</b>	<b>28º dia</b>
<b>Categoria 1</b> – Injetáveis, outros parenterais incluindo emulsões, produtos otológicos, nasais estéreis, oftálmicos constituídos de base ou veículo aquoso	Bactérias	Deve haver redução de 1 log do nº de UFC inicialmente inoculados.	Deve haver redução de 3 log do nº de UFC inicialmente inoculados	A contagem não deve aumentar em relação ao 14º dia
	Bolores e Leveduras	Não deve haver aumento de nº UFC inicialmente inoculados	Não deve haver aumento de nº de UFC inicialmente inoculados	Não deve haver aumento de nº de UFC inicialmente inoculados
<b>Categoria 2</b> – Produtos de uso tópico, constituídos de base, ou veículo aquoso, produtos nasais não estéreis e emulsões, incluindo aqueles aplicados em membrana mucosa	Bactérias	_____	Deve haver redução de 2 log do nº de UFC inicialmente inoculados	Não deve haver aumento da contagem em relação ao 14º dia
	Bolores e Leveduras	_____	Não deve haver aumento de nº de UFC inicialmente inoculados	Não deve haver aumento de n de UFC inicialmente inoculados
<b>Categoria 3</b> – Produtos orais constituídos de base ou veículo aquoso, exceto antiácidos	Bactérias	_____	Deve haver redução de 1 log do nº de UFC inicialmente inoculados	A contagem não deve aumentar em relação ao 14º dia
	Bolores e Leveduras		Não deve haver aumento de nº de UFC inicialmente inoculados	Não deve haver aumento de nº de UFC inicialmente inoculados
<b>Categoria 4</b> – Antiácidos constituídos de base aquosa	Bactérias	_____	Não deve haver aumento de nº de UFC inicialmente inoculados	Não deve haver aumento de nº de UFC inicialmente inoculados
	Bolores e Leveduras	_____	Não deve haver aumento de nº de UFC inicialmente inoculados	Não deve haver aumento de nº de UFC inicialmente inoculados

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2010.

A concentração de conservante em uma formulação farmacêutica, será determinante para proporcionar a mesma, uma proteção eficaz e segura. Quantidade insuficiente de preservativo, pode resultar em contaminação microbiana, comprometendo o produto. No sentido oposto, quantidade elevada pode ocasionar toxicidade e reações adversas comprometendo a segurança do paciente (SANTOS, 2007).

### **5.5.1 Inativação do Sistema Conservante**

A neutralização de substâncias com características antimicrobianas, presentes na amostra é necessária, visto que, essas substâncias podem inibir o crescimento microbiano, impossibilitando desse modo, a determinação exata do número total de colônias presentes na amostra, ou a presença de microrganismos patogênico (VASCONCELOS *et. al*, 2014).

O efeito inibitório do crescimento microbiano proveniente ao efeito bacteriostático ou fungistático de integrantes na formulação, é capaz de produzir resultado falso-negativo. A Farmacopeia Brasileira (2010) enfatiza que, não sendo adequada a neutralização, pode se outorgar que a falha em recuperar o microrganismo inoculado, seja facultada à atividade do produto. Este resultado apontará que, o produto não é susceptível a contaminação pelos microrganismos testados, contudo não podem inibir outros não inseridos na lista, os quais não são expressivos e poderão ser utilizados em substituição àqueles recomendados.

No que diz respeito à neutralização de conservantes, existem diversas alternativas de neutralizantes que devem ser selecionados em função dos conservantes a neutralizar. A Farmacopeia Brasileira (2010) descreve (Tabela 7), os agentes conservantes e seus respectivos neutralizantes (ANVISA, 2010).

Tabela 7 – Agentes Conservantes e Neutralizantes

Conservantes	Agente neutralizante/método de neutralização
Álcool	Diluição
Aldeídos	Diluição, Tiosulfato, Glicina
Bis-biguanidas	Lecitina
Cloreto de mercúrio e outros compostos mercuriais	Tioglicolato*; Tiosulfato de sódio
Clorhexamida	Polissorbato e Lecitina
Compostos amônio quaternário	Lecitina, Polissorbato 80
Compostos Fenólicos	Diluição e Polissorbato 80
EDTA	Íons de Magnésio e Cálcio
Glutaraldeído	Glicina e Bissulfito de sódio
Halogênios	Tiosulfato
Hipoclorito de sódio	Tiosulfato de sódio
Ácidos orgânicos e seus ésteres	Diluição e Polissorbato
Parabenos	Polissorbato 80 e Lecitina
Sorbato	Diluição
Antibiótico beta-lactâmico	Beta-lactamase
Cloranfenicol	Cloranfenicol acetiltransferase
Sulfonamida	Ácido p-aminobenzoico
Trimetropina	Timidina

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2010.

Nota: \* Tioglicolato pode ser tóxicos para certos microrganismos, especialmente esporos e *staphylococos*; tiosulfato pode ser tóxico para *staphylococos*. Utilizar Caldo Neutralizantes Dey-Engley ou Neutralizante Universal.

### 5.5.2 Fatores Envolvidos na eficácia do Sistema Conservante

É inegável estabelecer, que um conservante, em uma formulação farmacêutica, seja estável, não tóxico, inodoro e compatível com outros componentes, ao mesmo tempo realize seu efeito contra uma extensa variedade de potenciais contaminantes, seja minimamente uma tarefa complexa e trabalhosa.

É imprescindível entender os fatores que comprometem a atividade dos conservantes, como por exemplo o pH da formulação, e conhecer as possibilidades de interação entre os conservantes e outros componentes (DOORNE, 2007).

Havendo interferência dos componentes da formulação, na solubilidade ou na disponibilidade do conservante, sua concentração química pode tornar-se ineficiente, visto que não traduz a medida legítima da concentração efetiva (ALLEN JUNIOR, 2007).

Os microrganismos envolvidos na contaminação são fungos, leveduras e bactérias, em geral, o desenvolvimento bacteriano é favorecido em meio fracamente alcalino e os outros em meio ácido. Tendo em vista que poucos microrganismos possam crescer em pH abaixo de 3 ou acima de 9, a maioria das formulações farmacêuticas apresentam pH dentro desta faixa, que facilita a proliferação bacteriana. Sendo assim, devem ser protegidas (ALLEN JUNIOR, 2007).

Para ser efetivo, um conservante deve estar dissolvido em uma concentração suficiente na fase aquosa da preparação. Todavia, apenas a fração não-ionizada ou molecular de um conservante apresenta capacidade de conservação, visto que, a porção ionizada é incapaz de penetrar no microrganismo. Por conseguinte, o conservante escolhido deve estar predominantemente na forma não-dissociada, no pH em que a formulação for preparada. O ácido benzoico, ácido bórico e sórbico, conservantes com características ácidas, encontram-se não dissociados e, deste modo, são mais eficazes quando o pH do meio é mais ácido (ALLEN JUNIOR, 2007).

Em comportamento oposto aos conservantes com características ácida, conservantes alcalinos são menos eficientes em meio ácido ou neutro e mais efetivos em meios alcalinos. Por consequência, sugerir o êxito do conservante em concentrações específicas, não é possível, ao menos que o pH do sistema seja indicado e concentração do agente seja calculada ou determinada de alguma forma (ALLEN JUNIOR, 2007).

Semelhantemente a concentração química dos conservantes pode ser ineficaz se os componentes da formulação interagirem na solubilidade ou disponibilidade, uma vez que não é uma medida verdadeira da concentração eficaz. Nas tabelas 8 e 9 dispõem, respectivamente, sobre os conservantes empregados em preparações de uso oral e uso externo, com suas concentrações, pH ótimo, solubilidade e incompatibilidade (BRANDÃO, 2012).

**Tabela 8** – Conservantes em preparações de uso oral

Conservante	Concentração usual (%)	Espectro de Ação	pH	Solubilidade	Incompatibilidade
<b>Álcool etílico (etanol)</b>	10,0	Bactérias e fungos	Ácido	Miscível com água, acetona, glicerina	Agentes oxidantes, gomas, cloretos e permanganato.
<b>Ácido Benzoico e seus sais (Benzoato de sódio)</b>	0,1-0,2	Bactérias Gram +, bolores e leveduras	2,0-5,0	Água, etanol	Caolim, glicerina, proteínas, tensoativos não iônicos (Tween 80), compostos quarternários e gelatina.
<b>Ácido sórbico</b>	0,05-0,2	Bolores e leveduras	2,5-6,0	Água, etanol, propilenoglicol, glicerina, óleos	Surfactantes não iônicos (Tween 80)
<b>Sorbato de potássio</b>	0,1-0,2	Fungos e bactérias	2,5-6,0	Água, etanol, propilenoglicol	Surfactantes não iônicos.
<b>Metilparabeno (Nipagin)</b>	0,015-0,2	Bactérias Gram +, bolores, leveduras	3,0-9,5	Etanol, glicerina, propilenoglicol, água tépida	Surfactantes não iônicos (Tween 80), metilcelulose, gelatina, proteínas, sais de ferro e álcalis.
<b>P Propilparabeno (Nipazol)</b>	0,01-0,2	Idem metilparabeno			

Fonte: Adaptado de BRANDÃO, 2012.

**Tabela 9** – Conservantes para preparações de uso externo

Conservante	Espectro Antimicrobiano	pH ótimo	Concentração usual (%)	Incompatibilidade
<b>Ácido Benzoico e benzoato de sódio</b>	Bolores e leveduras Bactérias Gram +	2,0 - 5,0 É ativo somente em meio	0,1 - 0,5	Tensoativos não-iônicos (ex: Tween 80) Compostos quaternários, gelatina, glicerina, proteínas.
<b>Ácido sórbico</b>	Fungos e leveduras. Pouca atividade sobre bactérias	2,5 - 6,0	0,1 - 0,3	Levemente incompatível com tensoativos não-iônicos.
<b>Sorbato de potássio</b>	Fungos, leveduras. Pouca atividade microbiana	2,5 - 6,0	0,1 - 0,2	Surfactantes não iônicos e alguns materiais plásticos.
<b>Álcool benzílico</b>	Bactérias Gram + e Gram -	Ácido $\leq$ 5,0	1 - 3	Agentes oxidantes Agentes tensoativos não-iônicos (Twenn 80).
<b>Bronopol<sup>R</sup> 2-bromo-2-nitropropano 1,3 diol</b>	É mais ativo contra Bactérias Gram - de que contra Gram +. Tem baixa atividade fungicida e esporicida	5,0 - 7,0	0,01 - 0,1	Não é afetado significativamente pela presença de proteínas e tensoativos não-iônicos. Os compostos sulfidrilos (cisteína e tioglicolato e matabissulfito são seus antagonistas. Se inativa na presença de 0,1% de cloridrato de cisteína.
<b>Clorexidina</b>	Bactérias Gram + e Gram - (pouco ativa contra Pseudomonas spp_ Pouco ativa contra	5,0 - 8,0	0,01 - 0,1	Tensoativos aniônicos, gemas, alginato de sódio. Inativada parcialmente por lecitina e Tween

	fungos		80.
	Bactérias Gram + e algumas Gram -		Agentes aniônicos, sabões, nitratos, metais pesados, citrato, proteínas.
<b>Cloreto de belzacônio</b>	4,0 – 10,0	0,05 – 0,1	Pode ser absorvido por materiais plásticos. Inativado por lecitina e Tween

Fonte: Adaptado de BRANDÃO, 2012.

Nos últimos anos, incompatibilidades com outros adjuvantes farmacêuticos foram evidenciadas e, sem dúvida outras surgiram, ao passo que novos adjuvantes farmacêuticos, conservantes e agentes terapêuticos forem combinados pela primeira vez.

As macromoléculas são componentes marcantes nas muitas combinações incompatíveis que, indiscutivelmente inativam os conservantes, vários derivados de celulose, polietilenoglicóis e gomas naturais. Dentre elas está o adragante, que pode atrair e reter alguns conservantes, parabenos e compostos fenólicos, tornam-se incapazes de realizar sua função (ALLEN JUNIOR, 2007).

É pertinente ressaltar que, um sistema conservante contemplando a combinação de conservantes eficazes contra fungos e bactérias gram positivas e gram negativas, corretamente formulados, aumenta o espectro de ação desse sistema, diminui possíveis efeitos tóxicos e será mais efetivo em comparação a utilização de um único conservante. A atividade dos tradicionais parabenos aumenta de acordo com o comprimento da cadeia alquil (butil>propil>etil>metil), são usualmente utilizados em combinação, por exemplo metilparabeno e propilparabeno. Os parabenos são excelentes conservantes, contudo são mais eficazes frente a bolores e leveduras e também contra bactérias Gram +, não sendo ativos contra bactérias Gram -, incluindo *Pseudomonas*. Essa estratégia de combinação com diferentes conservantes, viabiliza rentabilizar e potenciar a eficácia dos mesmos. O cloreto de benzalcônio é inoperante contra algumas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium* e *Trichophyton*, porém, associado com EDTA, álcool benzílico, 2-feniletanol e 3-fenipropanol aumenta sua atividade anti-*Pseudomonas*.

A tabela 10 demonstra associações de alguns conservantes com amplo espectro antimicrobiano (BRANDÃO, 2012; JORGE, 2013).

**Tabela 10** – Misturas (Blends) de Conservantes

Conservantes	Espectro Antimicrobiano	pH ótimo	Concentração Usual (%)	Incompatibilidade
<b>Butilparabeno + Etilparabeno + Metilparabeno + Propilparabeno + Phenoxietanol</b>	Amplo espectro Abrange fungos, leveduras, bactérias Gram + e Gram -, com boa atividade contra Pseudomonas	3,0 – 8,0	0,2 – 0,8	Idem parabenos e fenoxietanol.
<b>Propileno glicol + diazolidini uréia + metilparabeno + propilparabeno</b>	Efetivo contra bactérias Gram +, Gram - e contra bolores e leveduras	----	0,25 – 1,0	Compatível com a maioria dos ingredientes das formulações cosméticas tais como proteínas, tensoativos.
<b>DMDM hidantoina + Iodopropinil buticarbamato</b>	Ativo contra bactérias, bolores e leveduras	Estável em ampla faixa de pH	0,05 – 0,13	-----
<b>Isopropilparabeno + Isobutilparabeno</b>	Amplo espectro contra bactérias Gram +, Gram -, bolores e leveduras	4,0 – 8,0	0,3 – 0,6	Ligeiramente inativado por agentes tensoativos não-iônicos.
<b>2-fenoxietanol e p-cloro metoxifenol</b>	Amplo	Ampla faixa de pH	0,3 – 0,5	Pode ser ligeiramente inativado por tensoativos catiônicos e não-iônicos

Fonte: Adaptado de BRANDÃO, 2012.

É de extrema importância estudar a formulação farmacêutica, como cada componente irá se comportar frente ao outro, certificando que todos estejam desprendidos para realizar, cada um, sua função. Ademais, o conservante não deve interagir com o recipiente (tubo de metal, embalagem plástica, tampa de vedação, dentre outros), essa ação poderá resultar na decomposição de ambos (conservante e recipiente), provocando decomposição e contaminação (ALLEN JUNIOR, 2007).

## 6. CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que, isoladamente ou em sinergia combinações, a utilização de conservantes em preparações farmacêuticas continuam a ser necessários para evitar a contaminação microbiana.

A alteração microbiológica em formulações farmacêuticas pode trazer sérios danos à saúde do indivíduo. Frente a isso, é de grande necessidade e importância o controle de processos produtivos e de matérias primas, visando reduzir os riscos à população. O sistema conservante é um fator de extrema relevância na formulação e diversos pontos devem ser considerados.

A concentração mínima efetiva necessária para promover a proteção e preservação sem causar dano à saúde, a classificação química dos conservantes interfere diretamente na escolha dos mesmos frente as diversas formas farmacêuticas com suas características particulares, as fontes de contaminação presentes durante todo o processo de produção das preparações farmacêuticas, a atividade de água nas preparações farmacêuticas podem proporcionar um ambiente ótimo para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos, a observância desses fatores é fundamental, para proporcionar ao sistema conservante eficaz e seguro.

O controle microbiológico apresenta um grande impacto na saúde pública, na medida em que um pequeno erro ou descuido na escolha do conservante ideal, que atenda as especificações existentes e mantenha em níveis aceitáveis possíveis microrganismo e ainda sim, não comprometer a mesma, pode ser fatal. Par tal, é necessária a verificação de que o processo de eliminação desses agentes patógenos oportunistas foi eficaz na sua totalidade.

A manutenção do controle de níveis de contaminação em formulações farmacêuticas, observadas e sob orientação da Farmacopeia Brasileira e em sincronia com outros compêndios internacionais, o uso de conservantes para tal objetivo, depende da vigilância contínua de todos os aspectos de formulação e fabricação.

O grande desafio para obter um sistema conservante eficaz, inicia-se nas características da formulação, pois fatores como, pH, atividade de água do produto, disponibilidades de nutrientes, concentração de tensoativos, componentes não-aquosos, antibióticos e antioxidantes (materiais interferentes), poderão interferir na

eficiência do conservante. Simultaneamente, uma análise minuciosa se faz necessária ao conservante, verificando suas propriedades físico-químicas, para prever possíveis incompatibilidades químicas com os componentes, e organolépticas, que podem causar prováveis interferências na cor, odor e sabor além da toxicidade.

Para se alcançar níveis aceitáveis e seguros de qualidade microbiana nos produtos farmacêuticos, é essencial ter conhecimento das fontes e mecanismos responsáveis por esta contaminação. Carga microbiana elevada compromete a estabilidade do produto, visto que, o fármaco pode ser degradado, a aparência pode ser prejudicada e o pH da formulação pode ser alterado.

Um fator importante que poderá comprometer a eficácia do sistema conservante, é o pH. A maioria das preparações farmacêuticas apresentam pH entre 3 e 9, faixa ótima para crescimento microbiano, desse modo, torna-se de extrema importância uma atenção maior nas formulações com essas características.

O teste de desafio do sistema de conservante, mostrou-se eficiente para avaliar a atividade microbiana presente na formulação, com o objetivo de garantir a segurança do paciente, e ao mesmo tempo a estabilidade do produto. O preservativo, deverá ser utilizado nas concentrações corretas, pois em baixas concentrações poderá ocorrer contaminação microbiana e em altas concentrações poderá ocorrer toxicidade.

Conclui-se que, frente aos riscos e benefícios da utilização dos conservantes nas formulações farmacêuticas, o desafio é, ao mesmo tempo, proteger o fármaco da deterioração e os consumidores de microrganismos potencialmente patogênicos, sem gerar riscos e efeito adversos.

## Referências

- AMARAL, L. F. B. **Avaliação da Eficácia antimicrobiana do Monoéster de C-8 Xilitol como Alternativa Conservante para produtos Cosméticos**. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. Tese de Mestrado em Ciências Médicas, Campinas – SP, 2010. p.28-29.
- ALLEN JUNIOR, L. V., ANSEL, H. C., POPOCIVH, N. G. **Formas Farmacêuticas e Sistema de Liberação de Fármacos**. Porto Alegre: Artmed, 2007, 8.ed.
- \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Porto Alegre: Artmed, 2013, 9.ed., p. 156-158.
- AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2007a, 3.ed.,p. 663-668.
- \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2007b, 3.ed., p. 632-634.
- BRANDÃO, A. C. C. **Excipientes e Adjuvantes Farmacêuticos: Boas Práticas Farmacêuticas**. Rio de Janeiro – RJ, 2012. p. 12-14.
- BRANNAN, D. K. **Cosmetic Microbiology. Encyclopedia of Microbiology. Academic Press**, Boca Raton, vol. 1, 1992. p. 593-603.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Coloração de Gram**. Secretaria de Políticas de Saúde Programa Nacional de DST e Aids. Brasília, 2001.
- BRASIL, ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira, volume 1**. 5a Ed. Brasília, 2010. p. 273.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 67, de 08 de Outubro de 2007. Dispões sobre **Boas Práticas de Manipulações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em Farmácias e seus anexos**. Disponível em: [www.20.anvisa.gov.br/legislacao/](http://www.20.anvisa.gov.br/legislacao/). Acesso em: 28 abr. 2017.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17, de 16 de Abril de 2010. Dispõe sobre as **Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 28 abr. 2017
- \_\_\_\_\_. Resolução RDC nº48, de 25 de Outubro de 2013. Dispõe sobre **Boas Práticas de Fabricação para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 28 abr. 2017.
- CEZAR, J. Separação Simultânea: **Fenoxietanol e Parabenos**, 18 set. 2014. Disponível em: <http://saasambiental.com.br/blog/juliocezarsary.isq.17025.LIMS.laboratorio.incerteza.demedicacao/merck/>. Acesso em: 30 maio 2017.
- CUNDELL, A. M. Microbial Identification Strategies in the pharmaceutical Industry. **POA J. Pharm. Sei. Technol.**, v. 60, 2006. p. 111-123

DAVIN-REGLI, A., CHALLET, R., BREDIN, J., CHEVALIER, J., LEPINE, F., PAGES, J. M. Enterobacter Gergoviae and the Prevalence of efflux in Parabens Resistance. **J. Antimicrob. Chemoth.**, 2006. v. 57, p. 757-76.

DOORNE, H. V. Preservative Stability and Efficacy: Formulation Influences. In: DENYER, S. P. BAIRD, R. M. **Guide to Microbiological Control in Pharmaceutical and Medical Devices**. 2ª ed. Boca Raton: CRC Pres., Cap. 15, 2007. p. 349-366.

DRUMOND, F. **Importância do Challenge Test**. Disponível em: <[www.boaspraticasnet.com.br](http://www.boaspraticasnet.com.br)> Acesso em: 05 maio 2017.

**Farmacopéia Americana** (United States Pharmacopeial – USP, 2016).

**Farmacopeia Portuguesa VII**. Lisboa: Ministério da Saúde, INFARMED. Vol 1, 2002. p. 470.

FASSIHI, R. A. **Preservation and microbiological Attributes of Nonsterite Pharmaceutics**. Fifthn Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

GILANI, N. **Tipos de Conservantes em Química Farmacêutica**. Disponível em: <[http://www.ehowenespanol.com/tipos-conservantes-quimica-farmaceuticas-lista\\_436064/](http://www.ehowenespanol.com/tipos-conservantes-quimica-farmaceuticas-lista_436064/)>. Acesso em: 22 maio 2017.

GRADIN, A. J., ANJOS, M. **Controle Microbiológico na Indústria de Higiene, perfumaria e Cosméticos**. Guia de Microbiologia. 1ª Ed., p. 68, 2015.

JORGE, A. I. S. T. **Avaliação da Eficácia de Conservante em Preparações Comerciais pra Higiene Íntima**. Universidade da Beira Interior. Covilhã, 2013.

HODGES, N. A., GORMAN, S. P., Eds Blackwell Publishing, Oxford. HUGO and RUSSELL'S **Pharmaceutical Microbiology**. 7 th ed. Denyer, SP., 1991. p. 263-284.

LOURENÇO, F. R. **Teste de Eficácia de Conservantes de Medicamentos e Cosméticos**. 2016.

MACHADO, S. M. O. **Avaliação do Efeito antimicrobiano do Surfactante Cloreto de Benzalcônio no Controle da Formação de Biofilmes Indesejáveis**. Tese de Mestrado, em Tecnologia do Ambiente. Universidade do Minho. Escola de Engenharia., 2005. p. 34.

PARKER, M. **Contaminação Microbiológica e Conservação de Produtos Farmacêuticos**. In: AULTON, M. E. Delineamento de Formas Farmacêuticas. 2ª ed. Porto Alegre. ARTMED, 2005.

PEREIRA, T. A. **Avaliação da Eficácia de um Sistema Consevante em Formulações Adicionadas de Biomoléculas farmacêuticas e Estudos de Adaptação Microbiana**. Universidade de Brasília. Brasília – DF, 2011a.

PEREIRA, S. L. G. **Alteração de Conservantes no Pós-registro e Possíveis Impactos na Qualidade dos Medicamentos Fabricados no Brasil**. Universidade Estadual Paulista. Araraquara – SP, 2011b.

PIMENTA, C. M. C., AZEVEDO, C. A., BENJAMIN, A. P. **Conservantes mais Utilizados em Farmacotécnica**. Disponível em: <[www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/271/conservantes-mais-utilizados-em-farmacotecnica](http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/271/conservantes-mais-utilizados-em-farmacotecnica)> . Acesso em: 10 abr. 2017.

PINTO, T. J. A. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. São Paulo: Atheneu, p. 308, 2000.

PINTO, T. J. A., KANER, T. M., PINTO, A, F. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 3 ed. São Paulo. Atheneu, 2013.

PRISTA, L. N., ALVES, A. C., MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**, 4<sup>a</sup> ed, 3v, 1996. p. 1643-4.

RAMOS, S. V. V. **Validação da Metodologia Analítica Aplicada ao Controle da Qualidade Microbiológica de Formas Farmacêuticas Líquidas e Determinação da Eficácia dos Conservantes**. Universidade Federal de Pernambuco. Recife – PE, 2010.

RAVITA, T. D., TANNER, R. S., AEARN, D. G., ARMS, E. L. C., CROCKETT, P. T. Post-consumer Use Efficacies of Preservatives in Personal Care and Topical Drug Products: Relationship to Preservaty Category. **JMD Microbiol Biotechnol**, 2009. p. 35.36.

RIBEIRO, B. R. **Avaliação do Sistema Conservante de Medicamentos Oftálmicos, Armazenados em Residência**. Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC. Criciúma – SC, 2011.

RIBEIRO, B. C. M. **Otimização de Sistemas Conservantes em Bases Cosméticas Emulsionadas**. Universidade Federal do Paraná. Curitiba – PR. P. 23, 2013b.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Exipients**. 6.ed. London, UK: Pharmaceutical Press e Washington, DC: American Pharmacists Association, 2009.

RUSSELL, A. D. Mechanisms of Bacterial Resistance to non-antibiotic: Food Additives and food and Pharmaceutical Preservatives. **Journal of Applied Microbiol**. Vol. 71. Issue 3, Setember 1991. p. 191-201.

SANTOS, A. L. R. **Avaliação do Sistema Conservante em Formulações com Extrato Hidroalcolóico de *Shinus terebinthifollius raddi* – Anacardiaceac**. Universidade federal do Rio Grande do Norte. RN – Natal, 2007.

SANTOS, V. P. S. **Desenvolvimento de um Método de Detecção de Ácido Benzoico em Refrescos a base de Guaraná.** UFRJ. Rio de Janeiro – RJ, p. 08, 2012.

TURATTI, R. F. M. **Avaliação da Qualidade, Estudo Morfo-anatômico, Estudo da Atividade Antimicrobiana, Conservante, Genotóxica, Mutagênica, Citotóxica e Incorporação em Fórmulas Cosméticas para uso Tópico.** Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Araraquara - SP. 2008.

VASCONCELOS, T. Y. L; MEDEIROS, D. P. F; NASCIMENTO, A. A. **A Inibição do Sistema Conservante de Duas Emulsões O/A Através do Polissorbatato 80.** Instituto Superior de Teologia Aplicada. 2014.

VILLANOVA, J. C. D.; SÁ, V. R. Excipientes: **Guia Prático para Padronização – Formas farmacêuticas Orais, Sólidas e Líquidas.** 2ª ed. São Paulo. Pharmabooks, 2009.

VILLIERS, M. Conservantes Antimicrobianos. In: THOMPSON, J. E.; DAVIDOW, L. W. **A Prática Farmacêutica na Manipulação de Medicamentos,** São Paulo: ARTMED, 2013, 3.ed., p. 226-236.

WHO, International Stability Testing: guidelines for stability testing of pharmaceutical products containing well established drug substances in conventional dosage forms. Annex 5, WHO Technical Report Series. 863, 1996.