



Avaliação da qualidade da água purificada em farmácias magistrais da região de São José do Rio Preto, SP

Moreno, A.H.¹; Tozo, G.C.G.¹; Salgado, H.R.N.^{1*}

¹Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, SP, Brasil

Recebido 15/09/2009 / Aceito 09/09/2010

RESUMO

A água é a matéria-prima mais utilizada na produção de várias formas farmacêuticas, sendo um constituinte da própria formulação e exigindo para tal uma série de especificações físico-químicas e microbiológicas. Além disso, é um insumo de utilização imprescindível para testes laboratoriais e procedimentos de limpeza de equipamentos e utensílios. O presente trabalho teve como objetivo verificar o grau de contaminação química e microbiana em água purificada utilizada em farmácias magistrais da região de São José do Rio Preto, SP. As coletas foram realizadas segundo recomendações da USP Pharmacopeia, com os devidos cuidados de assepsia, e as amostras encaminhadas imediatamente ao laboratório de controle de qualidade. Foram analisados vários parâmetros físico-químicos, tais como aspecto, pH, condutividade, resíduo por evaporação, amônia, cálcio, cloreto, metais pesados, sulfato e substâncias oxidáveis, além de parâmetros microbiológicos, como contagem total de aeróbios e pesquisa de coliformes totais e termotolerantes e *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados indicaram alguns parâmetros de não conformidade: em 10% das amostras analisadas para o pH e pesquisa de impurezas inorgânicas, em 17% para condutividade, em 14% para substâncias oxidáveis e em 20% para análise microbiológica, ressaltando a necessidade de maior rigor na produção e qualidade da água purificada produzida e/ou armazenada nesses estabelecimentos farmacêuticos.

Palavras-chave: Água purificada. Controle de qualidade. Pesquisa de impurezas. Avaliação microbiológica. Farmácias magistrais.

INTRODUÇÃO

A água utilizada pelas farmácias magistrais deve, inicialmente, atender aos critérios estabelecidos para água potável, ou seja, água de superfície que sofre tratamento

em estações gerenciadas por órgãos públicos ou água de subsolo por meio de poços artesianos, podendo esta ser usada na limpeza e extração, mas não diretamente em produtos farmacêuticos ou cosméticos. Quando utilizada como componente de preparações farmacêuticas, deve passar por algum processo de purificação, de acordo com os requisitos obrigatórios de qualidade exigidos para água purificada (Ansel et al., 2000; Billan, 2005; Nairn, 2004; Per Horn, 2002; USP, 2005).

A necessidade de purificação decorre da presença de contaminantes inorgânicos e orgânicos na água de alimentação (água potável), que são decorrentes da sua fonte e da sua exposição ao meio ambiente, até chegar ao ponto de consumo (Sariego, 1994; Vasconcelos, 2002). Em função desses aspectos, a água purificada que é usada na produção de medicamentos e outros produtos para a saúde deve apresentar considerável grau de pureza, a fim de garantir a qualidade dos produtos nos quais é utilizada (Alencar & Rolim Neto, 2000; Ferreira, 2002). Essa qualidade é alcançada através de apropriada seleção, instalação, validação e operação dos processos unitários de purificação da água, bem como dos sistemas de armazenamento e distribuição, os quais devem ser rigorosamente monitorados com a realização dos controles físico-químico e microbiológico de qualidade da água para uso farmacêutico (Ligiéro et al., 2005; Parker, 2005; Thompson, 2006).

As atividades relativas à fabricação e controle de medicamentos são objetos de intensa regulamentação e fiscalização no segmento farmacêutico. A Resolução RDC n.67 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 8 de outubro de 2007 (Brasil, 2007), define a implantação das boas práticas de manipulação como um programa documentado que proporciona um alto grau de segurança, de modo que um processo específico produza uma forma farmacêutica que satisfaça as especificações e atributos de qualidade pré-determinados.

Contudo, mesmo que o processo de tratamento selecionado seja capaz de produzir água na quantidade e com o grau de qualidade exigido, os procedimentos adotados para a operação dos processos de seu tratamento e de sua armazenagem e distribuição também irão influenciar na sua qualidade, assim como das condições sanitárias dos equipamentos e de demais dispositivos envolvidos no sistema de produção, distribuição e uso da água. Desse

Autor correspondente: Profa. Dra. Hérica Regina Nunes Salgado. Departamento de Fármacos e Medicamentos. Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP. Rodovia Araraquara-Jaú, km 1. CEP 14801-902, Araraquara, SP, Brasil - e-mail: salgadoh@fcar.unesp.br

modo, torna-se importante que se disponha de dispositivos e/ou procedimentos capazes de monitorar a qualidade da água antes de sua utilização, com o objetivo de verificar se esta continua atendendo aos padrões de qualidade exigidos para seu respectivo uso (Mierzwa, 2000; Muradian Filho, 2006; Parker, 2005).

O grau de pureza exigido para o preparo de medicamentos não estéreis é o da água purificada, que consiste na água utilizada na preparação de todos os medicamentos que não requerem o uso de água para injetáveis, a não ser que a monografia do produto especifique outro grau de qualidade. Considerada ideal para formas farmacêuticas magistrais, não deve ser usada em produtos parenterais, podendo ser obtida por destilação, troca iônica ou osmose reversa (Veolia, 2009). Os parâmetros farmacopeicos de qualidade exigidos para água purificada são: descrição de caracteres físicos (aspecto, cor, odor e sabor), ensaios de pureza (acidez ou alcalinidade, substâncias oxidáveis, condutividade elétrica, amônio, cálcio e magnésio, cloretos, nitratos, sulfatos, metais pesados, resíduo por evaporação) e contagem de microrganismos viáveis totais (British Pharmacopoeia, 2003; European Pharmacopoeia, 2005; Farmacopéia Brasileira, 2005; Farmacopéia Portuguesa, 2005; USP, 2008). Durante sua produção e armazenamento, medidas apropriadas devem ser tomadas para assegurar o controle e monitoramento microbiológico de aeróbios totais. Em condições normais, o limite deve ser de 100 UFC/mL, determinado pela técnica da membrana filtrante (Carturan, 1998; European Pharmacopoeia, 2005; USP, 2008).

Segundo a Resolução RDC n.67 de 8 de março de 2007 (Brasil, 2007), devem ser realizados testes físico-químicos e microbiológicos na água purificada, no mínimo mensalmente, com o objetivo de monitorar o seu processo de obtenção, podendo a farmácia terceirizá-los; já a indústria farmacêutica deve estabelecer a frequência de amostragem e monitoramento da qualidade da água, a fim de evitar a ocorrência de contaminação ou outros efeitos adversos sobre a qualidade do produto final (Brasil, 2010).

Um dos problemas associados à degradação da qualidade da água e à redução da eficiência dos processos de tratamento é a proliferação de microrganismos em todos os dispositivos utilizados para a armazenagem, transporte, tratamento e distribuição, inclusive da água de alimentação do processo. Caso esses microrganismos não sejam controlados, eles irão se reproduzir e eventualmente causar problemas, inclusive perda de alguns componentes do sistema de tratamento (Pinto et al., 2003; Sanchez, 1994; Ying et al., 2004).

Os procedimentos de sanitização, quando adotados, consistem em medidas complementares e devem ser efetuados em todos os componentes pertencentes ao sistema de tratamento. Porém, deve-se atentar para o uso de condições extremas de pH e calor ou compostos químicos que possam degradar os materiais com os quais entram em contato (USP, 2005).

Independente do processo de tratamento utilizado para a obtenção de água para uso farmacêutico, o desenvolvimento de biofilme é inevitável, podendo ocorrer em menor ou maior período de tempo, dependendo da qualidade da água de alimentação, processo de tratamento utilizado e regime de operação do sistema. Devido a isso,

não existe uma regra genérica que defina a frequência de realização da sanitização, que pode ser mensal ou ainda menor (Brasil, 2007; Macedo, 2000; Pinto et al., 2003).

De um modo geral, o processo de sanitização consiste na eliminação das colônias de microrganismos que se desenvolveram nos componentes do sistema de tratamento de água. Utilizou-se, para isso, um agente de sanitização adequado através de sua recirculação pelos componentes do sistema ou por qualquer outro método que possibilite o contato do agente com os componentes e estruturas que se deseja sanitizar. Na maioria das vezes, os agentes sanitizantes mais empregados são compostos químicos que possibilitam a inativação dos microrganismos e a remoção do biofilme formado, sendo representados pelo hipoclorito de sódio (0,5 ppm a 0,2% de cloro livre), formaldeído (0,5 a 4%), peróxido de hidrogênio (0,2%), ácido peracético (0,2%), ácido clorídrico (pH 2,0) e hidróxido de sódio (pH 12,0). O tempo mínimo de contato pode variar de 30 minutos a 2 horas. Terminado o processo de sanitização, deve-se proceder ao enxágue de todo o sistema sanitizado, com o objetivo de remover o residual do composto químico utilizado, de forma a deixar o sistema apto para o reinício da operação de tratamento (Conrado & Carneiro, 2006; Hanlon & Hodges, 2005; USP, 2005).

Outra forma de desinfecção muitas vezes adotada é realizada por meio da radiação ultravioleta, principalmente raios UVC com comprimento de onda entre 200 e 280 nm e que atuam no material genético das células dos microrganismos, que causam o rompimento de ligações químicas de moléculas que compõem o DNA e RNA fazendo com que alguns processos vitais sejam interrompidos, o que resulta na morte ou inativação dos microrganismos. Porém, é importante ressaltar que não há remoção física dos microrganismos da água submetida a esse tipo de tratamento. Além disso, a radiação UV não penetra na água de maneira muito significativa e a presença de materiais em suspensão pode evitar que os microrganismos sejam expostos à radiação, funcionando como um escudo (Bruno & Lorenz, 1999; Cetesb, 1974; Mierzwa, 2000).

Os procedimentos de monitoração da qualidade da água produzida são adotados para indicar possíveis anomalias no processo de tratamento adotado ou com a água de alimentação. Os resultados obtidos podem ser utilizados para uma avaliação do sistema de tratamento, indicando a necessidade de paradas para manutenção, substituição de componentes ou limpeza do sistema como um todo (Mierzwa, 2000).

A amostragem deve ser frequente, monitorada e avaliada para eventuais ações corretivas, sendo que o sucesso do programa pode beneficiar e aumentar a vida útil do sistema de tratamento (Brasil, 2007; USP, 2005, 2008). Os parâmetros críticos são: condutividade elétrica, índice de carbono orgânico total (COT) e contagem microbiana. Os sais dissolvidos e ionizados presentes na água transformam-se em eletrólitos capazes de conduzir corrente elétrica. Como há uma relação de proporcionalidade entre o teor de sais dissolvidos e a condutividade elétrica, pode-se estimar o teor de sais pela medida da condutividade (Hypólito et al., 2009; Macedo, 2000).

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar a qualidade da água purificada utilizada no preparo de medicamentos e formulações cosméticas em farmácias

magistrais da região de São José do Rio Preto, SP, segundo parâmetros farmacopeicos de qualidade exigidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

A amostragem foi realizada em farmácias magistrais da região de São José do Rio Preto, SP, obtida por destilação, troca iônica ou osmose reversa, totalizando 30 amostras de água purificada. O procedimento de coleta foi realizado segundo recomendações da USP Pharmacists' Pharmacopeia (2005), Conrado & Carneiro (2006) e USP (2008). As amostras foram coletadas diretamente da saída do sistema de tratamento (destilação, troca iônica ou osmose reversa), do barrilete de armazenamento ou de outro local determinado com todos os cuidados de assepsia. As primeiras porções foram desprezadas, deixando-se a água escorrer por alguns minutos. Em seguida, a embalagem de coleta (frasco esterilizado) foi ambientada com a amostra e preenchida, desprezando-se o excesso de líquido. A quantidade coletada foi de 1000 mL. As amostras, devidamente identificadas, foram imediatamente encaminhadas refrigeradas para o laboratório de controle de qualidade, onde foram realizados os ensaios físicos, químicos e microbiológicos.

Execução do ensaio

A metodologia utilizada, assim como as soluções empregadas na realização dos testes físico-químicos, foi a preconizada pela USP (2008) e pela Farmacopeia Brasileira (2005). Todos os reagentes utilizados no preparo das soluções e meios de cultura eram de grau analítico e as vidrarias volumétricas foram calibradas. A temperatura ambiente foi controlada em $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Ao chegarem ao laboratório de controle de qualidade, as embalagens contendo as amostras foram devidamente sanitizadas externamente com álcool 70%, assim como os equipamentos, utensílios e bancadas (Conrado & Carneiro, 2006). Foram analisados os seguintes parâmetros de qualidade: aspecto, pH, condutividade elétrica, resíduo por evaporação, ensaios de amônia, cloreto, cálcio, sulfato e metais pesados, além dos ensaios de dióxido de carbono e de substâncias facilmente oxidáveis.

O controle microbiológico foi realizado primeiramente e abrangeu a contagem total de aeróbios viáveis, de coliformes (totais e termotolerantes) e de *Pseudomonas aeruginosa*. A técnica utilizada em todas as determinações microbiológicas foi a da membrana filtrante, com o emprego de equipamento de filtração a vácuo (Millipore, São Paulo) e membranas filtrantes brancas, quadriculadas e estéreis, com diâmetro (47 mm) e porosidade (0,45 μm) adequados (Millipore, São Paulo). As bactérias a serem detectadas, apresentando dimensões maiores, ficarão retidas na superfície da membrana, a qual será, então, transferida para uma placa de Petri contendo o meio de cultura seletivo e diferencial. Por capilaridade, o meio difunde-se para a membrana, entrando em contato

com as bactérias e, após o período de tempo determinado, desenvolvem-se colônias com características típicas, que poderão ser observadas com auxílio de um microscópio. Todo o procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar com os devidos cuidados de assepsia.

a) Contagem microbiana de aeróbios viáveis: volumes adequados de cada amostra (100 mL) foram filtrados a vácuo e as membranas removidas assepticamente do equipamento de filtração com auxílio de pinças estéreis, depositando-as sobre a superfície de placas de Petri contendo o ágar Plate Count (PCA). As placas foram incubadas a $20-28^\circ\text{C}$ durante 5-7 dias e, após esse período, foi verificado o desenvolvimento de colônias e realizada a contagem total com auxílio de contador de colônias (Beckman, São Paulo).

b) Contagem de coliformes totais e termotolerantes: volumes de 100 mL de cada amostra foram filtrados a vácuo e as membranas assepticamente depositadas sobre a superfície do meio ágar M-Endo, sendo efetuada a incubação a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Após esse período, foi efetuada a contagem das colônias típicas de coliformes (coloração rosa a vermelho-escura, com brilho metálico verde-dourado). Para a confirmação de coliformes termotolerantes, todas as colônias com brilho verde metálico foram verificadas em tubos de ensaio contendo caldo lactosado e caldo lactosado com verde brilhante e bile a 2 %, sendo a incubação realizada a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Os resultados positivos nos tubos contendo o caldo lactosado com verde brilhante e bile a 2% foram confirmados em tubos contendo o meio EC e incubados a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas em banho-maria.

c) Contagem de *Pseudomonas aeruginosa*: após a filtração de 100 mL de cada amostra, a membrana filtrante foi transferida para a superfície de placas de Petri contendo ágar cetrimida, sendo efetuada a incubação a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 24-72 horas. Após esse período, foi efetuada a contagem das colônias típicas (coloração esverdeada, com fluorescência). A confirmação de colônias suspeitas foi realizada pelo teste de oxidase. Colônias foram transferidas para discos previamente impregnados com cloridrato de *N,N*-dimetil-*p*-fenilenodiamina e verificado o desenvolvimento de coloração rósea a púrpura, o que confirma a presença de *P. aeruginosa*.

d) Aspecto: com o auxílio de uma pipeta, foram transferidos 10 mL de cada amostra para tubos de Nessler, os quais foram observados visualmente contra a luz, não devendo haver partículas sólidas precipitadas ou dispersas.

e) Determinação do pH: uma porção de 50 mL de cada amostra foi transferida para béqueres e realizadas as medições diretas de pH em peagômetro (Quimis, São Paulo) previamente calibrado a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, procedendo-se à abertura da tampa do orifício de enchimento do eletrólito, localizada na parte superior do eletrodo, a fim de que fosse estabelecido o equilíbrio de pressão do seu interior com a atmosfera.

f) Condutividade elétrica: uma porção de 50 mL de cada amostra foi transferida para béqueres e realizadas as medições em condutivímetro (Nova Ética, São Paulo) previamente calibrado a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, procedendo-se à abertura da tampa do orifício de enchimento do eletrólito, localizada na parte superior do eletrodo, a fim de que fosse

estabelecido o equilíbrio de pressão do seu interior com a atmosfera.

g) Resíduo por evaporação: com o auxílio de pipetas volumétricas, foram transferidas alíquotas de 100 mL de cada amostra para cápsulas de porcelana previamente dessecadas em estufa a 105°C e mantidas em dessecador. Em seguida, as cápsulas foram colocadas sobre uma chapa aquecedora até a evaporação completa da amostra. Após evaporação, as cápsulas contendo os resíduos foram colocadas em estufa a 105°C durante 1 hora, resfriadas em dessecador e pesadas. O ensaio foi realizado em triplicata e os resultados calculados em porcentagem, não devendo permanecer mais do que 1 mg de resíduo sobre a cápsula (0,001%).

h) Amônia: com auxílio de uma proveta, foram transferidos 20 mL de cada amostra para tubos de Nessler de 25 mL e adicionados 0,2 mL de solução alcalina de tetraiodomercurato de potássio SR (Reagente de Nessler). O conteúdo foi cuidadosamente homogeneizado e os tubos permaneceram em repouso durante 5 minutos. O resultado foi avaliado visualmente colocando-se os tubos contra a luz, sendo que a solução deve permanecer límpida ou ficar levemente amarelada.

i) Cloreto: com o auxílio de uma proveta, foram transferidos 10 mL de cada amostra para tubos de ensaio e adicionados 5 gotas de ácido nítrico concentrado e 0,1 mL de solução de nitrato de prata 0,1 mol/L. O conteúdo foi cuidadosamente homogeneizado e os tubos examinados visualmente contra a luz, não devendo apresentar turvação ou opalescência.

j) Cálcio: com o auxílio de uma proveta, foram transferidos 10 mL de cada amostra para tubos de ensaio e adicionados 0,2 mL de solução de oxalato de amônio a 3,5 % (p/v). O conteúdo foi cuidadosamente homogeneizado e os tubos examinados visualmente contra a luz, não devendo apresentar turvação ou opalescência.

l) Sulfato: com o auxílio de uma proveta, foram transferidos 100 mL de cada amostra para béqueres e adicionado 1 mL de solução de cloreto de bário a 12 % (p/v). O conteúdo foi cuidadosamente homogeneizado e os béqueres examinados visualmente contra a luz, não devendo apresentar turvação ou opalescência.

m) Metais pesados: com o auxílio de uma proveta, foram transferidos 200 mL de cada amostra para béqueres, os quais foram colocados sob aquecimento em chapa aquecedora até que o volume fosse reduzido a aproximadamente 20 mL. Em seguida, 2 mL foram transferidos para tubo de Nessler e adicionados 10 mL de solução padrão de chumbo 1 ppm (“solução controle”); em outro tubo de Nessler foram transferidos 12 mL da amostra. Em seguida, foram adicionados 2 mL de solução tampão acetato pH 3,5 e 1,2 mL de reagente de tioacetamida aos tubos “controle” e “amostra”, os quais foram tampados e homogeneizados. Após dois minutos em repouso ao abrigo da luz, os tubos foram comparados visualmente, não devendo o tubo “amostra” apresentar coloração marrom mais intensa que o tubo “controle”.

n) Dióxido de carbono: com o auxílio de uma proveta, foram transferidos 25 mL de cada amostra para provetas de rolha esmerilhada e adicionados 25 mL de solução saturada de hidróxido de cálcio SR. O conteúdo foi agitado e examinado visualmente contra a luz, não devendo apresentar turvação.

o) Substâncias oxidáveis: com o auxílio de uma proveta, foram transferidos 100 mL de cada amostra para béqueres, adicionados de 10 mL de solução de ácido sulfúrico 2 mol/L, e colocados sobre chapa aquecedora até ebulição. Com o auxílio de uma pipeta, foram adicionados 0,1 mL de solução de permanganato de potássio 0,1 mol/L previamente preparada, mantendo-se em ebulição durante dez minutos. A coloração rosa não deve desaparecer completamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no controle de qualidade microbiológico revelaram que a contagem total de microrganismos aeróbios esteve acima das especificações (máximo de 100 UFC/mL) em 20% das amostras analisadas, além da constatação da presença de coliformes totais e fecais e de *Pseudomonas aeruginosa* (16,7% e 10%, respectivamente), conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados obtidos no controle de qualidade físico-químico e microbiológico de água purificada

Parâmetro	Especificação *	Resultados **	Nº reprovadas	Reprovadas (%)
Aspecto	límpido, inodoro e insípido	de acordo	0	0
pH	entre 5 e 7	4,5; 4,0; 4,7	3	10,0
Amônia	límpida ou levemente amarelada	amarelada	3	10,0
Cálcio	ausência de turvação	de acordo	0	0
Cloreto	ausência de turvação	turvação	4	13,3
Condutividade elétrica	máximo de 4,3 µS/cm	7; 10; 16; 18; 25	5	16,7
Dióxido de carbono	ausência de turvação	0	0	0
Metais pesados	ausência de coloração marrom	0	0	0
Resíduo por evaporação	máximo 0,001%	0	0	0
Substâncias oxidáveis	permanência da coloração rosa	descoloração	4	13,3
Sulfato	ausência de turvação	turvação	2	6,7
Contagem de aeróbios	máximo 100 UFC/mL	119; 132; 183; 210; 237; 413	6	20,0
Coliformes totais e termotolerantes	ausente/100 mL	1; 2; 3; 7; 15 (UFC/mL)	5	16,7
<i>P. aeruginosa</i>	ausente/100 mL	3; 10; 28 (UFC/mL)	3	10,0

* Farmacopeia Brasileira (2005); USP 31 (2008). ** Total de 30 amostras analisadas.

Os parâmetros físico-químicos que apresentaram maior índice de não conformidade foram: pH (10,0%), condutividade (15%), cloreto (13,3%), sulfato (6,7%), amônia (10,0%) e substâncias oxidáveis (13,3%), conforme demonstrado na Tabela 1.

A pesquisa de substâncias oxidáveis está relacionada com a presença de matéria orgânica, geralmente provenientes da agricultura, tais como pesticidas organoclorados, herbicidas e solventes halogenados. Possuem difícil degradação natural, sendo encontradas na água e no solo e, muitas vezes, não são removidos pelos sistemas convencionais de obtenção de água purificada. Porém, vale ressaltar que a presença de microrganismos em grande quantidade acusa a presença de matéria orgânica devido às substâncias excretas por eles. Além disso, o hábito de promover a sanitização do recipiente de armazenamento de água purificada com álcool a 70% sem sua adequada remoção (enxágue) também acusa a presença de matéria orgânica (Ferreira, 2002). O permanganato de potássio é usado como agente oxidante, geralmente em solução ácida a quente, ocorrendo redução do íon permanganato (cor violeta) para íon manganês (incolor) e pode, dessa forma, evidenciar a presença de matéria orgânica (Couto, 2006; Morita & Assumpção, 1972).

A presença de impurezas, como amônia, cloreto ou sulfato, deve-se à remoção inadequada dos sais dissolvidos, provenientes da água potável, pelos sistemas de purificação, ressaltando a necessidade de monitoração frequente quanto à limpeza, manutenção e troca de membranas ou resinas.

O pH da água purificada, quando armazenada, sofre alterações devido ao efeito do dióxido de carbono da atmosfera, que se dissolve na água. Segundo Harris (2001), a água pura, que deveria apresentar valor de pH de 7,0 a 25°C, não existe. A água purificada, na maioria das vezes, apresenta-se ácida devido ao dióxido de carbono da atmosfera, que, uma vez dissolvido, configura-se em um ácido carbônico ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$). Para resolver o problema, recomenda-se que a água seja fervida por cinco minutos e submetida a processo de refrigeração, o que a protege da reabsorção do dióxido de carbono da atmosfera (Harris, 2001; Macedo, 2000). Deve-se ressaltar que a influência do dióxido de carbono no pH da água purificada ocorre quando a mesma é armazenada por um determinado período de tempo, o que nos mostra a importância de ser utilizada dentro do período de seu prazo de validade (24 horas).

Considerando que a água é a principal matéria-prima utilizada no preparo de medicamentos e formulações cosméticas em farmácias magistrais, a mesma deve ser constantemente monitorada quanto às suas características físicas, químicas e microbiológicas. Muitos problemas relacionados à degradação da formulação ou a incompatibilidades podem ser decorrentes da presença de contaminantes que não foram removidos de maneira satisfatória pelos sistemas de tratamentos adotados pelas farmácias, tais como resíduos de cloreto, sulfato, metais pesados, dentre outros (Prista et al., 1996; Trevisan, 1991).

Além de realizar o controle de qualidade da água, a farmácia deve estar atenta aos cuidados relacionados à manutenção dos equipamentos, tais como procedimentos de limpeza e sanitização, troca periódica de filtros ou regeneração de resinas de troca iônica e até mesmo a

limpeza do recipiente de armazenamento da água purificada (Mierzwa, 2000). A literatura recomenda que o prazo de validade máximo para água purificada ser armazenada seja de 24 horas, não devendo ser utilizada após esse período devido ao risco de contaminação microbiológica do produto (Brasil, 2007; Carturan, 1998). É importante lembrar que a maioria dos métodos usuais de tratamento não fornece água livre de microrganismos, além do problema relacionado ao desenvolvimento dos biofilmes nas paredes dos recipientes de armazenamento, que não são removidos pelo simples contato com a substância sanitizante, necessitando de remoção mecânica (Geldreich, 1996). Conrado & Carneiro (2006) recomendam o uso de esponja doméstica e água corrente, explicitando o fato de que não se deve utilizar produtos de limpeza durante esse processo. Depois de lavado, o recipiente deve ser borrifado com solução sanitizante de hipoclorito de sódio a 0,5%, preparada um pouco antes do uso, assim como a torneira e a mangueira de entrada de água potável. Após a sanitização, a torneira deve ser montada e a mangueira encaixada no orifício de entrada de água para subseqüente produção de água purificada, até que $\frac{1}{4}$ da capacidade do barrilete esteja ocupada. A mangueira deve ser desencaixada e o enxágue com a água purificada deve ser realizado.

De acordo com o procedimento previamente descrito, a técnica utilizada no controle microbiológico foi a da membrana filtrante. A partir da contagem dessas colônias, calculou-se o número de microrganismos aeróbios totais presentes na amostra (Hodges, 2005; Pinto et al., 2003; USP, 2005).

Os meios de cultura Endo são meios seletivos, nos quais as bactérias do grupo coliforme fermentam a lactose formando um aldeído como produto intermediário, o qual se complexa com a fucsina básica e o sulfito de sódio presentes na composição desses meios conferindo às colônias dessas bactérias a coloração característica (vermelho escuro com brilho verde metálico) (AOAC, 1990; APHA, 1998; Atlas, 2004). A necessidade de confirmação dos coliformes termotolerantes recomenda que seja utilizado o caldo lactosado com verde brilhante e bile a 2% e o caldo EC. A presença dos sais biliares e do corante verde brilhante inibe as bactérias Gram-positivas ou esporuladas fermentadoras da lactose, permitindo um bom desenvolvimento de bactérias do grupo coliforme. Posteriormente, o meio EC permite a seleção dos coliformes de origem fecal (coliformes termotolerantes) através da incubação a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ (Macedo, 2000; Pinto et al., 2003; USP, 2008).

Apesar de os meios de cultura Endo serem os de escolha para a contagem e pesquisa de coliformes, atualmente existem meios de cultura que utilizam tecnologia do substrato definido (*Defined Substrate Technology*, DST) para detecção de coliformes totais e *E. coli* em água. A medida que os coliformes se reproduzem, eles vão utilizando a enzima β -galactosidase para metabolizar o indicador de nutriente ONPG (*o*-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo) e para alterá-lo de incolor para amarelo. A *E. coli* utiliza a enzima β -glicuronidase para metabolizar o MUG (4-metil-umbeliferil- β -D-glicuronídeo) e criar fluorescência. Já que a maioria dos coliformes não conta com essas enzimas, eles não podem se reproduzir e interferir na interpretação do teste. Os poucos coliformes que possuem essas enzimas são seletivamente suprimidos pela matriz especificamente

formulada do meio, diminuindo a incidência de resultados falso-positivos e falso-negativos (Cetesb, 2005; Forsythe, 2002; Franco et al., 2005). É o caso do meio EC + MUG e dos testes rápidos Colilert® e Colisure®, amplamente utilizados em análises que requerem resultados rápidos.

A literatura abrange diversas publicações relacionadas aos cuidados referentes à obtenção da água purificada, como limpeza e desinfecção de destiladores, deionizadores e sistemas de osmose reversa. Dessa forma, existe grande necessidade de maior controle em relação à manutenção dos componentes dos sistemas de purificação e cuidados no armazenamento, com higiene e assepsia dos recipientes, uma vez que a presença de contaminantes na água pode causar a degradação da formulação, principalmente a perda da estabilidade física e química de géis e cremes de natureza iônica, viscosidade de xampus, complexação com princípios ativos até a inativação do sistema conservante utilizado ou complexação com os princípios ativos, o que poderá acarretar a ineficácia terapêutica e aumentar o risco à saúde do usuário.

O presente trabalho teve como objetivo verificar alguns parâmetros de qualidade de água purificada obtida de farmácias magistrais da região de São José do Rio Preto, SP, a fim de ressaltar a importância da realização do controle de qualidade físico-químico e microbiológico exigido pela Resolução RDC n.67 de 8 de outubro de 2007 (Brasil, 2007), a fim de garantir a segurança e eficácia das formulações farmacêuticas e cosméticas desenvolvidas. Os resultados indicaram alguns parâmetros de não conformidade, principalmente na determinação do pH e da condutividade, nas pesquisas de impurezas inorgânicas e substâncias oxidáveis e na análise microbiológica, ressaltando a necessidade de maior rigor na produção e qualidade da água purificada produzida nesses estabelecimentos farmacêuticos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Brasília), à CAPES (Brasília, DF), à FAPESP (São Paulo, SP) e ao PADC-FCF-UNESP (Araraquara, SP) pelo apoio financeiro.

ABSTRACT

Quality assessment of purified water used in pharmacies in São José do Rio Preto, SP

Water is the raw material used most in the production of diverse pharmaceutical forms and, being a constituent of the formulation itself, is subject to a number of physico-chemical and microbiological specifications. In addition, it is indispensable for laboratory tests and the cleaning of equipment and apparatus. The aim of this study was to ascertain the degree of physicochemical and microbiological contamination of purified water used in compounding pharmacies in the city of São José do Rio Preto, SP, Brazil. Samples were taken as recommended in the USP Pharmacopeia, with careful aseptic technique, and sent immediately to the quality control laboratory. Physicochemical

properties were analyzed, including appearance, pH, conductivity, residue after evaporation, ammonia, calcium, chloride, heavy metals, sulfate and oxidizable substances, and microbiological tests were performed: total aerobic microbial count and detection of total and thermotolerant coliforms and *Pseudomonas aeruginosa*. Results showed that some parameters did not conform to the standards, especially pH, conductivity, inorganic impurities, oxidizable substances and microbiological test data, in 10%, 17%, 10%, 14% and 20% of the analyzed samples, respectively. This points to the need for greater care in the production and/or storage of purified water in these pharmaceutical establishments.

Keywords: Purified water. Quality control. Impurity tests. Microbiological tests. Pharmacies.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

Alencar JRB, Rolim Neto PJ. Água para indústria farmacêutica: um processo alternativo. Rev Bras Farm. 2000; 81(3/4):84-6.

Ansel HC, Popovic NG, Allen LV. Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. São Paulo: Editorial Premier; 2000. 775p.

AOAC-Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of analysis. 15th ed. Arlington; 1990. pp. 11.1-11.31, 17.1-17.122.

APHA-American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed., Washington; 1998. p. 9.1-9.140.

Atlas RM. Handbook of microbiological media. 3rd ed. Florida: CRC Press; 2004. 1946p.

Billan M. Soluções. In: Aulton ME. Delineamento de formas farmacêuticas. 2^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. p.319-23

Brasil. Resolução RDC n. 17 de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União, 19 abr 2010.

Brasil. Resolução RDC n. 67 de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. Diário Oficial da União, 20 ago 2007.

British Pharmacopoeia. London: The Stationary Office; 2003. p. 1941-43, 2371-72.

Bruno RL, Lorenz MR. Sistema para água purificada USP a temperatura ambiente e sanitização por ozônio. Pharm Technol. 1999; 4:24-29.

Carturan GF. Controle microbiológico na indústria de cosméticos. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia; 1998. 67p.

- Cetesb. Desinfecção de águas. São Paulo: Cetesb; 1974. 210p.
- Cetesb. Controle e garantia da qualidade nas análises microbiológicas de águas para consumo humano. São Paulo: Série Relatórios; 2005. 55p.
- Conrado MFL, Cordeiro PPM. Gestão farmacotécnica magistral. Balneário Camboriú; 2006. 646p.
- Couto RM. A análise de TOC na indústria farmacêutica. *Fármacos e Medicamentos* 2006; 5:52-4.
- European Pharmacopoeia. 5th ed. Strasbourg: Council of Europe; 2005. p. 2692-98.
- Farmacopéia Brasileira. 4^a ed. São Paulo: Atheneu; 1988. Fascículo 2005. Parte 1. p. v.5.1.6. Parte 2. p. 263.
- Farmacopéia Portuguesa. 8^a ed. Lisboa: Infarmed; 2005. p. 1140-48.
- Ferreira AO. Guia prático da farmácia magistral. 2^a ed. Juiz de Fora; 2002. p. 260-61.
- Forsythe SJ. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed; 2002. 424p.
- Franco BDGM, Landgraf M, Destro MT. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu; 2005. 196p.
- Geldreich EE. Microbial quality of water supply in distribution systems. New York: CRC Press; 1996. 504p.
- Hanlon G, Hodges N. A ação de agentes físicos e químicos nos microrganismos. In: Aulton ME. Delineamento de formas farmacêuticas. 2^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. p.644-658.
- Harris DC. Análise química quantitativa. 5^a ed. Rio de Janeiro: LTC Editora; 2001. 862p.
- Hodges N. Aplicações farmacêuticas de técnicas microbiológicas. In: Aulton ME. Delineamento de formas farmacêuticas. 2^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. p.625-643.
- Hypólito R, Andrade S, Ezaki S, Marques JF, Nascimento SC. Método para amostragem e detecção de íons em águas da zona não saturada. *Analytica* 2009; 38:85-92.
- Ligiéro SD, Batalha AA, Martins JM, Moreno SRC. Os resultados analíticos do projeto de reuso da água na indústria farmacêutica Schering-Plough. *Fármacos e Medicamentos* 2005; 32:42-52.
- Macedo JAB. Biofilmes bacterianos: uma preocupação da indústria farmacêutica. *Fármacos e Medicamentos* 2000; 17:19-24.
- Mierzwa JC. Tratamento da água na manipulação magistral. *Racine* 2000; 57:48-62.
- Morita T, Assumpção RMV. Manual de soluções, reagentes e solventes. São Paulo: Edgard Blucher; 1972. 629p.
- Muradian Filho J. Água: fator crítico para os resultados de seu laboratório. *Meio Filtrante* 2006; 4:18-21.
- Nairn JG. Soluções, emulsões, suspensões e extratos. In: Gennaro AR, Editor. Remington: a ciência e a prática da farmácia. 20^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p.745-57.
- Parker M. Contaminação microbiológica e conservação de produtos farmacêuticos. In: Aulton ME. Delineamento de formas farmacêuticas. 2^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. p.659-668.
- Per Horn EA. A água na farmácia com manipulação. *Racine* 2002; 67:56-60.
- Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2^a ed. São Paulo: Atheneu; 2003. 325p.
- Prista LN, Alves AC, Morgado RMP. Tecnologia Farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 1996. 1450p.
- Sanchez OS. Análises microbiológicas da água. In: Curso XIV Jornada Farmacêutica de Ribeirão Preto, USP, 1994. 85p.
- Sariego JC. Educação ambiental: as ameaças do planeta azul. São Paulo: Scipione; 1994. 208p.
- Thompson JE. A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos. Porto Alegre: Artmed; 2006. 576p.
- Trevisan CA. Impurezas da água e seus efeitos. *Cosmetics & Toiletries* 1991; 3:19-21.
- USP Pharmacists' Pharmacopeia. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2005. p. 509-19.
- USP. The United States Pharmacopeia. 31st ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2008. p. 3523-25.
- Vasconcelos Y. A purificação das águas. *Pesquisa Fapesp* 2002; 5:65-9.
- Veolia E. Sistemas de purificação de água: como fazer a melhor escolha. *Analytica* 2009; 38:20-3.
- Ying GG, Koobana R, Waite TD. Australian water conservation and reuse research program. Melbourne: AWA; 2004. 33p.

