



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE  
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE  
CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA

WALDINÉA COSME DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CONSERVANTE EM GEL DE BABOSA  
PARA A FARMÁCIA ESCOLA MANOEL CASADO DE ALMEIDA**

CUITÉ – PB

2019

WALDINÉA COSME DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CONSERVANTE EM GEL DE BABOSA PARA A  
FARMÁCIA ESCOLA MANOEL CASADO DE ALMEIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – *Campus* Cuité, como requisito indispensável para a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>Júlia Beatriz Pereira de Souza

CUITÉ-PB

2019

O48a

Oliveira, Waldinéa Cosme de.

Avaliação da eficácia conservante em gel de babosa para a Farmácia Escola Manoel Casado de Almeida / Waldinéa Cosme de Oliveira. – Cuité, 2019.

43 f.: il. color.

Monografia (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2019.

"Orientação: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Júlia Beatriz Pereira de Souza".

Referências.

1. Microorganismos. 2. Conservante. 3. Qualidade Microbiológica. I. Souza, Júlia Beatriz Pereira de. II. Título.

CDU 616.98(043)

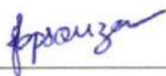
WALDINÉA COSME DE OLIVEIRA

**AValiação da Eficácia Conservante em Gel de Babosa para a  
Farmácia Escola Manoel Casado de Almeida**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – *Campus Cuité*, como requisito indispensável para a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 12 de junho de 2019.

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof.ª Dr.ª Júlia Beatriz Pereira de Souza  
Orientadora - UFCG



---

Prof.ª Dr.ª Maria Emília da Silva Menezes  
Membro examinador - UFCG  
Suplente: José Alixandre de Souza Luiz



---

Prof. Dr. Egberto Santos Carmo  
Membro examinador - UFCG  
Suplente: Igara de Oliveira Lima

*Dedico este trabalho ao meu pai José de Oliveira (in memoriam) e a minha mãe Salete de Oliveira que sempre acreditaram em mim, e por todo amor.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço imensamente a Deus por não ter me desamparado em nenhum momento, pois houve dias difíceis que sempre foram aliviados com o a vossa força e todo cuidado proporcionando assim a realização desse sonho, é a energia que nos movem para o caminho do bem e da verdade.

Ao meu pai, José de Oliveira (in memoriam) que me ensinou sempre os verdadeiros valores e princípios da vida, jamais mediu esforço para me mostrar a importância do conhecimento e do bem, e principalmente por acreditar em mim. A minha mãe, Salete de Oliveira por ser um exemplo de força e coragem. Por toda ajuda dada em todos os momentos e pela presença diária, mesmo em pensamentos e orações. A vocês todo o meu amor e gratidão.

A meus irmãos e sobrinhos por todo o amor que me faz forte diante de qualquer situação.

A Lailson Almeida que esteve comigo praticamente durante todo o curso, me ajudando a superar inúmeras dificuldades e me proporcionando alegria, amor e tranquilidade.

A minha orientadora Profa. Dra. Júlia Souza por fazer parte deste trabalho, pela disposição em me ajudar, por todas as correções feitas e pela grande profissional que é.

Agradeço aos membros da banca examinadora, pela correção e disponibilidade.

Aos Mestres pelo aprendizado compartilhado.

*“Muito, muito grande é o poder que existe  
Nas ervas, plantas, pedras e suas reais virtudes:  
Pois nenhum ser que na Terra viva é tão vil  
Que à Terra um dom especial não dê  
Dentro da casca nascente dessa flor frágil,  
O veneno tem moradia e o remédio, força”.*

***Shakespeare.***

## RESUMO

OLIVEIRA, WALDINEA. COSME. **AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CONSERVANTE EM GEL DE BABOSA PARA A FARMÁCIA ESCOLA MANOEL CASADO DE ALMEIDA**. 2019. 43f. Monografia, Graduação em Farmácia – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – PB, 2019.

A contaminação microbiana de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos pode ser de várias origens, por isso atualmente tem sido tratada de maneira científica mais cuidadosa, devido às preocupações relativas não apenas aos aspectos microbiológicos, mas também devido ao potencial de irritação e toxicidade. A qualidade microbiológica de produtos constitui um dos atributos essenciais para o seu desempenho adequado, principalmente em relação à segurança, eficácia e aceitabilidade. Os géis são sistemas semissólidos que consistem em dispersões de pequenas ou grandes moléculas em veículo líquido que representam um meio propício ao crescimento de micro-organismos, como consequência disto a inclusão de conservantes na formulação é um fator essencial para garantir a qualidade e a estabilidade microbiológica das preparações, impedindo a proliferação microbiana. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar o teste de eficácia do sistema conservante utilizado no gel de babosa manipulado na Farmácia Escola Manuel Casado de Almeida, pertencente ao Centro de Educação e Saúde da UFCG, localizado no município de Cuité-PB. Foi realizado o teste de desafio, o qual consiste na contaminação proposital dos produtos acabados com inóculos padronizados de cada um dos micro-organismos: *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Candida albicans* e *Aspergillus niger*, seguido de determinação do número de micro-organismos viáveis pelo método de semeadura em profundidade em nos tempos 0, 14 e 28 dias nas formulações com e sem conservante. Com base nos critérios preconizados pela Farmacopeia Brasileira V os resultados obtidos mostraram que o sistema conservante foi eficaz apenas contra os micro-organismos *C. albicans* e *A. niger*. Assim, sugere-se novos estudos para a melhor combinação conservantes e sua concentração ideal.

**Palavras-chave:** Micro-organismos; Conservante; Qualidade microbiológica.



## ABSTRACT

OLIVEIRA, WALDINEA. COSME. **PRESERVATIVE EFFECTIVENESS EVALUATION IN ALOE GEL MANOEL CASADO DE ALMEIDA PHARMACY SCHOOL**. 2019. 43 f. Monografia, Graduação em Farmácia – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – PB, 2019.

Microbial contamination of pharmaceuticals, cosmetics and herbal products can be of various origins, so it has now been treated in a more careful scientific way, due to concerns regarding not only the microbiological aspects, but also the potential for irritation and toxicity. The microbiological quality of products is one of the essential attributes for their adequate performance, especially in relation to safety, efficacy and acceptability. Gels are semisolid systems which consist of dispersions of small or large molecules in liquid carrier which represent a medium conducive to the growth of microorganisms, as a consequence of which the inclusion of preservatives in the formulation is an essential factor to guarantee the quality and the microbiological stability of the preparations, preventing microbial proliferation. Thus, the objective of this work was to perform the efficacy test of the preservative system used in the slug gel manipulated at the Manuel Casado de Almeida School Pharmacy, belonging to the Education and Health Center of the UFCG, located in the municipality of Cuité-PB. The challenge test was performed, which consists of the deliberate contamination of finished products with standardized inoculums of each of the micro-organisms: *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Candida albicans* and *Aspergillus niger*, followed by determination of the number of viable microorganisms by the pour plate method in the times 0, 14 and 28 in formulations with and without preservative. In view of the criteria recommended by the Brazilian Pharmacopoeia V the results obtained showed that the preservative system was effective only against the microorganisms *C. albicans* and *A. niger*. Thus, new studies are suggested for the best combination preservatives and their optimal concentration.

**Keywords:** Microorganisms; Preservative; Microbiological quality.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1 – <i>Aloe vera</i> .....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 2 – Esquema representativo do procedimento de padronização da amostra .....</b>	<b>27</b>
<b>Figura 3 – Esquema representativo do procedimento de contaminação das amostras ...</b>	<b>27</b>
<b>Figura 4 – Esquema representativo do procedimento de contagem de micro-organismos viáveis.....</b>	<b>28</b>
<b>Figura 5 – Representação visual das placas de crescimento para contagem microbiana nas formulações de gel com e sem conservante.....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 6 – Representação visual da inibição fúngica nas formulações de gel com e sem conservante.....</b>	<b>32</b>
<b>Figura 7 – Representação visual do crescimento bacteriano nas formulações de gel com e sem conservante. ....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 8 – Perfil das curvas de contagem em Log UFC/g dos biomarcadores para a avaliação da eficácia conservante em gel de babosa manipulado na Farmácia Escola Manoel Casado de Almeida (UFCG, campus Cuité-PB). ....</b>	<b>34</b>

## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1 – Contagem de micro-organismos viáveis (UFC/g) no teste de eficácia de conservantes. ....</b>	<b>31</b>
<b>Tabela 2 – Número de sobreviventes em logaritmo base 10 (Log UFC/g) no teste de eficácia de conservantes. ....</b>	<b>32</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% – Porcentagem

°C– Graus Celsius

µm– micrometro

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub> – Metilparabeno

g – Grama

g.mol<sup>-1</sup> – Massa molar

min – Minutos

mL – Mililitro

Nm – Nanómetro

PB – Paraíba

pH – Potencial hidrogeniônico

RDC –Resolução da Diretoria Colegiada

spp. –Quantidade Suficiente Para

T – Dias

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1 Objetivos geral</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>14</b>
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEORICA</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1 Plantas medicinais</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2 <i>Aloe vera</i></b> .....	<b>16</b>
<b>3.3 Composição química</b> .....	<b>17</b>
<b>3.4 Gel</b> .....	<b>17</b>
<b>3.5 Controle de Qualidade</b> .....	<b>18</b>
<b>3.6 Controle de Qualidade Microbiológico</b> .....	<b>19</b>
<b>3.7. Conservantes</b> .....	<b>20</b>
<b>3.8 Teste de eficácia do sistema conservante (Teste do desafio)</b> .....	<b>22</b>
3.8.1 Micro-organismos teste .....	<b>23</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
<b>4.1 Material</b> .....	<b>25</b>
4.1.1 Amostras.....	<b>25</b>
4.1.2 Micro-organismos teste .....	<b>25</b>
4.1.3 Substâncias e meios de cultura .....	<b>25</b>
4.1.4 Equipamentos e acessórios .....	<b>25</b>
4.1.5 Vidrarias .....	<b>26</b>
<b>4.2 Métodos</b> .....	<b>26</b>
4.2.1 Preparo de meios de cultura.....	<b>26</b>
4.2.2 Preparo de culturas estoques.....	<b>26</b>
4.2.3 Padronização do inóculo.....	<b>26</b>
4.2.4 Contaminação da amostra.....	<b>27</b>
4.2.5 Contagem dos micro-organismos viáveis.....	<b>28</b>
4.2.6 Preparo da amostra .....	<b>28</b>
4.2.7 Interpretação dos resultados .....	<b>29</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>30</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da existência humana, tem-se encontrado nas plantas diversas utilidades, resultantes de uma série de influências culturais como a dos colonizadores europeus, indígenas e africanos. O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais de todo mundo, mantém em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas as informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (MACEDO; OSHIWA; GUARIDO, 2009).

O uso medicamentoso das plantas é muito frequente entre a população mais pobre, sendo cultivadas e até comercializadas, o que contribui com a divulgação do seu efeito de acordo com o uso popular, despertando o interesse de estudos sobre uma determinada espécie, aliando o conhecimento popular a medicina (MACIEL et al., 2002).

Dentre as plantas medicinais utilizadas pela população brasileira, encontra-se a *Aloe vera*, popularmente conhecida como babosa, pertencente à família das Liliáceas. A planta é nativa do norte da África, onde habitam desertos e estepes africanas e adotam a forma de cacto. Ela precisa de luz solar direta e de um solo bem drenado. Como é uma planta originária de regiões desérticas, ela consegue sobreviver bem em habitats hostis, por isso se adaptou bem a diversas outras regiões do mundo, especialmente ao Cerrado brasileiro (PARENTE et al., 2013).

A atividade cicatrizante do *Aloe vera* é explicada por várias teorias estima-se que ela possua cerca de duzentas moléculas biologicamente ativas que atuam sinergicamente sobre os fibroblastos durante a formação de um novo epitélio. Sua ação cicatrizante é explicada pela presença do tanino que favorece a granulação e contração da ferida com mais eficiência (SOUSA et al., 2013).

A *Aloe vera* pode ser utilizada como matéria prima pela indústria farmacêutica, cosmética e farmácias de manipulação, sendo encontrada na forma de extrato glicólico ou liofilizado (GOMES, 2018).

A qualidade microbiológica constitui um dos parâmetros essenciais para a segurança, eficácia e aceitabilidade dos produtos farmacêuticos, constituindo fatores fundamentais para a recuperação e preservação da saúde.

O uso adequado de conservantes, visa manter o produto dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pelos compêndios oficiais, durante o período de produção e na fase de utilização pelo consumidor (RAMOS, 2010). Desta forma, os conservantes devem ser avaliados nos medicamentos quanto a sua propriedade antimicrobiana e sua adequação à formulação farmacêutica, visto que são tóxicos e como tal devem ser utilizados em concentração limitada (CHARNOK; FINSRUD, 2007; LUNDOV et al., 2009).

Visto que os géis representam um meio propício ao crescimento de microorganismos, marcado pela presença de água e considerando a incorporação de um extrato vegetal de *Aloe vera*, com o intuito de garantir a qualidade microbiológica durante o tempo de vida útil, garantindo ao usuário qualidade, confiabilidade e segurança durante a utilização, propôs-se a avaliação da eficiência do conservante utilizado no gel de babosa para manipulação na Farmácia Escola Manuel Casado de Almeida, pertencente ao Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), localizado no município de Cuité-PB.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos geral**

- Verificar a eficácia do sistema conservante empregado no gel de babosa manipulado pela Farmácia Escola Manuel Casado de Almeida, do Centro de Educação e Saúde da UFCG, no município de Cuité-PB.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Realizar a contagem de micro-organismos viáveis no gel de babosa com e sem conservante, após adição dos inóculos e;
- observar o comportamento microbiano frente ao sistema conservante e;
- avaliar a eficácia do sistema conservante, por meio do teste do desafio.



### **3 FUNDAMENTAÇÃO TEORICA**

#### **3.1 Plantas medicinais**

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MONTES et al., 2012).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem. Dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantém em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos. De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural, a flora mundial (MACIEL et al., 2002).

Com o desenvolvimento da ciência e da tecnologia as plantas medicinais estão tendo seu valor terapêutico pesquisado e ratificado pela ciência e vem crescendo sua utilização recomendada por profissionais de saúde. A necessidade exige e a ciência busca a unificação do progresso com aquilo que a natureza oferece, respeitando a cultura do povo em torno do uso de produtos ou ervas medicinais para curar os males (ACCORSI, 2000).

A partir do conhecimento e uso popular, foram descobertos alguns medicamentos utilizados na medicina tradicional. O aproveitamento adequado dos princípios ativos de uma planta exige o preparo correto, ou seja, para cada parte a ser usada, um grupo de princípio ativo a ser extraído ou doença a ser tratada, existe forma de preparo e uso mais adequados. Os efeitos colaterais são poucos na utilização dos fitoterápicos, desde que utilizados na dosagem correta. A maioria dos efeitos colaterais conhecidos, registrados para plantas medicinais, são extrínsecos à preparação e estão relacionados a diversos problemas de processamento, tais como identificação incorreta das plantas, necessidade de padronização, prática deficiente de processamento,

contaminação, substituição e adulteração de plantas, preparação ou dosagem incorreta (ARNOUS; SANTOS; BEINNER, 2005).

A busca por novos medicamentos tem levado ao desenvolvimento de novos fármacos que sejam eficientes e possuam baixo potencial de toxicidade. Uma das fronteiras nessas pesquisas são os medicamentos fitoterápicos. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulariza essas pesquisas e padroniza os procedimentos. Os efeitos tóxicos causados pelas plantas podem ser produzidos pelos seus próprios componentes ou pela presença de contaminantes e/ou adulterantes nas preparações fitoterápicas. Observa-se que poucos são os centros capazes de realizar com total controle as normas regidas pela ANVISA e, por isso, ensaios pré-clínicos são necessários e fundamentais na elaboração dos medicamentos fitoterápicos (BETTEGA et al., 2011).

### 3.2 *Aloe vera*

A *Aloe vera* pertence à família Xanthorrhoeaceae e ao gênero *Aloe* que inclui mais de 500 espécies. Trata-se de uma xerófita, cujas folhas são verdes, grossas, dispostas de forma alternada simples, alongadas, acuminadas, com bordas envoltas de fortes dentes espinhosos e suculentas e medem de 30 a 60 centímetros de comprimento. Suas flores são vistosas, apresentam tonalidade branco-amarelada, em formato tubular (Figura 1) (FREITAS; RODRIGUES; GASPI, 2014).

Figura 1 – *Aloe vera*



Fonte: Arquivos da Pesquisa, 2019.

*Aloe vera* também é conhecida como *Aloe barbadensis* Miller (Liliaceae) ou popularmente como babosa. É utilizada há muito tempo como alternativa terapêutica tradicional. A babosa tem sido usada como plantas medicinais de uso interno e externo. Pelo seu uso já consagrado desde os antigos egípcios, sendo crescente seu emprego em cosmética e em queimaduras, a demanda por estas plantas tem incrementado o seu cultivo, portanto é indicado o emprego da *Aloe vera* por ter uma forte ação cicatrizante com maior produção e demanda no mercado (LEISLE, 2015).

A *Aloe vera* tem seu uso popular difundido, sendo o gel amplamente empregado no tratamento tópico das queimaduras. Estudos recentes têm demonstrado o potencial e a eficácia na cicatrização de lesões desta natureza (COLET et al., 2015; HOSSEINIMEHR et al., 2010; RAMOS; PIMENTEL, 2011). Segundo Hosseinimehr et al. (2010) a *A. vera* tem efeitos antimicrobianos e anti-inflamatórios. Além disso, de acordo com Ramos e Pimentel (2011), o uso tópico da *Aloe vera* desempenha o papel de fornecer maior oxigenação ao tecido, aumentando a vascularização e a quantidade de colágeno na remodelagem do tecido cicatricial.

Foram registradas atividades cicatrizante, antibacteriana, antifúngica e antivirótica devido à presença de antraquinonas como aloenina, barbaloina e isobarbaloina, em sua composição química (DAVALO et al., 2014).

### **3.3 Composição química**

A mucilagem de *Aloe vera* é majoritariamente composta por água, com aproximadamente 99,5%. Entretanto, muitas outras substâncias já foram identificadas, das quais cita-se: uma combinação de polissacarídeos e derivados acetilados de polissacarídeos, glicoproteínas, antraquinonas, flavonoides, taninos, esteróide, aminoácidos, enzimas, saponinas, proteínas, vitaminas e minerais como ferro, potássio, manganês e sódio (DIAS et al., 2016).

### **3.4 Gel**

Os géis são sistemas semissólidos que consistem em dispersões de pequenas ou grandes moléculas em veículo líquido que adquire consistência semelhante a geleias pela adição de um agente gelificante. Além de vários benefícios observados na forma farmacêutica gel, a formulação apresenta menor grau de intoxicação com possibilidade de aplicação em diversos locais (CORDEIRO et al., 2013).

O gel mucilaginoso tem em sua composição muitos componentes potencialmente ativos como aminoácidos, açúcares, enzimas, vitaminas e minerais, os quais proporcionam propriedades importantes como penetração em tecidos, efeito anti-inflamatório, função imuno-reguladora e propriedades antimicrobianas (SEMENOFF et al., 2008).

### **3.5 Controle de Qualidade**

O controle de qualidade é um conjunto de operações (planejamento, coordenação e execução), com a finalidade verificar a conformidade dos atributos ou características do produto acabado ou em processo, matérias-primas e outros materiais, com especificações pré-estabelecidas, que devem estar sob o constante controle do farmacêutico. É realizado através de normas estabelecidas pela farmacopeia, para que os insumos estejam de acordo com as especificações, sempre assegurando que não devem apresentar aspecto ou odor anormal, descolorimento ou qualquer indício de deterioração, físico – química ou desacordo microbiológico (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2012).

Em farmácias magistrais é extremamente importante para produtos acabados e matérias-primas utilizadas no processo de produção, tendo como objetivo garantir a qualidade e segurança do produto final. Os produtos manipulados em farmácias magistrais são classificados como produtos não estéreis. Para essa classificação admite-se a presença de carga microbiana, cujo objetivo é a quantificação e análise das bactérias viáveis, comprovando ausência de micro-organismos patogênicos. A determinação dos micro-organismos patogênicos varia de acordo com a via de administração do produto (nasal, oral, tópico e via respiratória) (SILVA; SILVA, 2017).

As regras de controle de qualidade para estabelecimentos farmacêuticos foram implantadas há poucos anos no Brasil, através da RDC N° 67, DE 08 DE OUTUBRO DE 2007 pela ANVISA, estabelecendo que as farmácias de manipulação para se adequarem às normas precisam estabelecer testes de controle microbiológico e físico-químico, para suas matérias primas, bem como as bases farmacêuticas, e produtos acabados (SOARES, 2011).

### 3.6 Controle de Qualidade Microbiológico

A qualidade microbiológica de produtos constitui um dos atributos essenciais para o seu desempenho adequado, principalmente em relação à segurança, eficácia e aceitabilidade. Com isso, o controle de qualidade microbiológico é muito importante para a avaliação de pontos críticos de contaminação e estabelecer normas, a fim de se obter produtos de excelente qualidade, estabilidade e confiança. O controle de qualidade é definido pelo conjunto de procedimentos que assegura que os ensaios sejam executados e apenas liberados para uso depois de garantida a qualidade. Avaliando os desvios de qualidade com o sistema de Garantia da Qualidade, é possível promover ações de investigação das causas e adotar as medidas necessárias para sua correção (VIEIRA; MOREIRA; FRIZZO, 2017).

A qualidade microbiana é uma dentre as várias exigências relacionadas com os critérios de segurança a serem considerados com produtos viáveis, além de alterar propriedades do produto, pode constituir risco para a saúde do consumidor, principalmente em se tratando de micro-organismos patogênicos. A avaliação da qualidade microbiológica consiste na determinação da carga microbiana viável e na comprovação da ausência de micro-organismos específicos considerados de risco para o usuário (MEDEIROS et al., 2010).

O controle de qualidade microbiológico de produtos não estéreis, nos quais admite uma carga limitada de microrganismo, visa comprovar a ausência de micro-organismos patogênicos e determinar o número de micro-organismos viáveis. Visto que a elevada quantidade de micro-organismos pode comprometer a estabilidade do produto, alterar as características físico-químicas e assim inativar os princípios ativos e excipientes da formulação, podendo ocorrer desvio da eficácia terapêutica. Além disso, a administração de medicamentos ou produtos contaminados pode agravar ou causar doença em pacientes que muitas vezes já estão debilitados, mesmo os potencialmente patogênicos (LUCENA et al., 2014).

O controle de qualidade microbiológico é um dos critérios exigidos para garantir a segurança das formulações principalmente se tratando de micro-organismos patogênicos para que não ocorra a alteração do produto e diminuir assim os riscos aos seus consumidores. Essa avaliação da qualidade microbiológica é necessária para

determinar a carga microbiana aceitável e verificação de micro-organismos considerados de risco para o usuário (DA SILVA et al., 2014).

Os limites de contaminação microbiológica são estipulados pela Farmacopeia Brasileira, esses que são de até 100 UFC/mL para fungos e 300UFC/mL para bactérias (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

A análise microbiológica de preparações para uso tópico, amplamente elaboradas nas farmácias magistrais, visa assegurar o uso destes produtos. Uma formulação magistral pode veicular micro-organismos indesejáveis provenientes da água empregada, de outras matérias-primas presentes na mesma, dos manipuladores, do ambiente, da embalagem, dentre outros (ANDRADE; LOPES, 2015).

### **3.7. Conservantes**

Conservantes são substâncias adicionadas a produtos farmacêuticos e cosméticos para prevenir ou retardar a deterioração microbiana. Eles são um importante meio de limitar o crescimento microbiano em vários tipos de produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentos, como também em outras áreas especializadas. Conservantes antimicrobianos são usados para reduzir probabilidade crescimento microbiano em produtos aquosos e para reduzir a chance de sobrevivência microbiana em produtos anidros que podem ser contaminados ou umedecidos durante seu uso. Agências reguladoras governamentais indicam o uso de conservantes em todas as formulações farmacêuticas multidoso (PEREIRA, 2011).

A adição dos conservantes às preparações farmacêuticas tem como objetivo estabilizar ou inibir o crescimento de micro-organismos 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 (SOUZA et al., 2017). Segundo Prista, Alvez e Morgado (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 autoclavagem 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 e;
- Inativação: deverá ser capaz de neutralizar ou atenuar facilmente a sua ação antimicrobiana, quando da necessidade de ensaio de esterilidade.

A presença de contaminantes microbianos pode resultar em alterações físico-químicas do produto, comprometendo sua estabilidade. Estas alterações ainda que não afetassem o teor do princípio ativo, podem se manifestar pela mudança de cor, aparecimento de odor desagradável e mudanças nos valores de pH. Portanto, mesmo em produtos não estéreis há necessidade de se estabelecer padrões quali e quantitativos de micro-organismos presentes na amostra, a fim de assegurar a estabilidade do produto durante o prazo de validade, de modo a garantir inocuidade e eficácia terapêutica ao paciente (VACONCELOS; MEDEIROS; NASCIMENTO, 2016).

Dentre os conservantes mais utilizados em formulações farmacêuticas e cosméticas, destacam-se os parabenos. Metil-, etil-, propil-, butil- e benzilparabenos são os ésteres de alquil de ácido para-hidroxibenzóico amplamente utilizados como conservantes antimicrobianos em cosméticos, fármacos, alimentos e bebidas. (CRINNION, 2010). Estes compostos apresentam alta estabilidade química, alta solubilidade, não são voláteis, apresentam baixo custo de produção e não alteram as características dos produtos (BLEDZKA; GROMADZINSKA; WASOWICZ, 2014). Segundo Pouillot et al. (2006) estes compostos estão presentes em mais de 80% dos produtos de cuidados pessoais. Apesar de serem mais ativos contra fungos, os hidroxibenzoatos contêm propriedades antibacterianas principalmente contra bactérias gram-positivas, apresentando assim um amplo espectro de ação; além de serem incolores, inodoros e insípidos (CRINNION, 2010; SONI et al., 2002).

Também conhecido como 4-hidroxibenzoato de metila ou Nipagin, o metilparabeno é um de uma série homóloga de parabenos, utilizado isoladamente ou em combinação dependendo do efeito antimicrobiano desejado. Possui fórmula  $C_8H_8O_3$ , peso molecular igual a 152,15 g.mol<sup>-1</sup> e é uma substância sólida nas condições ambientes

- temperatura de fusão igual a 131°C (MINCEA et al., 2009; SONI et al., 2002). Apresenta um amplo espectro de ação antimicrobiana, sendo efetivo contra bactérias tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas, leveduras e fungos, além disso, apresenta baixa toxicidade. O metilparabeno possui uma boa solubilidade em etanol, propilenoglicol, mas é pouco solúvel em água. Sua solubilidade em água aumenta gradativamente com o aumento da temperatura. Por isso, geralmente é incorporado nas formulações aquosas na temperatura entre 60 e 100°C (GOTTSCHALCK; MCEWEN, 2004).

### **3.8 Teste de eficácia do sistema conservante (Teste do desafio)**

O Teste de Desafio do Sistema conservante é um teste padronizado que consiste na contaminação proposital dos produtos acabados com inóculos de cada um dos microorganismos: *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Candida albicans* e/ou *Aspergillus niger*, determinando a carga sobrevivente em intervalos de tempo avaliados em contagens de células que são realizadas em amostras retiradas após 7,14,21 e 28 dias. Esse teste tem como objetivo avaliar se a formulação fica segura e inalterada, frente a uma alta carga microbiana (por certo período de tempo), conseqüentemente nos permite verificar se o conservante está realizando a sua função de forma correta e eficaz. Através desse teste é possível determinar a validade estimada dos produtos finais (LAIATE; ROSSI, 2013).

A avaliação do sistema conservante dos medicamentos é importante para determinar a segurança dos produtos de multiuso. Esse teste é utilizado para determinar o tipo de sistema conservante a ser utilizado e a concentração certa para cada tipo de produto, pois em uma concentração baixa pode resultar em crescimento microbiano o que irá alterar características do produto, tais como, cor, odor, viscosidade, tornando o uso do produto inadequado. Se a quantidade for elevada o conservante pode causar efeitos tóxicos, como irritação na pele levando a insatisfação do consumidor. E se o uso do conservante for usado de forma demasiada o custo do produto aumentará tendo assim que repassar para o consumidor (RIBEIRO, 2012).

O teste para avaliação de sistemas conservantes é considerado essencial para a segurança de produtos farmacêuticos. Este método tem como objetivo a determinação do conservante mais adequado para a formulação farmacêutica e a manutenção da estabilidade microbiológica, durante o tempo de vida útil, bem como durante a utilização do medicamento pelo consumidor (RAMOS, 2010).



### 3.8.1 Micro-organismos teste

Os marcadores microbiológicos exigidos para o teste de eficácia de conservantes descrito pela Farmacopéia Brasileira (2010), são as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e os fungos *Candida albicans* e *Aspergillus niger*.

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são sensíveis à temperatura alta, bem como à desinfetantes e soluções antissépticas, no entanto, os micro-organismos podem sobreviver em superfícies secas durante longos períodos de tempo. *S. aureus* é uma das espécies bacterianas mais comuns, e é a mais virulenta do seu gênero. A disseminação endógena desta bactéria é a mais corriqueira, sendo responsável por muitas das infecções adquiridas no hospital, resultado da presença de estafilococos na pele e na nasofaringe de 15% dos indivíduos saudáveis. No entanto, a disseminação exógena pode acontecer onde as bactérias podem ser transferidas para uma pessoa vulnerável pelo contato direto ou através de fômites. Sendo assim, profissionais da saúde devem utilizar técnicas adequadas de lavagem das mãos para prevenir a transmissão deste microrganismo aos pacientes ou entre os próprios pacientes (LIMA et al., 2018).

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria esférica, do grupo dos cocos Gram-positivos, frequentemente encontrada na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis. *Staphylococcus* são cocos Gram e catalase-positivos, com aproximadamente 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, imóveis, não-esporulados e geralmente não-encapsulados. Essa bactéria pode apresentar-se em diversas formas, que vão desde isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente, com aspecto semelhante a um cacho de uvas (DOS SANTOS, 2007).

*Pseudomonasa eruginosa* é uma bactéria Gram negativa aeróbica, não fermentadora, que se apresenta sob a forma de bastonetes isolados ou aos pares, movidos por flagelos polares (MATA; ABEGG, 2013).

*Escherichia coli* é um membro da família Entero bacteriaceae, sendo um bacilo Gram negativo, anaeróbico facultativo, crescendo a uma temperatura de 37 °C. De modo geral a *E. coli* se apresenta como um bastonete delgado, pequeno ou comprido (1,1-1,5µm x 2,6- 6,0µm), aos pares, isolados ou formando cadeias (ALVES, 2012).

*Candida albicans* é o patógeno fúngico mais comum em humanos, e é frequentemente encontrado nas superfícies mucosas do corpo (MOYES; RICHARDSON; NAGLIK, 2015). *C. albicans* se apresenta nas formas de levedura, pseudo-hifa e hifa verdadeira, sendo que no hospedeiro, podemos encontrar tanto a

forma filamentosa, quanto a forma de levedura (THOMPSON; CARLISLE; KADOSH, 2011). Isso ocorre porque *C. albicans* não possui ciclo de vida terrestre (GOW et al., 2011). Sendo assim, o fungo utiliza diversas estratégias para se instalar num hospedeiro, como a alteração sua morfologia celular de acordo com as condições ambientais encontradas. Essas estratégias caracterizam os fatores de virulência do fungo (THOMPSON; CARLISLE; KADOSH, 2011). Para que ocorra uma alteração na morfologia alguns fatores ambientais como a variação de temperatura e pH, além da presença de soro, concentração de CO<sub>2</sub> e de N-acetilglicosamina.(SUDBERY; GOW; BERMAN, 2004).

*Aspergillus niger* é um fungo filamentoso, sendo considerado um dos mais comuns dos fungos filamentosos, como também um dos mais bem estudados. Possui ampla distribuição, estando presente na superfície, no ar e na água, tanto em organismos vivos, além de estarem associadas com a deterioração de materiais vegetais e alimentos, principalmente em regiões de clima tropical e sub-tropical (ROCHA, 2010).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

#### 4.1.1 Amostras

- Gel de babosa manipulado na Farmácia Escola Manuel Casado de Almeida

#### 4.1.2 Micro-organismos teste

- *Escherichia coli*;
- *Pseudomonas aeruginosas*;
- *Staphylococcus aureus*;
- *Aspergillus niger*;
- *Candida albicans*.

#### 4.1.3 Substâncias e meios de cultura

- Ágar Caseína – soja;
- Ágar Sabouraud-dextrose;

#### 4.1.4 Equipamentos e acessórios

- Balança analítica Marte, mod AY220;
- Balança semi-analítica, Bel Engineering, Mark®;
- Espectrofotômetro Viável Digital Microprocessado, Quimis ®;
- Estufa de secagem e esterilização, Biopar ®;
- Estufa Bacteriológica, Qualxtron ®;
- Autoclave Vertical, Phoenix®;
- Pipetas automáticas, Digipet®;
- Contador digital;
- Bico de Bunsen;
- Banho-maria Termostático, Hydrasan®;
- Ponteiras;
- Alça platinada;
- Pissetas com álcool a 70%.

#### 4.1.5 Vidrarias

- Béqueres;
- Bastão de vidro;
- Erlenmeyers;
- Placas de Petri;
- Pipeta graduada;
- Tubos de ensaio.

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Preparo de meios de cultura

Seguindo as instruções especificadas no rótulo, preparou-se os meios de cultura, e em seguida os meios foram distribuídos em tubos e inclinados, a fim de se obter meio para o repique das cepas padrão, que serviram para a execução do teste. Os meios foram esterilizando-os em autoclave a 121°C por 15 min.

#### 4.2.2 Preparo de culturas estoques

A partir de culturas estoques, as bactérias foram transferidas com auxílio de alça platinada para o meio inclinado de ágar caseína-soja. As culturas foram incubadas por 24 horas a 36°C. Os fungos foram 72 horas a 25°C.

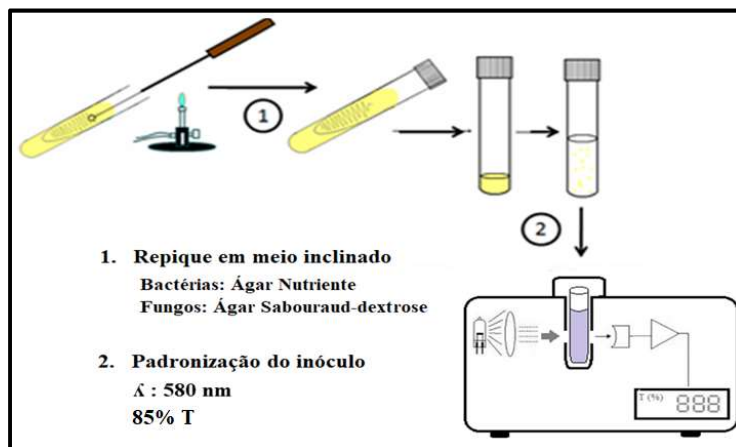
#### 4.2.3 Padronização do inóculo

Após este período de incubação adicionou-se ao meio 1 mL de solução salina a 0,9% com leve homogeneização. Realizou-se a suspensão até que se encontrasse com auxílio do espectrofotômetro no comprimento de onda 580 nm, a diluição que apresentasse 85% de transmitância. Equivalente ao tubo 0,5 na escala de McFarland, ou seja,  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL para bactérias e  $1,5 \times 10^6$  UFC/mL para fungos.

A padronização dos fungos difere das bactérias, apenas pelo meio utilizado, neste caso meio ágar Sabouraud-dextrose. Para *A. niger* a diluição é facilitada pela

suspensão dos esporos em 2 mL de salina 0,9% adicionada de 0,2 mL de polissorbato de sódio 80 a 0,05% (figura 2).

**Figura 2 - Esquema representativo do procedimento de padronização da amostra**

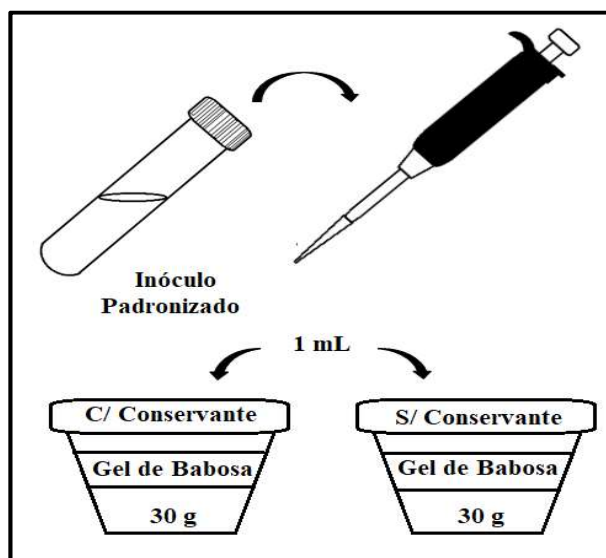


Fonte: Adaptado de Xavier, 2013.

#### 4.2.4 Contaminação da amostra

Foram reservados 30 g do gel de babosa em recipiente plástico para cada microrganismo, e adicionou-se 1 mL do inóculo padronizado, homogeneizando com bastão vidro estéril para que houvesse distribuição homogênea dos micro-organismos. O mesmo procedimento foi realizado com gel sem conservante, para assegurar que a quantidade do microrganismo está de acordo com os compêndios oficiais e observar o comportamento microbiano sem a presença dos conservantes (figura 3).

**Figura 3 – Esquema representativo do procedimento de contaminação das amostras**



Fonte: autoria própria, 2019.

#### 4.2.5 Contagem dos micro-organismos viáveis

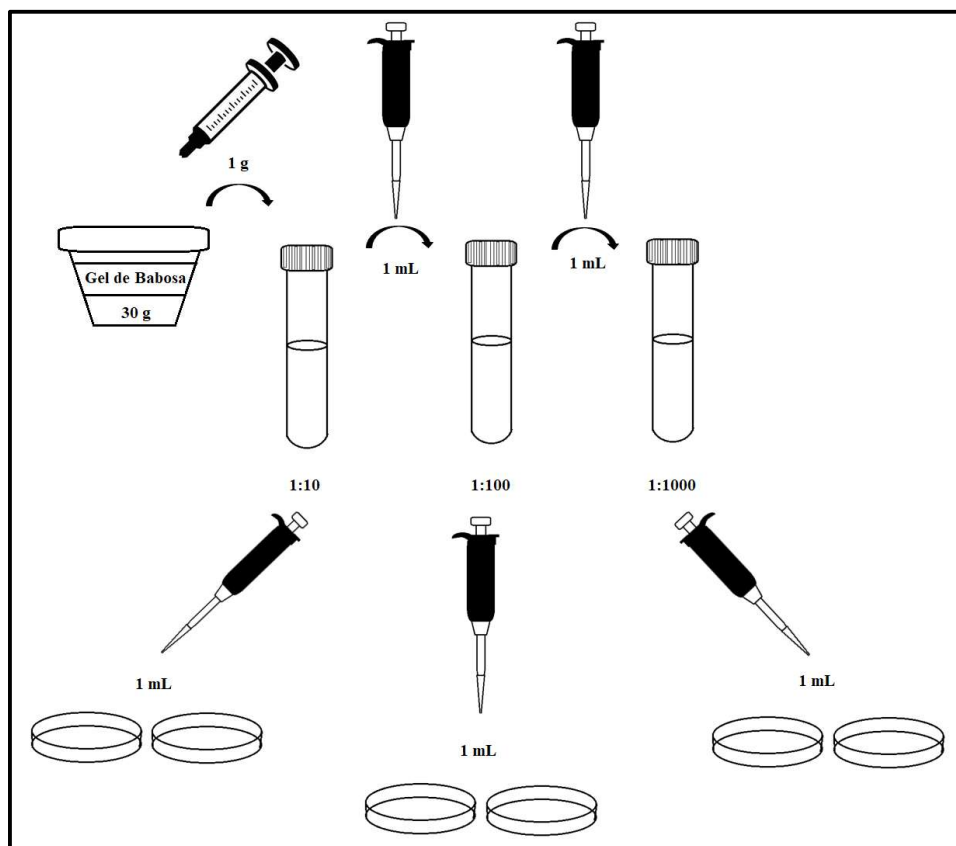
Logo após a inoculação foi realizado o plaqueamento pelo método de profundidade ou *pour plate* para cada microrganismo nos tempos 0 (essencial para que se confirme a concentração inicial do inóculo), 14, e 28 dias. Usando meio ágar caseína soja para as bactérias com período de incubação em torno de 4 dias a 35°C, e o meio ágar sabourad-dextrose para bolores e leveduras com incubação em torno de 7 dias a 20-25°C.

#### 4.2.6 Preparo da amostra

Foi transferido 1 g do gel contaminado para 9 mL de tampão fosfato pH = 7,0 (diluição 1:10). Em seguida foram obtidas as demais diluições (1:100 e 1:1000).

Realizou-se o plaqueamento pelo método de profundidade em duplicata para cada diluição. O mesmo procedimento foi executado com os géis contaminados que não possuem conservantes (figura 4).

**Figura 4 - Esquema representativo do procedimento de contagem de micro-organismos viáveis**



Fonte: autoria própria, 2019.

#### 4.2.7 Interpretação dos resultados

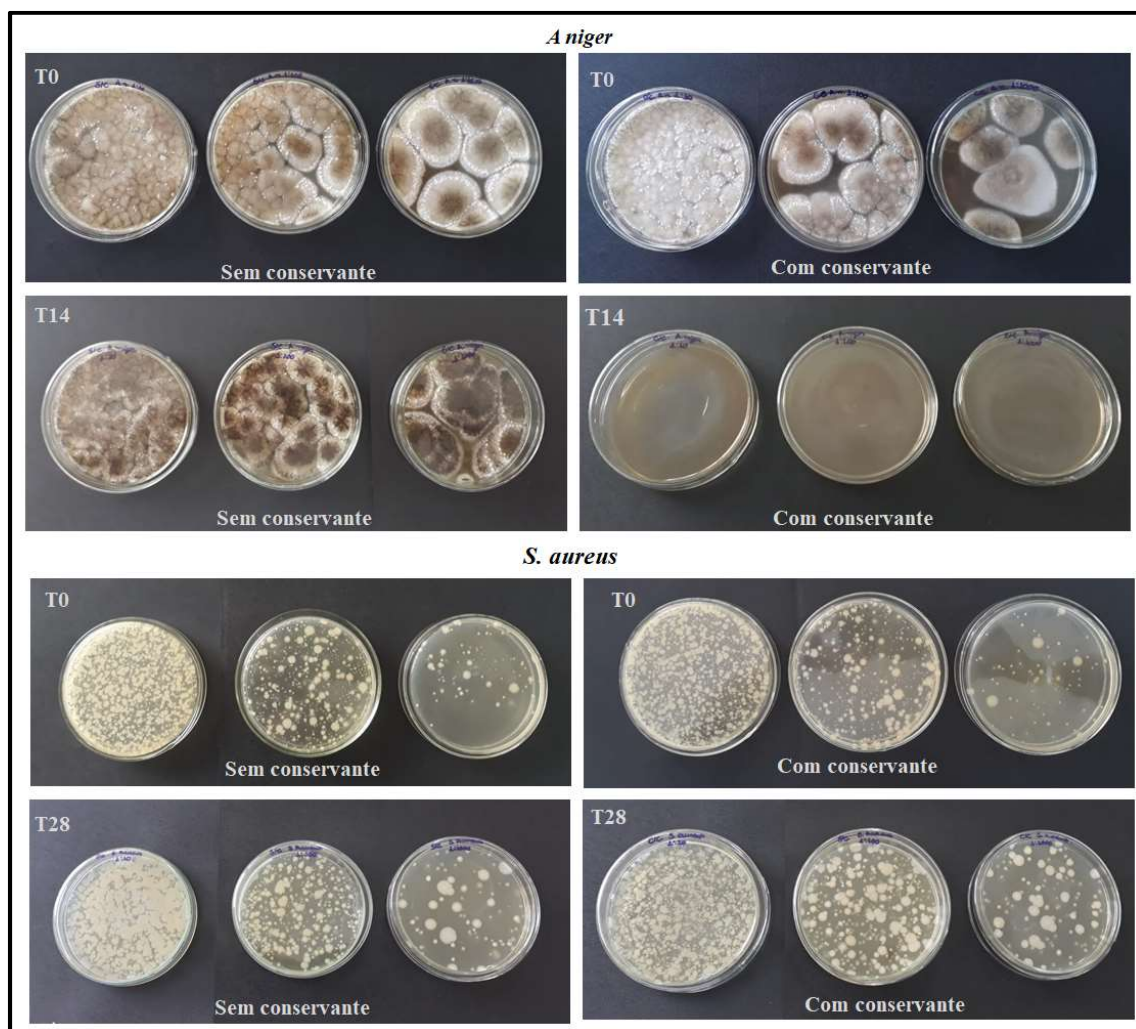
Seguindo os parâmetros da Farmacopeia Brasileira (2010), os critérios de aprovação exigem que as bactérias reduzam seu crescimento em pelo menos 2 log no 14º dia e não aumentem até os 28 dias. Para os bolores e leveduras, não aumentar a contagem inicial do 14º ao 28º dia.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste do desafio é empregado para avaliação da capacidade antimicrobiana dos conservantes utilizados, sendo requisito essencial para garantir a segurança, principalmente, dos produtos multidoso.

Nesta pesquisa, os resultados do teste foram obtidos pela contagem de micro-organismos viáveis (figura 5) em gel de babosa, cujo sistema conservante avaliado era composto por metilparabeno (nipagin), após a contaminação das amostras com inóculos padronizados.

**Figura 5 – Representação visual das placas de crescimento para contagem microbiana nas formulações de gel com e sem conservante**



Fonte: Arquivos da pesquisa, 2019.

Os dados da (Tabela 1) apresentam diferentes perfis de contagem microbiana no decorrer do período avaliado (T<sub>0</sub> a T<sub>28</sub> dias). Com relação às bactérias os valores de



contagem variaram de  $138 \times 10^3$  a  $12,5 \times 10^3$  UCF's no gel sem conservante e de  $166 \times 10^3$  a  $33 \times 10^3$  UCF's no gel com conservante, conforme apresentado na (tabela 1).

**Tabela 1 – Contagem de micro-organismos viáveis (UFC/g) no teste de eficácia de conservantes**

Gel	Micro-organismo	Tempo em dias		
		T <sub>0</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>28</sub>
Sem conservante	<i>S. aureus</i>	$122 \times 10^3$	$22,6 \times 10^3$	$95,1 \times 10^3$
	<i>E. coli</i>	$138 \times 10^3$	$12,5 \times 10^3$	$85 \times 10^3$
	<i>P. aeruginosa</i>	$60,5 \times 10^3$	$78,5 \times 10^3$	$79 \times 10^3$
	<i>C. albicans</i>	$22,2 \times 10^3$	$94,5 \times 10^3$	$7,6 \times 10^3$
	<i>A. niger</i>	$6,5 \times 10^3$	$3,7 \times 10^3$	$4,7 \times 10^3$
Com conservante	<i>S. aureus</i>	$82,5 \times 10^3$	$60,5 \times 10^3$	$104,5 \times 10^3$
	<i>E. coli</i>	$166 \times 10^3$	$35 \times 10^3$	$56 \times 10^3$
	<i>P. aeruginosa</i>	$116 \times 10^3$	$41,5 \times 10^3$	$33 \times 10^3$
	<i>C. albicans</i>	$19,3 \times 10^3$	< 10	< 10
	<i>A. niger</i>	$6,0 \times 10^3$	< 10	< 10

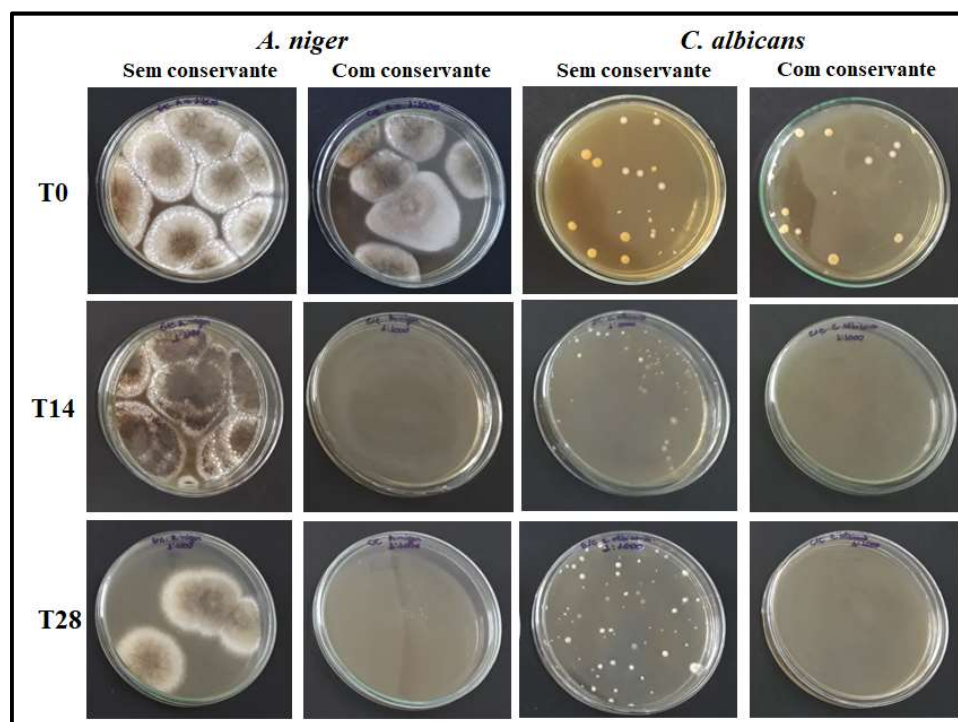
Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Quanto ao perfil de crescimento fúngico avaliado na (tabela 1), observa-se valores de crescimento máximo de  $22,2 \times 10^3$  UCF's de *C. albicans* em T<sub>0</sub>, diminuindo para  $7,6 \times 10^3$  UCF's em T<sub>28</sub>, e de  $6,5 \times 10^3$  UCF's de *A. niger* em T<sub>0</sub> e  $4,7 \times 10^3$  UCF's em T<sub>28</sub>, na formulação sem conservante.

Na formulação com conservante, o crescimento fúngico atingiu valores de  $19,3 \times 10^3$  UCF's de *C. albicans* e  $6,0 \times 10^3$  UCF's de *A. niger* em T<sub>0</sub>, seguido de completa inibição de ambos os fungos a partir de T<sub>14</sub>. Como pode ser observado na (figura 6).

A inibição completa do crescimento fúngico também foi observada por Duarte (2014), utilizando sistema conservante composto por metil e propilparabenos em emulsão lanette®.

Figura 6 – Representação visual da inibição fúngica nas formulações de gel com e sem conservante



Fonte: Arquivos da pesquisa, 2019.

A (tabela 2) apresenta os valores em logaritmo de contagem de UFC's, permitindo visualizar que não houve diminuição significativa no crescimento das bactérias em ambas as formulações, sem e com conservante.

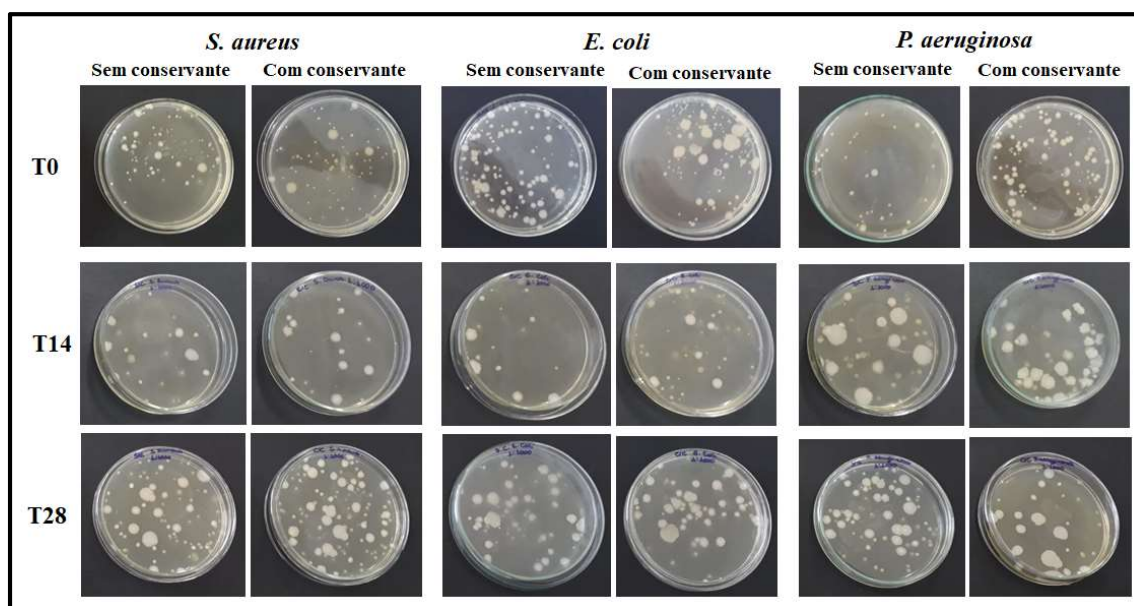
Tabela 2 – Número de sobreviventes em logaritmo base 10 (Log UFC/g) no teste de eficácia de conservantes

Gel	Micro-organismo	Tempo em dias		
		T <sub>0</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>28</sub>
Sem conservante	<i>S. aureus</i>	5,1	4,4	5,0
	<i>E. coli</i>	5,1	4,1	4,9
	<i>P. aeruginosa</i>	4,9	4,8	4,9
	<i>C. albicans</i>	4,3	5,0	4,9
	<i>A. niger</i>	3,8	3,6	3,7
Com conservante	<i>S. aureus</i>	4,9	4,5	5,0
	<i>E. coli</i>	5,2	4,8	4,7
	<i>P. aeruginosa</i>	5,1	4,6	4,5
	<i>C. albicans</i>	4,3	-	-
	<i>A. niger</i>	3,8	-	-

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Na formulação com conservante a contagem das bactérias demonstrou aumento de 0,1 Log de UCF's para *S. aureus*, e diminuição de 0,5 e 0,6 Log de UCF's para *E. coli* e *P. aeruginosa*, respectivamente. Logo, o conservante utilizado não atendeu ao preconizado na Farmacopéia Brasileira (2010), que determina uma redução de 2 logs na contagem de bactérias, para que seja atestada a eficácia do conservante, conforme observado na (figura 7).

**Figura 7 – Representação visual do crescimento bacteriano nas formulações de gel com e sem conservante**



Fonte: Arquivos da pesquisa, 2019.

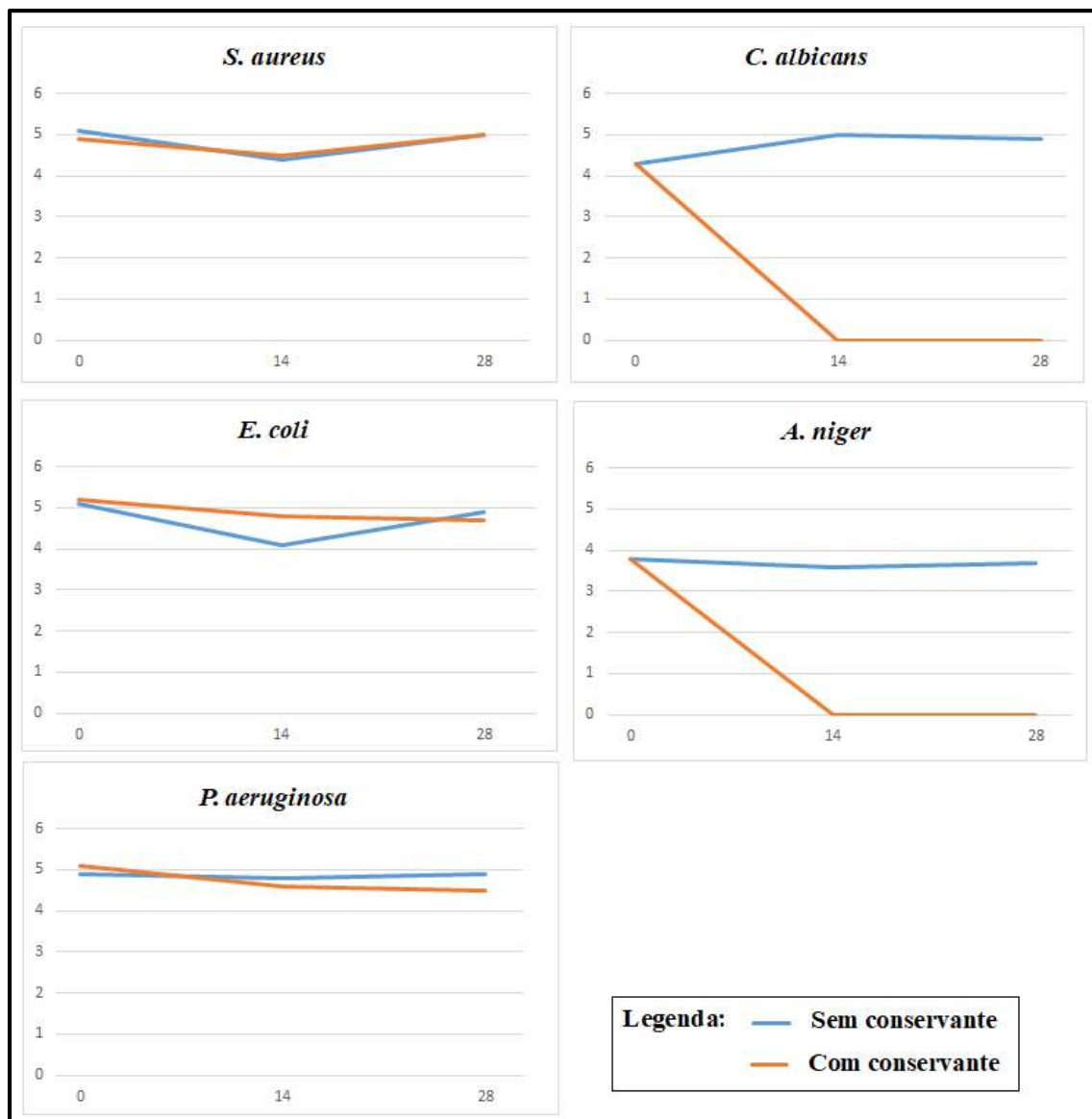
Resultado semelhante foi observado por Vieira, Moreira e Frizzo (2017), em formulações de xampu, cujo sistema conservante utilizado não promoveu os resultados esperados. Duarte (2014) avaliou eficácia de conservantes em emulsão lanette<sup>®</sup>, e observou que as bactérias Gram-negativas *E.coli* e *P. aeruginosa* não foram inibidas como o esperado.

Contudo, os dados referentes à inibição dos fungos, revelaram um crescimento estável na formulação sem conservante, variando de 4,3 a 5,0 Log de UCF's para *C. albicans* e 3,6 a 3,7 para *A. niger*, ao passo que na formulação com conservante a contagem inicial foi de 4,3 e 3,8 log de UCF's para *C. albicans* e *A. niger*, respectivamente, com inibição total após 14 dias, mantida até o 28º dia do experimento.

Esses dados comprovam a eficácia do conservante utilizado, para proteção da formulação apenas com relação a contaminação fúngica.

Os resultados da contagem, transformados em log (Tabela 2) foram representados em um gráfico de crescimento microbiano em função do tempo apresentado na (figura 8).

**Figura 8 - Perfil das curvas de contagem em Log UFC/g dos biomarcadores para a avaliação da eficácia conservante em gel de babosa manipulado na Farmácia Escola Manoel Casado de Almeida (UFCEG, campus Cuité-PB)**



Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

A representação gráfica da contagem microbiana revelou uma diminuição nos valores de contagem em T<sub>14</sub>, seguido de retomada de crescimento em T<sub>28</sub>, para todas as bactérias e ambas as formulações. Esses achados evidenciaram a incapacidade de inibição adequada do conservante utilizado na formulação do gel em estudo. Enquanto

que *C. albicans* e *A. niger* apresentaram inibição total de crescimento no tempo 14 dias, mantida até o final do experimento em T<sub>28</sub>.

Estes dados comprovam a necessidade de um sistema conservante adequado para garantir a estabilidade microbiológica do gel de babosa analisado.

A regulamentação brasileira para o uso de conservantes em produtos de higiene pessoal e cosméticos é regida pela RDC nº 29/12 que determina o uso máximo de 0,4% de cada parabeno e 0,8% de parabenos total na formulação. Na formulação avaliada, foi utilizado 0,2 % de metilparabeno. Os ésteres do ácido p-hidroxibenzoico são utilizados em combinação uns com os outros devido à sua ação sinérgica, uma vez que o metílico é solúvel em água, enquanto que o propílico e os estéres de cadeia maior são praticamente insolúveis no meio aquoso. Metilparabeno é o menos ativo da classe e o mais solúvel em água, com melhora da atividade quando combinado a outros como o propil, etil e butilparabenos (ZANON, 2010; SANTOS, 2011).

Observando-se que nenhuma das bactérias apresentou nível de inibição esperado frente ao conservante, sugere-se que este comportamento pode estar relacionado a solubilização e incorporação do conservante na formulação, a concentração utilizada, a incompatibilidade com outros componentes da formulação ou a necessidade da adição de um segundo conservante ao produto.

Com amplo espectro de ação, os parabenos são mais ativos contra fungos e contra bactérias Gram-positivas, sendo considerados fracos contra bactérias Gram-negativas (COSMÉTICOS; PERFUMES, 2007). Tal afirmação pode ser observada nos resultados exibidos, em que o maior grau de redução da carga microbiana ocorreu com os fungos *C. albicans* e *A. niger*.

Diante dos resultados obtidos sugere-se novos estudos com o objetivo de identificar as causas da ineficácia do atual sistema conservante, frente bactérias, por meio de avaliação da eficácia conservante após as possíveis alterações no que se refere à formulação, tanto nas técnicas de manipulação, quanto na composição do sistema conservante, para a obtenção da eficácia adequada.

## 6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados observou-se que a contagem de micro-organismos viáveis do teste desafio do sistema conservante demonstrou que não ocorreu diminuição significativa da carga microbiana nas bactérias tanto das formulações com e sem conservante enquanto para os fungos na formulação com conservante constatou-se níveis adequados.

O teste desafio apresentou um excelente declínio para os micro-organismos *C. albicans* e *A. niger* a partir do decimo quarto dia e chegando a total inibição no vigésimo oitavo dia, enquanto que na execução do teste de conservação para os demais micro-organismos não ocorreu decréscimo na contagem dessas formulações de forma esperada frente ao sistema conservante.

Seguindo os parâmetros preconizados pela Farmacopeia Brasileira V os resultados obtidos ao final do experimento demonstraram que o conservante utilizado para manter a estabilidade microbiana mostrou-se ineficiente e inseguro com relação aos micro-organismos que não apresentaram inibição adequada, as bactérias Gram negativas e Gram positiva.

Assim, sugere-se novos estudos que visem investigar as causas dessa ineficácia por parte do sistema conservante na avaliação da atividade microbiana do teste desafio sendo de extrema importância estudar a formulação farmacêutica levando em consideração alguns aspectos como: se o conservante sofreu interações com os demais componentes da formulação resultando em diminuição ou mesmo perda de potência, se cada componente estar realizando sua devida função, selecionar e testa a melhor combinação de princípios ativos conservantes e sua concentração ideal, avaliação das Boas Práticas de Fabricação e dos métodos de manipulação, entre outros.

## REFERÊNCIAS

ACCORSI, W.R. Medicina natural, um novo conceito. A fórmula: guia de negócios. **Revista Espaço para a Saúde**, v. 2, n. 4, p. 5-8, 2000.

ALVES, R. P. R. **Estudo das principais enterobactérias responsáveis pelas infecções no âmbito hospitalar e comunitário: uma revisão**. 2012. 32f. Monografia (Graduação de Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de ciências Biológica da Saúde, Campina Grande, 2012.

ANDRADE, F. V.; LOPES, A. M. A. ANÁLISE DA CONSTRUÇÃO DO CONHECIMENTO SOBRE A ABORDAGEM INTERACIONISTA: ESTUDO DE CASO NO AMBIENTE VIRTUAL DE APRENDIZAGEM MOODLE. **Alcancead**, v. 2, n. 2, p. 34-41, 2015.

ARNOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; BEINNER, R. P. C. Plantas medicinais de uso caseiro-conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, v. 6, n. 2, p. 1-6, 2005.

BETTEGA, P. V. C. et al. Fitoterapia: dos canteiros ao balcão da farmácia. **Archives of Oral Research**, v. 7, n. 1, 2011.

BLEDZKA, D.; GROMADZINSKA, J.; WASOWICZ, W. Parabens. From environmental studies to human health. **Environment International**. v. 67, p. 27-42, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 29, de 1 de junho de 2012. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 jun. 2012. Disponível em:<[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3285739/RDC\\_29\\_2012\\_.pdf/c74fbb1a-c98b-4899-81ae-7ad9e18d807e](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3285739/RDC_29_2012_.pdf/c74fbb1a-c98b-4899-81ae-7ad9e18d807e)>. Acesso em: 27 jan. 2019.

CHARNOCK, C.; FINSRUD, T. Combining esters of para-hydroxy benzoic acid (parabens) to achieve increased antimicrobial activity. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 32, n. 6, p. 567-572, 2007.

COLET, C.; PORTELLA, G.Z.; SPANEVELLO, S.; NEU, D.; DALPIAZ, J.; PETRI, A.; SCHWAMBACHB, K. Uso de Aloe sp. no Município de Pejuçara – RS. **UNOPAR Científica Ciências Biológica Saúde**, v. 17, n. 2, p. 119-23, 2015.

CORDEIRO, M. S. F. et al. Desenvolvimento tecnológico e avaliação de estabilidade de gel dermatológico a partir do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 94, n. 2, p. 148-153, 2013.

COSMÉTICOS & PERFUMES. **Conservantes**. São Paulo, v.43, jan/fev/mar. 2007.

CRINNION, W. J. Toxic effects of the easily avoidable phthalates and parabens. **Alternative Medicine Review**. v. 15 (3), p. 190-196, 2010.

DA MATA, P. T. G.; ABEGG, M. A. Descrição de caso de resistência a antibióticos por *Pseudomonas aeruginosa*. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v. 11, n. 2, p. 20-25, 2013.

DA SILVA, L. A. G. et al. Controle de qualidade microbiológico de formulação magistral contendo fitoterápico. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 7, n. 2, 2014.

DAVALO, M. J. al. Efeitos da utilização do gel de babosa no crescimento inicial de plântulas. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 132-136, 2014.

DE SOUSA, Mayra Karla Monteiro et al. **Produção do gel da babosa (Aloe vera) para cicatrização de feridas cutâneas de cães e gatos**. In: XIII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX 2013. Recife: UFRPE, 2013. Disponível em < <http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R0293-1.pdf>> acesso: 10 de jan. 2019.



DIAS, J. L. et al. **Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana e do potencial citotóxico do gel de Aloe vera**: uma discussão sobre o uso em queimaduras. 2016. 80 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, 2016.

DOS SANTOS, A. L. al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

DUARTE, F. Í. C. **Avaliação da eficácia de conservantes em emulsão lanette®**. / 2014. 51 fl. Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2014.

FARMACOPÉIA, Brasileira. 5. ed. Brasília: **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**: 2012.

FARMACOPÉIA, ANDVS. Farmacopeia Brasileira. **Farmacopeia Brasileira, 5 a edição**, 2010.

FREITAS, V. S.; RODRIGUES, R. A. F.; GASPI, F. O. G. Propriedades farmacológicas da *Aloe vera* (L.) Burm. f. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 299-307, 2014.

GOMES, M. R. **Aplicação do Aloe vera na cicatrização e cosmetologia**. 2018. 13f. Monografia (Curso de Pós-Graduação em Estética e Bem-Esta) - Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, 2018.

GOTTSCHALCK, T. E.; MCEWEN, Jr, G. N. **International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook**. ed. 10, v.2, Washington: Pharmabooks, 2004.

GOW, N.; VAN DE VEERDONK, F.; BROWN, A.; NETEA, M. Candida albicans morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 112–1, 2011.

HOSSEINIMEHR, S. J. et al. Effect of Aloe Cream versus Silver Sulfadiazine for Healing Burn Wounds in Rats. **Acta DermatovenerolCroat**, v.18, n.1, p. 2-7, 2010.

LAIATE G, R. R. C. **Avaliação da atividade conservante do óleo essencial de Tomilho em cosméticos**, SP. Monografia (Graduação em Farmácia). FAPI Faculdade de Pindamonhangaba, Pindamonhangaba, 39p. 2013.

LEISLE, D. M. As diversas aplicações plantas através dos saberes populares visando a utilização sustentável. **Ambientalmente Sustentável: Revista científica galego-lusófona de educación ambiental**, v. 20, p. 1841-1856, 2015.

LIMA, M. F. P. et al. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares–Revisão de Literatura. **Revista Uningá Review**, v. 21, n. 1, 2018.

LUCENA, K. L. de et al. **Qualidade microbiológica de formulações farmacêuticas de uma farmácia magistral no município de João Pessoa-PB**. 2014.41f. Monografia (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

LUNDOV, M. D. et al. Contamination versus preservation of cosmetics: a review on legislation, usage, infections, and contact allergy. **Contact Dermatitis**, v. 60, n. 2, p. 70-78, 2009.

MACEDO, A. F.; OSHIWA, M.; GUARIDO, C. F. Ocorrência do uso de plantas medicinais por moradores de um bairro do município de Marília-SP. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 123-128, 2009.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MEDEIROS, A. C. D. et al. **Análise de contaminantes microbiológicos em produtos comercializados em farmácia de manipulação**. 2010. Tese de Doutorado. Dissertação: Departamento de Farmácia e Biologia, Disponível em:< [http://eduep.uepb.edu.br/biofar/n1v1/n1v1\\_analise\\_de\\_contaminantes.html](http://eduep.uepb.edu.br/biofar/n1v1/n1v1_analise_de_contaminantes.html)>. Acesso em: 01 jan. 19.

MINCEA, M. M.; LUPŞA, I. R.; CINGHIŢĂ, D. F.; RADOVAN, C. V.; TALPOS, I., OSTAFE. Determination of methylparaben from cosmetic products by ultra

performance liquid chromatography. **Journal of the Serbian Chemical Society**. p. 669–676, 2009.

MONTES, L. V.; BROSEGHINI, L. P.; ANDREATTA, F. S.; SANTÁNA, M. E. S.; NEVES, V. M.; SILVA, A. G. Evidências para o uso do óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. *Natureza on line*, v. 7, p. 61- 67, 2012.

PARENTE, L. M. Leal et al. Aloe vera: características botânicas, fitoquímicas e terapêuticas. **Arte MédAmpl**, v. 33, n. 4, p. 160-4, 2013.

PEREIRA, T. A. **Avaliação da eficácia de um sistema conservante em formulações adicionadas de biomoléculas farmacêuticas e estudos de adaptação microbiana**. 2011. 104f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília Faculdade de Ciência da Saúde, Brasília, 2011.

POUILLOT A, POLLA AS. Conservateurs em cosmetologymiseau point surlesparabens. **Journal Méd Esthét Chir Dermatol**; 33: 187-90. 2006.

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

MOYES, D. L.; RICHARDSON, J. P.; NAGLIK, J. R. Candida albicans-epithelial interactions and pathogenicity mechanisms: scratching the surface. **Virulence**, v. 6, n. 4, p. 338-346, 2015.

RAMOS, A. P.; PIMENTEL, L. C. Ação da Babosa no reparo tecidual e cicatrização. **Brazilian Journal of Health**.v. 2, n. 1, p. 40-48, 2011.

RAMOS, S. V. V. **Validação da metodologia analítica aplicada ao controle da qualidade microbiológica de formas farmacêuticas líquidas e determinação da eficácia dos conservantes**. 2010. 164 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêutica, Recife, 2010.

RIBEIRO, R. B. **Avaliação do sistema conservante de medicamentos oftálmicos, armazenados em residências**. 2011. 17f. Monografia (Graduação em Farmácia) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, 2012.

ROCHA, C. P. **Otimização da produção de enzimas por *Aspergillus niger* em fermentação em estado sólido**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, p. 136, 2010.

SANTOS, F.R.A. **Emulsões múltiplas: formulação, caracterização, estabilidade e aplicações**. 2011. 68f. Monografia (Mestre em Ciências Farmacêuticas), Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2011.

SEMENOFF, T. A. et al. Efetividade in vitro de *Aloe vera* in natura, gel de clorexidina a 0, 12% e gel de clorexidina a 2% sobre *Enterococcus faecalis*. **Revista OdontoCincia**, v. 23, n. 3, 2008.

SILVA, M. F. da; SILVA, L. L. da. Análise microbiológica de três formulações magistrais. **Cadernos da Escola de Saúde**, Curitiba, v. 2, n. 6, 117-130, 2017.

SOARES, V. C.G. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE BASES FARMACÊUTICAS MANIPULADAS NO MUNICÍPIO DE JUNDIAÍ-SP. **Revista Multidisciplinar da Saúde–Ano III–Nº 05**, p. 2, 2011.

SONI, M.G.; TAYLOR, S.L.; GREENBERG, N.A.; BURDOCK, G.A. Evaluation of the health aspects of methylparaben: a review of the published literature. **Food and Chemical Toxicology**. v. 40, p. 1335-1373, 2002.

SOUZA, M. K. M. et al. Produção do gel da babosa (*Aloe vera*) para cicatrização de feridas cutâneas de cães e gatos. **JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO– JEPEX**, 13. – UFRPE: Recife, p. 9-13. 2013.

SOUZA, V. S. et al. **Avaliação do sistema conservante frente a ação microbiológica em preparações farmacêuticas**. 2017. 41f. Monografia (Especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2017.

SUDBERY, P. E.; GOW, N. A. R.; BERMAN, J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. **Trends Microbiol.**, v. 12, p. 317-324, 2004.

THOMPSON, D. S.; CARLISLE, P. L.; KADOSH, D. Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. **Eukaryotic cell**, v. 10, n. 9, p. 1173-1182, 2011.

VACONCELOS, T. Y. L.; MEDEIROS, D. P. F.; NASCIMENTO, A. Á. Pharmaceutical Development and Microbiological Quality Control of Cosmetic Formulations Developed at a Laboratory School in the City of Sobral, Ceará, Brazil. **Journal of Applied Pharmaceutical Sciences–JAPHAC**, v. 2, n. 3, p. 6-15, 2016.

VIEIRA, I. B.; MOREIRA, A. C.; FRIZZO, M. N.; ANÁLISE MICROBIOLÓGICA EM FORMULAÇÕES DE XAMPU: O CONTROLE DA QUALIDADE EM PRODUTOS COM E SEM CONSERVANTES. **Revista Contexto & Saúde**, v. 17, n. 33, p. 132-145, 2017.

ZANON, A.B. **Aspectos teóricos e práticos sobre a avaliação da estabilidade de emulsões manipuladas em farmácia**. 2010. 52f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.