

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS COSMÉTICOS MANIPULADOS EM FARMÁCIAS DO PLANALTO MÉDIO, RS

FERNANDA Z. TONIN¹
CRISTIANE BARELLI²
MIRIAM T. KNORST³

1. Farmacêutica do Hospital da Cidade de Passo Fundo, RS.
2. Docente de Microbiologia Clínica e Controle de Qualidade em Análises Clínicas, Curso de Farmácia, UPF, RS.
3. Docente de Tecnologia de Cosméticos e Farmacotécnica, Curso de Farmácia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Passo Fundo, UPF, RS.

Autor Responsável: M.T. Knorst.
E-mail: miriam@saude.upf.br

INTRODUÇÃO

A qualidade microbiana é um dos requisitos indispensáveis de um produto cosmético (Brasil, 2000), pois a presença de contaminantes viáveis, além de provocar alterações na formulação, como perda da eficácia e aspecto indesejado, poderá constituir risco para a saúde do consumidor (Pinto *et al.*, 2000). As Boas Práticas de Manipulação (BPM) são requisitos indispensáveis para a garantia da qualidade de um produto cosmético. No Brasil, a Resolução RDC n° 33, de 19 de abril de 2000, regulamenta as BPM nas farmácias e estas devem ser implementadas em todo o ciclo da produção, de modo a garantir produtos eficazes, seguros e estáveis (Brasil, 2000).

O presente trabalho objetiva avaliar a qualidade microbiológica de produtos cosméticos manipulados, em farmácias do Planalto Médio, no Rio Grande do Sul, por meio do método de contagem de microorganismos viáveis em produtos que dispensam o teste de esterilidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material

O material objeto deste estudo foi constituído de emulsões cosméticas do tipo cremes O/A. As amostras foram adquiridas em oito Farmácias de manipulação da região do Planalto Médio, RS, sem que as mesmas fossem informadas sobre a finalidade da aquisição. No momento da compra foi solicitado um creme hidratante para mãos. Foram adquiridos, concomitantemente, de cada estabelecimento três unidades de cada produto (30g) as quais foram estocadas em temperatura ambiente.

Determinação de Microorganismos Viáveis Totais

Preparo das amostras: A embalagem primária foi limpa externamente com algodão embebido em álcool

70°GL. Em seguida, foram retiradas 10g de cada uma das três amostras do mesmo produto, tendo sido preparado um "pool", o qual foi homogeneizado. Com a utilização de material estéril, foram pesadas 10,0g deste "pool", o qual foi diluído com 88 mL de água peptonada esterilizada. Após, foram adicionados, sob agitação, 2 mL de solução de polisorbato 80 (Tween® 80) para inativação do sistema conservante (Farmacopéia, 1988).

A partir da dispersão obtida, que corresponde à diluição de 10^{-1} , foram realizadas diluições decimais de 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , sendo utilizado como diluente a água peptonada. Em seguida, foi realizada, em triplicata, o plaqueamento para a contagem de contaminantes viáveis totais.

Contagem de microorganismos viáveis totais: A pesquisa de bactérias e fungos foi realizada através do método de contagem em placas pela técnica de semeadura em superfície. Para a pesquisa de bactérias foi utilizado ágar nutriente, incubando-se as amostras por 72 horas em temperatura de 35 ± 1 °C, realizando-se leituras nos períodos de 24, 48 e 72 horas. Para a pesquisa de fungos e leveduras, as amostras foram semeadas em ágar Sabouraud-Dextrose (SBD) com posterior incubação em estufa durante 14 dias em temperatura de 25 ± 1 °C, com observações diárias (Farmacopéia, 1988).

Paralelamente, como controle de qualidade dos ensaios, foram incubadas placas contendo somente os meios de cultura (ágar nutriente e ágar Sabouraud) e placas contendo estes meios acrescidos do diluente.

Avaliação dos resultados: Para a avaliação dos resultados foram utilizadas as diluições de 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , as quais foram obtidas a partir da diluição 10^{-1} . A contagem das colônias foi realizada visualmente, sem o auxílio de instrumentos. Foi calculada a média aritmética de cada diluição por grama ou mL de produto a partir dos valores obtidos nas placas no último dia de análise. O número de colônias foi multiplicado pela diluição utilizada e expresso como unidades formadoras de colônia (UFC/ g de produto).

Para amostras que não apresentaram crescimento de colônias, foi registrado o valor como sendo menor que uma vez a menor diluição utilizada no método de contagem em placa, ou seja, menor que 100 UFC (Farmacopéia, 1988).

Os produtos foram considerados próprios ou impróprios para consumo com base nas exigências da Resolução RDC nº 481 de 23 de setembro de 1999, na qual o limite permitido para produtos do Tipo II é 10^3 UFC/g ou mL (limite máximo de 5×10^3 UFC/g ou mL) e ausência de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e coliformes totais e fecais (Brasil, 1999).

Identificação dos microorganismos contaminantes: Tanto para fungos como para bactérias, quando houve crescimento de microorganismos nas placas, estes foram identificados inicialmente com base no aspecto da colônia (morfologia macroscópica). Em especial para as bactérias e leveduras, também foram realizados esfregaços, corados pelo Gram para propiciar a avaliação da morfologia microscópica (Farmacopéia, 1988).

As bactérias que após coloração de Gram apresentaram cor roxa foram classificadas como Gram positivas. As bactérias que apresentaram cor vermelha foram classificadas como Gram negativas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação microbiológica de cosméticos (cremes O/A) manipulados em Farmácias do Planalto Médio, RS, estão demonstrados na Tabela 1.

Cabe ressaltar que durante o preparo das amostras foi encontrado um pedaço de plástico dentro da amostra nº 6. Tal fato evidencia o descumprimento das Boas Práticas de Manipulação.

A avaliação da qualidade sanitária de qualquer produto e sua qualificação está na dependência dos níveis de tolerância a serem adotados. Assim, a Resolução RDC nº 481 de 23 de setembro de 1999 (Brasil, 1999) subdivide os produtos cosméticos em 2 grupos, Tipo I e II, dependendo

do local de aplicação. O Tipo I refere-se a produtos para uso infantil, para a área dos olhos e aqueles que entram em contato com mucosas.

O Tipo II refere-se aos demais produtos susceptíveis à contaminação. A contagem de microorganismos totais aeróbios para o subgrupo Tipo I não deve ser mais de 10^2 UFC/g ou mL de produto (limite máximo de 5×10^2 UFC/g ou mL) e ausência de *P. aeruginosa*, *S. aureus*, coliformes totais e fecais em 1g ou mL. As exigências para os produtos Tipo II diferem em relação ao primeiro apenas nos limites de aeróbios totais que não deve ser mais de 10^3 UFC/g ou mL de produto (limite máximo de 5×10^3 UFC/g ou mL). Assim, pairam dúvidas quanto ao limite que deverá ser obedecido. No subgrupo Tipo I, deve-se considerar 100 UFC/g ou mL ou 500 UFC/g ou mL? E no subgrupo Tipo II deve-se adotar como limite máximo 1000 UFC/g ou mL ou 5000 UFC/g ou mL?

Deve-se considerar, nos limites apresentados, a segurança para o usuário e a tolerância quantitativa da carga microbiana saprofítica, a fim de manter a integridade do produto. Se os produtos cosméticos são produzidos para serem vendidos e utilizados pelos usuários, então, o que interessa é a segurança que será dada ao produto. Sendo assim, deveremos considerar o limite de 10^2 UFC/g ou mL para o subgrupo Tipo I e 10^3 UFC/g ou mL para o subgrupo Tipo II, pois desta forma estaremos assegurando ao usuário um produto que, dentro de seu prazo de validade, manterá sua integridade (Rebello, 2001).

Confrontando-se os limites estabelecidos na Resolução RDC nº 481 (Brasil, 1999) com os parâmetros internacionais, pode-se perceber, nestes últimos, que as exigências são mais rigorosas. A Farmacopéia Européia (1999) determina, para produtos de uso tópico, no máximo 10^2 de bactérias aeróbias e 10^2 de fungos por g ou mL de produto e, no máximo, 10^1 de enterobactérias e outras bactérias Gram negativas em 1 g ou mL do produto, além da ausência de *Pseudomonas* e *Staphylococcus aureus*.

A Farmacopéia Americana (*The United*, 2000) estabelece limites para cada produto levando em consideração

Tabela 1. Dados provenientes da avaliação microbiológica de produtos cosméticos manipulados em Farmácias do Planalto Médio, RS.

Amostra	Farmácia	Tipo de cosmético	Bactérias (UFC/g)	Fungos (UFC/g)
1	A	Creme Lanette contendo 10% de uréia	$1,76 \times 10^3$	$3,6 \times 10^3$
2	B	Creme Lanette contendo uréia	<100	$1,06 \times 10^3$
3	C	Creme para mãos	<100	$1,43 \times 10^3$
4	D	Creme para mãos contendo uréia	<100	$2,2 \times 10^3$
5	A	Creme para mãos contendo uréia e silicone	<100	<100
6	E	Creme não iônico para mãos	<100	$3,3 \times 10^2$
7	F	Creme Lanette	<100	$2,93 \times 10^3$
8	G	Creme Lanette contendo 6% de uréia	<100	$5,6 \times 10^3$
9	B	Creme contendo uréia	<100	<100
10	H	Creme contendo uréia	<100	$4,7 \times 10^3$

a contaminação máxima aceitável conforme as condições regionais nas quais o mesmo será aplicado (pele sã ou lesionada).

Face ao exposto, adotou-se neste trabalho o limite máximo de 10^3 UFC/ g ou mL de produto (Brasil, 1999).

Das dez amostras avaliadas, apenas duas (amostras 5 e 9) não apresentaram crescimento microbiano. Estes resultados foram registrados como sendo menor que 100 UFC/ g ou mL de produto. Somente em uma das amostras (amostra 1) houve crescimento bacteriano. Após observação da morfologia microscópica pela coloração de Gram, foi identificado como sendo bacilos Gram positivos, excluindo-se, portanto, a possibilidade da presença de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e coliformes totais e fecais, que são os microrganismos patogênicos que devem estar ausentes de preparações cosméticas (Brasil, 1999).

Com relação à carga contaminante fúngica, determinada separadamente, pode ser concluído (Tabela 1) que as amostras apresentaram maior número de problemas se comparadas à presença de bactérias.

Confrontando os dados obtidos em relação aos padrões microbianos anteriormente referidos, em que o limite preconizado é de 10^3 UFC/g ou mL (Brasil, 1999), seis das 10 amostras avaliadas foram rejeitadas em função da presença de fungos (Tabela 1).

A alta incidência de contaminação fúngica nos produtos avaliados é preocupante pelo fato de que uma formulação com este grau de contaminação, quando aplicada sobre pele lesada, poderá propiciar o desenvolvimento de infecções, pois a pele não íntegra perde sua resistência à invasão de microrganismos (Kabara, 1984; Gompertz *et al.*, 1999).

Além disso, os fungos inferiores podem ocasionar alterações químicas nos componentes da formulação ou, no mínimo, induzi-las, conduzindo a diminuição ou a perda da estabilidade (Wilkinson & Moore, 1990). É comum, também, a produção de lipase por fungos, daí a associação da deterioração ao desenvolvimento de fungos em cremes e emulsões (Pinto *et al.*, 2000).

CONCLUSÕES

Das 10 amostras avaliadas, apenas duas não apresentaram crescimento microbiano; somente em uma houve crescimento bacteriano identificado como sendo bacilos Gram positivos, excluindo-se a possibilidade da presença

de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e coliformes totais e fecais que devem estar ausentes de preparações cosméticas não estéreis; o alto índice de contaminação fúngica encontrado foi a causa de reprovação de 60% das amostras.

Os resultados obtidos denotam a necessidade de uma maior preocupação e cuidado no cumprimento das Boas Práticas de Manipulação, que devem ser implementadas em todas as etapas do processamento, pois a qualidade de um produto cosmético se incorpora ao mesmo ao longo do processo de produção. Estas medidas preventivas, associadas a uma atuação ética alicerçada na responsabilidade, assegurarão a qualidade do produto que é oferecido ao consumidor. A preocupação com esta qualidade deve ser o princípio básico de toda Farmácia de manipulação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico que institui as Boas Práticas de Manipulação em Farmácias – BPMF. *Resolução RDC nº 33 de 19 de abril de 2000.*
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Parâmetros para Controle Microbiológico de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. *Resolução RDC nº 481 de 23 de setembro de 1999.*
- EUROPEAN Pharmacopoeia. 3. ed. Strasbourg:European Department for Quality of medicines, 1997.
- FARMACOPÉIA, Brasileira. 4. ed., São Paulo: Atheneu, 1988. pt.1.
- GOMPERTZ, O.F.; GAMBATE, W.; PAULA, C.R.; CORRÊA, B. Biologia dos fungos. In: TRABULSI, L. R.; ALBERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J.A.N. (ed). *Microbiologia*. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 1999.
- KABARA, J.J. *Cosmetic and Drug Preservation: Principles and Practice*. New York: Ed. Marcel Dekker, 1984.
- PINTO, T. de J.A.; KANEKO, T.M.; OHARA, M. T. Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. São Paulo: Atheneu, 2000. 309 p.
- REBELLO, T. Limites Microbianos. *Cosmetic & Toiletries*, v. 13, n. 4, p. 24, 2001.
- THE UNITED States Pharmacopeia. 24.ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2000.
- WILKINSON, J.B.; MOORE, R.J. *A Cosmetologia de Harry*. Madrid: Díaz de Santos, 1990. cap. 36, p.747-778.