

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

IVYLA ALANNE DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS
COSMÉTICOS NOVOS E EM USO**

Juazeiro do Norte – CE
2018

IVYLA ALANNE DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS
COSMÉTICOS NOVOS E EM USO**

Artigo apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof. Ma. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro

Juazeiro do Norte – CE

2018

IVYLA ALANNE DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS
COSMÉTICOS NOVOS E EM USO**

Artigo apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof. Ma. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro

Aprovado em ___/___/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Me. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro
Orientadora

Prof. Esp. Rakel Olinda Macedo da Silva
Examinadora 1

Prof. Me. Thassia Thaís al Yafawi
Examinadora 2

AValiação DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS COSMÉTICOS NOVOS E EM USO

Ivyla Alanne de Sousa¹, Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro²

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo a realização de pesquisa microbiológica para identificação de microrganismos em produtos cosméticos novos e em uso. Trinta produtos no total foram avaliados sendo quinze novos e quinze usados de diferentes marcas cosméticas. O preparo das amostras ocorreu utilizando o caldo de Infusão de Cérebro e Coração (BHI), para posterior pesquisa de microrganismos patogênicos utilizando meios específicos. Das quinze amostras novas de cosméticos três apresentaram contaminação por microrganismos patogênicos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Serratia marcescens* e das quinze amostras de produtos cosméticos usados três apresentaram contaminação por microrganismo patogênico *Staphylococcus aureus*. Consequentemente é importante que sejam estabelecidas normas de controle microbiológico com o propósito de se obter amostras de excelente qualidade, confiança e estabilidade.

Palavras-chave: Contaminação microbiana, cosméticos, controle de qualidade.

EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF NEW AND USED COSMETIC PRODUCTS

ABSTRACT

The present study aims to carry out microbiological research to identify microorganisms in new and used cosmetic products. Thirty products in total were evaluated being fifteen new and fifteen used of different cosmetic brands. The samples were prepared using the Brain and Heart Infusion (BHI) broth, for further investigation of pathogenic microorganisms using specific media. Of the fifteen new samples of cosmetics three were contaminated by pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *serratia marcescens* and of the fifteen samples of cosmetics used three were contaminated by pathogenic *microorganism Staphylococcus aureus*. It is therefore important that microbiological control standards are established for the purpose of obtaining samples of excellent quality, reliability and stability in order to avoid serious risks to the healthy consumer.

key words: Microbial contamination, cosmetics, quality control

¹Discente do curso de Biomedicina, Centro Universitário Leão Sampaio

²Professora Mestre em Bioprospecção molecular do curso de Biomedicina, Centro Universitário Leão Sampaio

1 INTRODUÇÃO

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na resolução da diretoria Colegiada (RDC) nº 211 de 14 de julho de 2005 define os produtos cosméticos como preparações compostas por substâncias naturais ou sintéticas, de aplicação externa nas diversas partes do corpo humano, como a pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o propósito exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência, corrigir odores corporais, protegê-los ou mantê-los em bom estado (BRASIL, 2005).

Os produtos cosméticos são utilizados pelo homem desde épocas remotas, tendo em vista que durante a pré-história os homens já pintavam o próprio corpo. Relatos históricos descrevem que os egípcios foram os primeiros usuários de cosméticos e um exemplo disso foi a utilização do verde de malaquita que era utilizado como sombra de olhos e rouge, além de um corante extraído de uma planta de origem árabe utilizada para pintar os cabelos, a henna. Registros de historiadores também relatam que a rainha Cleópatra se banhava com frequência com leite de cabra para manter a pele e cabelos hidratados (LEONARDI; RICCI, 2004).

De acordo com a Associação Brasileira das Industrias de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC) o mercado brasileiro de cosméticos está entre os mais elevados do mundo, ocupando o quarto lugar no ranking mundial, ficando atrás de EUA, China e Japão (ABIHPEC, 2016).

Todas as formulações estão sujeitas a contaminação microbiana principalmente as de base aquosa, não somente no momento da fabricação, mas também durante o consumo. Dessa forma, deve haver garantia de que essas formulações estejam devidamente conservadas (DRAELOS; JORIZZO; RAPINI, 2016).

Com o intuito de minimizar riscos microbiológicos em produtos cosméticos, a etapa mais importante é a escolha dos conservantes (SIQUEIRA, 2005). A adição de conservantes na formulação cosmética visa aumentar o tempo de vida útil do produto, impedindo dessa forma a proliferação de microrganismos como leveduras e bactérias que podem promover alterações do produto final e até mesmo causar doenças no consumidor (RABELLO, 2005).

A qualidade microbiana é uma característica essencial para o funcionamento do produto, principalmente quanto à segurança e aceitabilidade, já que a presença de microrganismos a partir de determinada quantidade promove a deterioração do mesmo, além de ocasionar riscos graves ao usuário.

A fabricação de um produto cosmético envolve desde seu projeto a sua elaboração, sendo de suma importância a garantia da qualidade do produto final para assegurar a eficácia, inocuidade e aceitabilidade pelo consumidor (OHARA; SAITO, 1992). Diante disso, o objetivo desse trabalho é analisar a qualidade microbiológica de produtos cosméticos novos e em uso e testar a inocuidade dos mesmos.

A qualidade microbiológica de produtos cosméticos representa um dos atributos essenciais para o seu desempenho satisfatório, principalmente quanto a sua segurança, qualidade, eficácia e aceitabilidade (BRASIL, 2008).

2 METODOLOGIA

2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Para realização da pesquisa foram coletadas amostras de produtos novos e em uso de diferentes marcas cosméticas. As amostras usadas foram selecionadas de forma aleatória a partir da disponibilidade destes produtos pela população. As amostras novas foram compradas de acordo com as amostras em uso obtidas para posterior comparação. No total foram analisadas 30 amostras. As análises ocorreram no laboratório de microbiologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio UNILEÃO.

As metodologias empregadas para os ensaios microbiológicos foram baseadas no guia Detecção e Identificação de Bactérias de Importância médica modulo V da Agencia Nacional de vigilância sanitária (ANVISA 2004).

2.2 PROCEDIMENTOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Coleta e processamento das amostras

Foram coletadas 15 amostras de produtos cosméticos novos e 15 amostras de produtos em uso os quais estavam dentro do prazo de validade, sendo esses de marcas diferentes, os produtos selecionados para análise foram: gel capilar, shampoo, condicionador, hidratante corporal, desodorante corporal, máscara capilar, tônico capilar, sabonete liquido, batom, creme dental, sombra de olhos, esmalte de unha, sabonete em barra, pó facial e base facial, tanto novos quanto os em uso. As amostras obtidas foram levadas em seu recipiente

original para o laboratório de microbiologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio UNILEÃO onde ficaram até o final das análises. Todos os materiais utilizados para o processamento das amostras foram previamente esterilizados.

O preparo das amostras ocorreu utilizando o caldo de Infusão de Cérebro e Coração (BHI), onde assepticamente a tampa do tubo foi removida e com o auxílio de um swab foi transferido uma pequena quantidade das amostras e incubadas em estufa bacteriológica a 35-37°C por 24 horas.

2.2.2 Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

A partir do caldo de pré-enriquecimento não seletivo, com o auxílio de uma alça bacteriológica estéril foi realizado em ágar manitol salgado um estriamento por esgotamento. As placas foram incubadas de maneira invertida em estufa bacteriológica por um período de 48 horas a 30-35°C (BRASIL, 2004).

Para a confirmação do crescimento sugestivo em ágar manitol-sal foi avaliada a morfologia através da microscopia óptica utilizando a coloração de gram e provas de coagulase utilizando o teste de aglutinação com plasma.

2.2.3 Identificação de *Pseudomonas aeruginosa*

A partir de colônias isoladas em cultura pura com 24 horas de crescimento, nos meios de inoculação primária, foi realizado o teste da oxidase e semeio em ágar mueller hinton, o qual foi incubado, de forma invertida, por um período de 48 horas a 30-35°C.

2.3 PESQUISA DE ENTEROBACTÉRIAS

A partir do caldo de pré-enriquecimento não seletivo, fez-se por esgotamento em estrias uma alçada em ágar MacConkey, o qual foi incubado, de forma invertida, por um período de 48 horas a 30 - 35°C e em ágar EMB para pesquisa de *escherichia coli* o qual foi incubado, de forma invertida, por um período de 48 horas a 30 - 35°C.

A identificação de enterobactérias foi realizada através de testes bioquímicos onde a preparação dos tubos se deu da forma tradicional, utilizando tubos de ensaio esterilizados nos quais foram adicionados 2,5 ml de meio.

2.3.1 Prova da produção da urease

Esta prova foi realizada utilizando o meio com ureia, onde em cada tubo foi acrescentado 2,5 ml de meio. A prova consistiu em transferir uma porção do crescimento bacteriano com uma alça em agulha para o meio que foi incubado em estufa bacteriológica por 24 horas a 30 - 35°C.

2.3.2 Prova da produção de indol e gás sulfídrico

Esta prova foi realizada utilizando 2,5 ml o meio SIM que contém excesso de triptofano e tiosulfato como fonte de enxofre e o sulfato ferroso como indicador da produção de sulfeto de hidrogênio. A prova consistiu em transferir uma porção do crescimento bacteriano com uma alça em agulha para o meio que foi incubado em estufa bacteriológica por 24 horas a 30 - 35°C. Após esse período de incubação para observar se houve produção de indol foi necessário adicionar ao meio 0,5 ml do reagente de Kovac's.

2.3.3. Prova do citrato

A prova foi realizada no meio sólido inclinado de citrato de Simmons onde em cada tubo foi acrescentado 2,5 ml do meio que contém azul de bromotimol como indicador, o qual em pH 6,8 a 7,0 apresenta-se na cor verde. Foi realizado um semeio com a porção do crescimento bacteriano e em seguida o meio foi incubado em estufa bacteriológica por 24 horas a 30 - 35°C.

2.3.4 Prova da fermentação de carboidratos

Essa prova foi realizada utilizando o meio ágar triplice açúcar (TSA) que tem na sua composição glicose, lactose e sacarose, em cada tubo foi acrescentado 2,5 ml de meio. Foi realizado um semeio no meio sólido inclinado com a porção do crescimento bacteriano, em seguida o meio foi incubado em estufa bacteriológica por 24 horas a 30 - 35°C.

2.3.5 Prova da fenilalanina

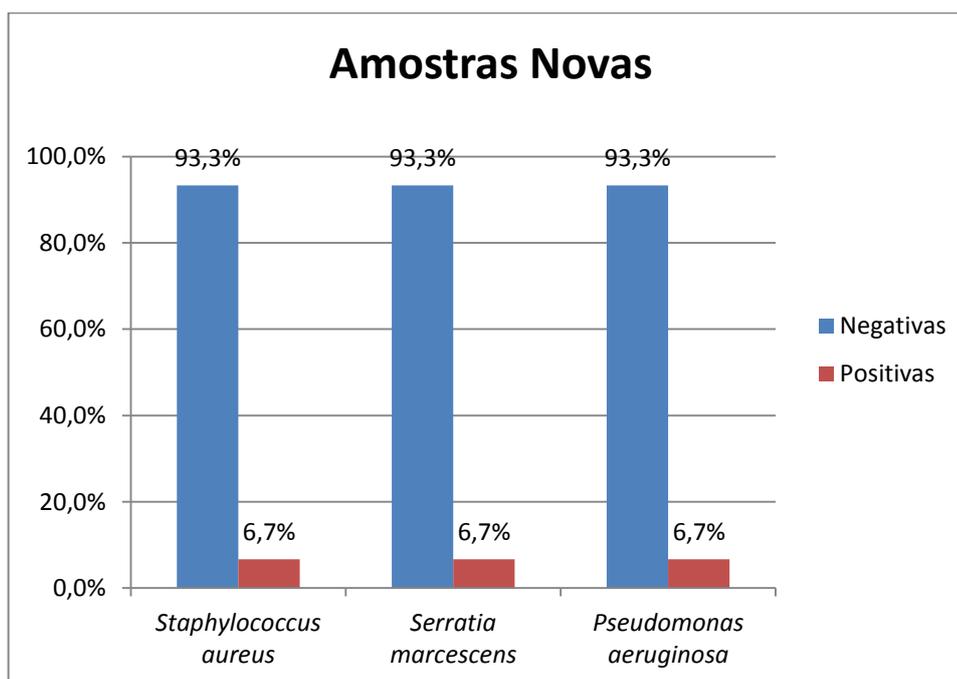
A prova foi realizada utilizando 2,5 do meio fenilalanina, no qual com uma alça em agulha foi inoculado uma porção do crescimento bacteriano e em seguida o meio foi incubado em estufa bacteriológica por 24 horas a 30 - 35°C. Para observar o resultado foi adicionado ao meio 5 gotas de cloreto férrico 10%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a RDC nº. 481, de 23 de setembro de 1999 (ANVISA) a avaliação de produtos cosméticos, perfumes e produtos para higiene pessoal devem atestar a ausência de microrganismos patogênicos que possa ocasionar risco ao consumidor, além de determinar a carga microbiana viável presente no produto (BRASIL 1999).

Da investigação realizada com as 15 amostras novas, três apresentaram presença de microrganismos patogênicos. Houve crescimento de 6,7 % de *Staphylococcus aureus* no esmalte de unha, 6,7% de *Serratia marcescens* no sabonete em barra e 6,7% de *Pseudomonas aeruginosa* na base facial. De acordo com a RDC nº. 481, de 23 de setembro de 1999 (ANVISA) para produtos do tipo I *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* devem estar ausentes.

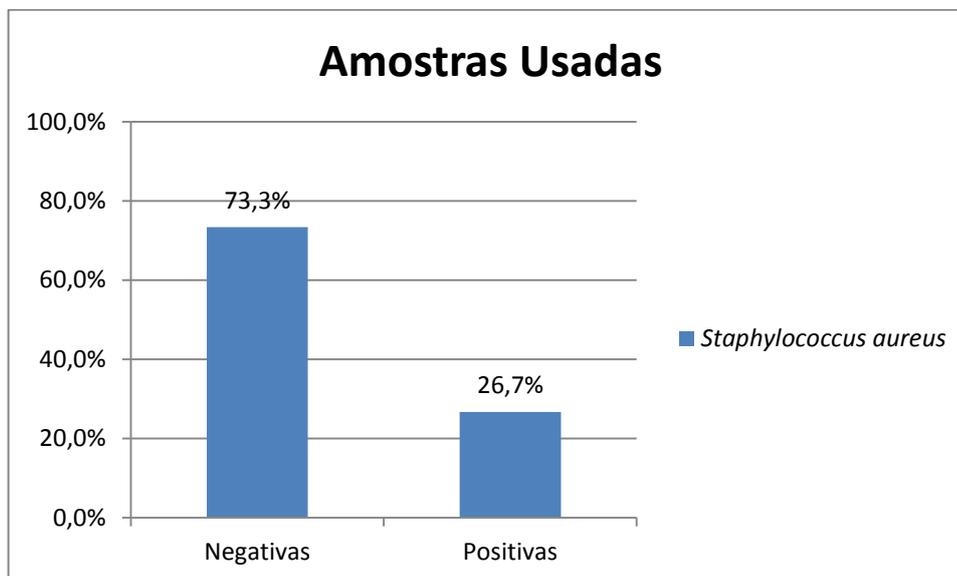
Gráfico I: Percentual do perfil de contaminação das amostras de cosméticos novas.



Fonte: Próprio autor

A análise microbiológica das amostras de produtos cosméticos em uso podem ser observadas no gráfico II. Em relação a pesquisa de microrganismos patogênicos, os resultados demonstraram que 26,7% das amostras de gel capilar, tônico capilar, batom e base facial apresentaram contaminação por *Staphylococcus aureus*.

Gráfico II: Percentual do perfil de contaminação das amostras de cosméticos.



Fonte: Próprio autor

Dessa forma, com os resultados obtidos, analisando as amostras de acordo com a RDC nº 481/1999, da ANVISA, duas amostras novas e quatro amostras usadas foram reprovadas, em consequência da presença dos patógenos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. À vista disso os resultados apontam que tais produtos tanto o novo quanto o usado o sistema conservante não cumpriu sua finalidade de proteger o produto da contaminação microbiana.

Além disso, uma amostra de produto cosmético nova apresentou a presença de *Serratia marcescens* que embora não esteja descrita na resolução nº 481/1999, da ANVISA, é um microrganismo oportunista responsável por várias infecções hospitalares (Menezes, 2004).

De acordo com o estudo de Benvenuti et al (2016) a investigação microbiológica de 15 amostras de produtos cosméticos mostrou que todas encontravam-se dentro dos limites especificados para contagem de microrganismos aeróbios totais ($< 5 \times 10^2$ UFC/g). No entanto, em relação à pesquisa de patógenos, os resultados evidenciaram que três amostras, uma de pó facial, uma de máscara para cílios e uma de sombra, apresentaram contaminação por *Staphylococcus coagulase* positiva, sugestivo para *Staphylococcus aureus*.

Em um estudo realizado por Yamamoto (2004), no qual foram analisadas 240 amostras nas formas de matérias-primas, entre elas: cremes e loções, sabonetes, xampus, condicionadores capilar, géis, extratos de plantas, cápsulas, xaropes, líquidas, emulsões, suspensões e outras, foram encontradas contaminação, onde 2 amostras foram reprovadas pela

presença de *Escherichia coli* e 1 amostra reprovada pela presença de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

Segundo um estudo realizado por Razooki, Saeed e Hamza (2009) com 60 produtos cosméticos usados foi encontrada contaminação onde o nível mais elevado de contaminação ocorreu em xampus onde foram identificados *Pseudomonas sp*, *Shigella sp* e coliformes fecais. *Pseudomonas sp* é considerada um microrganismo oportunista, pois causa doenças em indivíduos imunocomprometidos (MURRAY et al, 2000). Já a infecção ocasionada por *Escherichia coli* depende da sua composição antigênica (CAMPOS; FRANZOLIN; TRABULSI, 2004).

Bindaco; Benz e Neto (2017) realizou um estudo no qual foram analisadas seis amostras de protetores solares novos coletados de diferentes farmácias magistrais. Os resultados evidenciaram que as seis amostras de filtro solar apresentaram resultado positivo para contaminação por *Staphylococcus aureus*, segundo Pinto; Kaneko e Ohara (2013) a presença do *Staphylococcus aureus* pode estar associado a hábitos incorretos de higiene dos manipuladores do produto.

Rocha (2016) realizou uma análise da qualidade microbiológica de cremes hidratantes capilares em uso, no qual foram avaliadas seis amostras, na qual uma amostra sugeriu a presença de *Pseudomonas aeruginosa* que é uma bactéria patogênica para o ser humano. A importância clínica da infecção por *P. aeruginosa* é caracterizada através da expressão de múltipla resistência a antibacterianos associada a uma difícil erradicação da doença com elevados índices de morbidade e mortalidade (LIVEMORE, 2002).

Considerando os estudos citados acima, o presente trabalho obteve resultados semelhantes em relação à presença de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, Além disso, neste trabalho houve também a presença do microrganismo *Serratia marcescens*. Entretanto na avaliação deste estudo não houve contaminação por *Escherichia coli*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, e *Moraxella* mostrando discordância com a literatura apresentada.

De acordo com Sutton (2006) a preocupação maior relacionado a produtos cosméticos é em relação ao controle de qualidade do produto já que a presença de agentes patogênicos acarretam danos à saúde do consumidor podendo ocasionar infecções ao usuário em decorrência do produto.

4 CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos verificou-se que duas amostras novas e três usadas apresentaram-se fora dos parâmetros estabelecidos pela RDC nº 481/1999, da ANVISA, devido à confirmação da presença de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Dessa forma este estudo reforça a importância do controle de qualidade microbiológico e ressalta a importância de estabelecer normas de controle para que seja obtido um produto de excelente qualidade, confiança e estabilidade, além disso, é importante que haja comunicação com o consumidor para evitar possível contaminação do produto pelo mau uso. Essas medidas são indispensáveis como forma de evitar tanto reações adversas relativamente simples já que produtos tópicos podem ocasionar sérios riscos ao consumidor.

REFERÊNCIAS

- ABIHPEC. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS 2016. Disponível em :<<http://www.abihpec.org.br>. Acesso em: 20 de set. 2017.
- BEVENUTTI, A.S. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de maquiagens de uso coletivo. **Arq. Cienc. Saúde UNIPAR**. v. 20, n.3, p.159-163, 2016.
- BINDACO, A.L; BENZ, C.F; NETO, O.C. Análise fotoquímica e microbiológica de protetores solares produzidos nas farmácias de Colatina-ES. . **UNESC em revista**. v.20, n. 2, p.27-43. 2017.
- BRASIL. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos: uma abordagem sobre os ensaios físicos e químicos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2008.
- BRASIL. **Resolução de Diretoria Colegiada nº 332/05** Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005.
- BRASIL. **Resolução de diretoria colegiada nº 481/99** Ministerio da Saúde. Agencia Nacional de vigilância Sanitária, 1999.
- CAMPOS, L.C.; FRANZOLIN, M.R.; TRABULSI, L.R. Diarrheagenic *Escherichia coli* among the traditional enteropathogenic *E. coli* groups – a review. **Memórias do. Instituto Oswaldo Cruz**. v.99, n.6, p.545-552, 2004.
- DRAELOS, Z.D; JORIZZO, J.L; RAPINI, R.P. cosméticos e cosmecêuticos. In **bologna**. **cap.2**. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier 2016.
- LEONARDI, RICCI, G. **Cosmetologia Aplicada**. 1. ed. São Paulo: **Medfarma**, 2004
- LIVEMORE, D.M. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? **Clin Infect Dis**, v.34 n. 5 p.634-640. 2002
- MENEZES, E. A. et al . Freqüência de *Serratia* spp. em Infecções Urinárias de pacientes internados na Santa Casa de Misericórdia em Fortaleza. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 37, n. 1, p. 70-71, fev., 2004.
- MURRAY, P.R. et al. **Microbiologia médica**. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- OHARA, M.T; SAITO, T. **Aplicação do cloreto trifeniltetrazólio no teste de limite microbiano em medicamentos e cosméticos**. 1992. Tese (Doutorado em produção e controle farmacêutico)- Faculdade de ciências farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992. Acesso em 25 de mai. 2018
- PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. **Atheneu**,v.41, n.2. p.325. 2003.
- PINTO, T.J.A; KANEKO, T.M; PINTO, A.F. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. **Atheneu editora**. 2010

RABELLO, T. guias de produtos cosméticos. **Cosmetics&toiletries**. 6ª ed. 2005.

RAZOOKI, R.A; SAEED, E.N; HAMZA, H.A. A Study on Cosmetic Products Marketed in Iraq: Microbiological Aspect. *Iraq J pharm Sci, Iraq*. v.18, n. 2, p. 20-15, 2009.

ROCHA, N.S, Análise De Qualidade Microbiológica E Físico-Química De Cremes Hidratantes Capilares Comerciais Em Uso. 2016. Trabalho de conclusão de curso- Universidade de Brasília, Ceilândia, 2016.

SIQUEIRA, V.L. cuidados microbiológicos em cosméticos e produtos de higiene pessoal. **Informativo CQ-IV**. 2005.

SUTTON, S.. SINGER, D. C. Microbiological Best Laboratory Practices, USP Value and Recent Changes to a Guidance of Quality Laboratory Practices. **American Pharmaceutical Review**. V.14 n.4 p.25-43. 2006.

YAMAMOTO, C.H. et al. **Controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos produzidos na zona da mata**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2., 2004, Belo Horizonte. Anais. Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Juiz de Fora, 2004.