

Análise da contaminação microbiológica de diferentes dentifrícios

Microbiological contamination evaluation of different dentrifices

Letícia Selbach de OLIVEIRA^a, Luciana Grazziotin ROSSATO^a, Charise Dallazem BERTOL^{a*}

^aUPF – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil

Resumo

Introdução: A avaliação microbiológica em produtos de higiene pessoal constitui uma etapa importante no que se refere à segurança do usuário e à qualidade do produto, visto que a carga microbiana elevada pode acarretar problemas de saúde, especialmente em pessoas imunocomprometidas. **Objetivo:** Verificar o cumprimento das exigências acerca da qualidade microbiológica de cremes e géis dentais adquiridos comercialmente. **Material e método:** Realizou-se a contagem de bactérias e fungos viáveis totais e pesquisa dos patógenos *E. coli*, *Salmonella sp.*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* em 21 amostras. **Resultado:** Das amostras analisadas, 52,0% apresentaram crescimento microbiano e 28,6% e 0,21% apresentaram contaminação fúngica e bacteriana, respectivamente, acima dos limites descritos na Farmacopeia Brasileira para preparações de uso tópico (máximo permitido 2×10^2 UFC/g de bactérias e 2×10^1 UFC/g de fungos). Nenhuma amostra apresentou os patógenos pesquisados *E. coli*, *Salmonella sp.*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*. **Conclusão:** Estes resultados indicam que muitos produtos disponíveis no mercado apresentam qualidade inadequada, demonstrando falhas no controle de qualidade. Para prevenir esta situação, faz-se necessária fiscalização rigorosa e adoção de medidas regulamentadoras e educacionais aliadas ao seguimento das Boas Práticas de Fabricação pelas indústrias fabricantes.

Descritores: Contaminação microbiológica; controle de qualidade; cremes dentais; géis dentais.

Abstract

Introduction: Microbiological evaluation in personal care products is important to guarantee user safety and product quality since microbial contamination elicits health problems especially in immunocompromised patients. **Objective:** To verify the compliance with the requirements regarding the microbiological quality of creams and dental gels acquired commercially. **Material and method:** Microbiological contamination was performed through total bacterial and fungal viable count and research of *E. coli*, *Salmonella sp.*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* in twenty-one samples. **Result:** 52.0% of sample presented microbial growth, and 28.6% and 0.21% presented fungal and bacterial contamination, respectively, exceeding the limits described in Brazilian Pharmacopoeia for topical preparations (maximum allowable 2×10^2 CFU / g of bacteria and 2×10^1 CFU / g yeast). None of the researched pathogens *E. coli*, *Salmonella sp.*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* were found. **Conclusion:** These results indicate that many products available in the market present inadequate quality, demonstrating quality control failures. Rigorous inspection and adoption of regulatory and educational measures aligned with the compliance of Good Manufacturing Practices by manufactures are needed to prevent this situation.

Descriptors: Microbiological contamination; quality control; toothpastes; dental gels.

INTRODUÇÃO

A higiene bucal é a melhor forma de manter a saúde, prevenir e reduzir o biofilme dental, a remineralização dentária, as cáries, as placas, a halitose, as doenças bucais e as periodontais¹⁻⁴. As infecções periodontais aumentam o risco de doenças cardiovasculares, especialmente infarto do miocárdio e cerebrovasculares, bem como a endocardite bacteriana^{5,6}.

Os dentifrícios são utilizados para realizar a higiene bucal e é fundamental que estes produtos apresentem qualidade, eficácia e segurança para o usuário. São classificados como produtos grau 2, pois possuem indicações específicas e suas características exigem

comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como cuidados, modo e restrições de uso⁷.

A contaminação microbiana é um problema que afeta tanto a segurança do usuário quanto a qualidade química e física do produto, inviabilizando sua comercialização^{8,9} pois acarreta em alterações, como quebra da estabilidade, alteração do pH e das características organolépticas (cor, odor, sabor e textura), e inativação das substâncias ativas e excipientes da formulação¹⁰. Produtos farmacêuticos constituem uma fonte rica em nutrientes para o crescimento de microrganismos devido às suas composições. Produtos contendo

matérias-primas de origem natural e com elevado teor de água são os que apresentam maior susceptibilidade à contaminação⁹.

O risco de infecção associado aos produtos deve ser avaliado considerando-se a finalidade de uso, as condições sob as quais o produto será utilizado, a população exposta, a frequência e o tempo de exposição. Em indivíduos saudáveis, o contato com produtos contaminados, normalmente, não representa sérios problemas. Entretanto, em pacientes imunodeficientes (leucemia, diabetes, AIDS) ou de extrema idade (crianças ou idosos), pode ocorrer infecção. A indução de uma infecção depende de fatores, como a quantidade de microrganismos disponível e o seu grau de patogenia. Para preparações tópicas, inóculos de 10⁶ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) são necessários para produção de processos infecciosos (pus) em pele íntegra, mas apenas 10² UFC são suficientes quando a pele apresenta-se traumatizada ou sob oclusão¹¹⁻¹³. Os organismos frequentemente encontrados em produtos farmacêuticos são os patogênicos oportunistas e incluem *Pseudomonas*, enterobactérias, *Flavobacterium* e *Staphylococcus*¹¹.

Para a obtenção de um produto de qualidade microbiológica adequada, torna-se necessário garantir que a carga microbiana seja a menor possível, de acordo com os limites legalmente permitidos, além da ausência de microrganismos patogênicos⁹. Diante do exposto, este trabalho objetivou avaliar a contaminação microbiológica de dentifrícios por meio da contagem de microrganismos viáveis totais e a pesquisa de patógenos, verificando o cumprimento das regulamentações de qualidade.

MATERIAL E MÉTODO

Amostras

Foram adquiridas, comercialmente, 18 cremes (A1-A18) e três géis dentais (A19-A21) para uso adulto, de diferentes marcas e fabricantes (n = 21 amostras, um exemplar de cada dentifrício).

Todas as formulações apresentaram flúor (monofluorofosfato de sódio) como ingrediente ativo, além de outros compostos auxiliares na atividade antimicrobiana, como, por exemplos: menta, menta e acerola, menta e própolis, eucalipto, cálcio, juá e hortelã, extratos vegetais e bicarbonato de sódio, limoneno e alantoína.

Contagem de Microrganismos Viáveis Totais

Na contagem de microrganismos viáveis totais, foram utilizadas 10 g de cada amostra diluídos em neutralizante universal (lecitina, tween 80, tiossulfato de sódio pentaidratado, L-histidina, peptona pancreática, cloreto de sódio, fosfato monopotássico, fosfato dissódico, água), até as concentrações de 1:10, 1:100 e 1:1.000. As análises para cada diluição foram efetuadas em duplicata. As amostras foram semeadas em profundidade (*Pour Plate*), onde 1 mL de cada diluição foi adicionado em placas de Petri, seguido da adição de 15 mL de ágar soja-caseína e ágar Sabouraud-dextrose liquefeito (à temperatura de 40 °C), para a contagem de bactérias e fungos, respectivamente. As placas foram incubadas a 35 °C ± 1 °C por cinco dias e, a 25 °C ± 1 °C por sete dias, para a contagem de bactérias e fungos, respectivamente¹⁴. Os meios de cultura foram preparados conforme as especificações dos fabricantes. Todos os meios de

cultura e vidrarias utilizadas foram esterilizados em autoclave (CS-Prismate) a 121 °C por 20 minutos. Todas as análises foram realizadas em capela de fluxo laminar (DELEO), acompanhadas de controle ambiental e dos meios de cultura, a fim de garantir que a contaminação avaliada procedesse unicamente das amostras.

Pesquisa de Patógenos

Cerca de 1 g de cada amostra foi enriquecido em caldo (contendo peptona de caseína, extrato de levedura, extrato de carne, cloreto de sódio, dextrose, fosfato dipotássico, fosfato monopotássico, tween, água) a 35 °C por 48 h. Após esse período, pelo método de semeadura em superfície, foram realizadas estrias do caldo contendo as amostras enriquecidas, com alça de platina, em meios de cultura seletivos Ágar Mc Conkey, Ágar verde-brilhante, Ágar Vogel-Johnson e Ágar cetrimida, para a pesquisa dos patógenos: *E. coli*, *Salmonella sp.*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, respectivamente.

RESULTADO

Das 21 amostras de cremes e géis dentais, 57,0% apresentaram crescimento microbiológico de fungos e leveduras (Figura 1), sendo que, destas, 28,7% apresentaram contaminação fúngica acima dos limites estabelecidos, estando reprovadas no ensaio de contagem de microrganismos viáveis totais. Os cremes dentais A5 - A7 e A10 - A14, e o gel dental A21 não apresentaram crescimento fúngico.

Das 21 amostras, somente a A1 (0,21%) apresentou crescimento bacteriano (3,16 × 10² UFC/g) acima dos limites permitidos pela Farmacopeia.

Em relação à pesquisa de patógenos nos meios seletivos, as amostras estavam isentas de contaminação, ou seja, não houve o aparecimento de colônias suspeitas dos patógenos *E. coli*, *Salmonella sp.*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

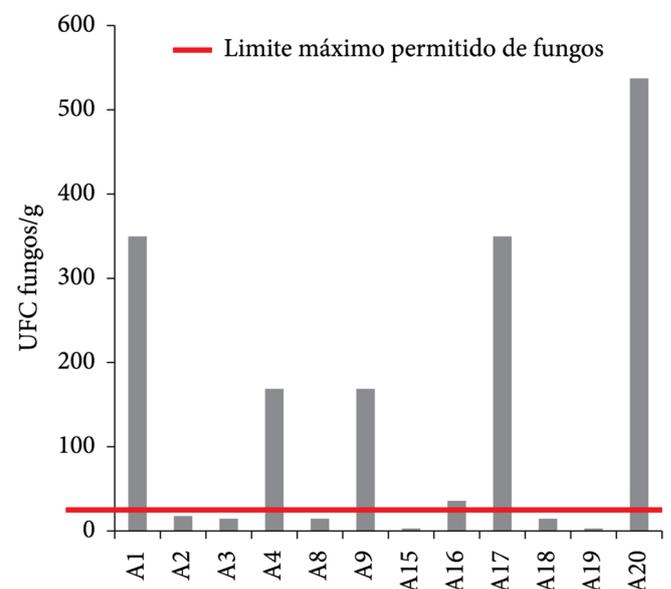


Figura 1. Crescimento microbiológico de fungos e leveduras nas amostras de cremes e géis dentais.

DISCUSSÃO

A maioria das amostras apresentava em sua composição compostos que apresentam atividade antimicrobiana comprovada, como, por exemplos, a menta e a hortelã (ambos do mesmo gênero *Mentha*)^{15,16}, o eucalipto^{17,18}, o própolis^{19,20}, a acerola²¹, o juá^{22,23}, extratos vegetais e minerais, como flúor²⁴, cálcio²⁵ e bicarbonato de sódio²⁶. A eficácia de cremes dentais contendo antimicrobianos naturais contra biofilmes orais já foi comprovada²⁷. Neste sentido, as composições das formulações analisadas apresenta potencial antibacteriano, prevenindo a contaminação por bactérias.

Em relação aos fungos, o número de estudos mostrando a eficácia antifúngica dos componentes presentes em cremes dentais é menor. Yigit et al.²⁸ avaliaram o efeito de cremes dentais frente a espécies de *Candida* e observaram boa atividade, assim como Abirami, Venugopal²⁹ e Adwan et al.³⁰.

A Farmacopeia Brasileira,¹⁴ assim como as outras Farmacopeias, estabelece para produtos tópicos que entram em contato com a oromucosa e a gengiva, como os cremes e géis dentais, no máximo 2×10^2 UFC/g e 2×10^1 UFC/g para contagem de bactérias e de fungos/leveduras, respectivamente, além de ausência de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em 1 g. Considerando-se estas especificações, pode-se dizer que 28,6% das amostras foram reprovadas, apresentando quantidade de fungos maior que a estabelecida. Entretanto, cita-se como limitação deste estudo o uso de apenas uma amostra de cada lote e estes resultados podem ter sido encontrados ao acaso.

A contaminação microbiana prejudica o consumidor e o produto, e ocasiona prejuízos para as indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia. Mesmo que os produtos apresentem em suas composições conservantes que previnem o crescimento microbiano, elevadas quantidades de microrganismos podem degradar a ação conservante, comprometendo a qualidade e a segurança do produto³¹. Ademais, produtos contaminados representam risco de infecção em pacientes imunocomprometidos¹¹. Portanto, é fundamental evitar esta contaminação, incluindo cuidados, além da matéria-prima, com os ambientes, superfícies e pessoas, e com os equipamentos nas áreas de produção³².

Aproximadamente 200 espécies de fungos (*Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*) são toxigenéticas, pois produzem micotoxinas que podem ocasionar intoxicações. O substrato disponível e as condições do ambiente são determinantes para a produção de micotoxinas. As aflatoxinas são altamente tóxicas e carcinogênicas, tornando-se um

contaminante preocupante em produtos farmacêuticos. Intoxicações e problemas, como alterações hepáticas, renais, circulatórias, digestivas e neuronais, podem ocorrer devido à ingestão destas substâncias³³. Na literatura, não existem estudos relacionados à presença de micotoxinas em cremes e géis dentais, porém não se pode excluir a possibilidade de encontrá-las, já que em mais da metade das amostras analisadas observou-se o crescimento de fungos e leveduras.

A escovação é o método mais comum de higiene pessoal para a remoção de placa bacteriana e a promoção da saúde oral. As escovas de dente em uso tornam-se rapidamente fontes de contaminação por uma infinidade de microrganismos orais, incluindo bactérias, vírus e fungos³⁴. Dessa forma, os cremes e géis dentais não devem promover esta contaminação microbiológica ou não devem se contaminar com os microrganismos presentes na escova dental, em virtude de aumentar o risco de infecção. Este trabalho foi realizado com os dentífricos lacrados e, mesmo assim, observou-se contaminação, o que indica que, após o uso, essa contaminação tende a aumentar.

O seguimento das Boas Práticas de Fabricação, o controle da qualidade microbiológica e o conhecimento das principais fontes de contaminação durante o processo produtivo são imprescindíveis para garantir qualidade e segurança do produto¹², que pode ser feito através da implantação de rotinas de limpeza e processos de desinfecção e esterilização, envolvendo os pontos críticos no fluxo de produção, sem excluir as pessoas que interagem com o processo⁸.

Os insumos farmacêuticos, os medicamentos e outros produtos sujeitos à vigilância sanitária devem atender às normas e especificações estabelecidas na Farmacopeia Brasileira¹⁴. Dessa forma, é importante um controle mais rigoroso na fabricação dos cremes e géis dentais, já que são produtos que entrarão em contato direto com a cavidade oral.

CONCLUSÃO

Estes resultados indicam falhas nas boas práticas de fabricação e no controle de qualidade das indústrias fabricantes, bem como demonstram a necessidade de controle e fiscalização rigorosa, com adoção de medidas regulamentadoras e educativas. Além disso, é necessário definir medidas adequadas de Boas Práticas de Fabricação, rotinas de limpezas e controle para garantir um bom nível de qualidade e segurança deste tipo de produto desde o preparo, a manipulação até o produto final.

REFERÊNCIAS

1. Abegg C. Hábitos de higiene bucal de adultos porto-alegrenses. Rev Saude Publica. 1997 Dec;31(6):586-93. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89101997000700007>. PMID:9629714.
2. Pion FLB, Araujo MWB, Feres M, Cortelli SC. Condição periodontal de um subgrupo populacional do município de Guarulhos, SP. Rev Bras Epidemiol. 2006 Set;9(3):335-45. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2006000300008>.
3. Macgregor ID, Balding JW. Toothbrushing frequency and personal hygiene in 14-year-old schoolchildren. Dent Health (London). 1988 Apr-May;27(2):12-5. PMID:3215374.
4. Soares EFS, Novais TO, Freire MCM. Hábitos de higiene bucal e fatores relacionados em adultos de nível socioeconômico baixo. Rev Odontol UNESP. 2009 Jul-Ago;38(4):228-34.

5. Tsutsumi C, Kakuma T. Regular tooth brushing is associated with a decreased risk of metabolic syndrome according to a medical check-up database. *Kurume Med J*. 2015 Mar;61(3-4):43-52. <http://dx.doi.org/10.2739/kurumemedj.MS64004>. PMID:25810422.
6. Zeigler CC, Wondimu B, Marcus C, Modéer T. Pathological periodontal pockets are associated with raised diastolic blood pressure in obese adolescents. *BMC Oral Health*. 2015;15(1):41. <http://dx.doi.org/10.1186/s12903-015-0026-6>. PMID:25884594.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 07, de 10 de fevereiro de 2015. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, 11 de fevereiro de 2015 [citado em 2016 Jan 12]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2015/rdc0007_10_02_2015.pdf
8. Eguchi SY. Controle microbiológico em cosméticos. *Rev Racine*. 2001 Set-Out;64:14-20.
9. Moreira MF, Marques ML. Análises microbiológicas de protetor solar manipulado nas farmácias magistrais do município de Ipatinga/MG. *Rev Bras Farm*. 2009;90(2):137-43.
10. Kabara JJ. *Cosmetic and drug preservation: principles and practice*. New York: Marcel Dekker; 1984.
11. Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. São Paulo: Atheneu; 2000.
12. Bugno A, Buzzo AA, Pereira TC. Avaliação da qualidade microbiológica de produtos saneantes destinados à limpeza. *Rev Bras Ciênc Farm*. 2003 Set;39(3):335-40. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322003000300013>.
13. De Lorenzo JL. *Microbiologia para o estudante de odontologia*. São Paulo: Atheneu; 2004.
14. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. *Farmacopeia Brasileira*. Brasília: ANVISA; 2010. v. 1.
15. Saeidi S, Hassanpour K, Ghamgosha M, Heiat M, Taheri RA, Mirhosseini A, et al. Antibacterial activity of ethyl acetate and aqueous extracts of *Mentha longifolia* L. and hydroalcoholic extract of *Zataria multiflora* Boiss. plants against important human pathogens. *Asian Pac J Trop Med*. 2014 Sep;7(Supl 1):S186-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60229-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60229-7). PMID:25312118.
16. Singh R, Shushni MAM, Belkheir A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arab J Chem*. 2015 May;8(3):322-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.019>.
17. Franco J, Nakashima T, Franco L, Boller C. Composição química e atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus cinerea* F. Mull. ex Benth., Myrtaceae, extraído em diferentes intervalos de tempo. *Rev Bras Farmacogn*. 2005 Set;15(3):191-4. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2005000300004>.
18. Silveira SM, Cunha A Jr, Scheuermann GN, Secchi FL, Verruck S, Krohn M, et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2012;71(3):471-80.
19. Gebara ECE, Lima LA, Mayer MPA. Propolis antimicrobial activity against periodontopathic bacteria. *Braz J Microbiol*. 2002 Dec;33(4):365-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822002000400018>.
20. De Vecchi E, Drago L. Propolis' antimicrobial activity: what's new? *Infez Med*. 2007 Mar;15(1):7-15. PMID:17515670.
21. Delva L, Goodrich-Schneider R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. *Int J Food Sci Technol*. 2013 May;48(5):1048-56. <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.12061>.
22. Silva TCL, Almeida CCBR, Veras Filho J, Peixoto Sobrinho TJS, Amorim ELC, Costa EP, et al. Atividades antioxidante e antimicrobiana de *Ziziphus joazeiro* mart. (Rhamnaceae): avaliação comparativa entre cascas e folhas. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2011;32(2):193-9.
23. Ribeiro BD, Alviano DS, Barreto DW, Coelho MAZ. Functional properties of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and juá (*Ziziphus joazeiro*): critical micellar concentration, antioxidant and antimicrobial activities. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2013 Sep;436:736-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.08.007>.
24. Marquis RE. Antimicrobial actions of fluoride for oral bacteria. *Can J Microbiol*. 1995 Nov;41(11):955-64. <http://dx.doi.org/10.1139/m95-133>. PMID:7497353.
25. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB, et al. *In vitro* antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. *Braz Dent J*. 2002;13(3):155-61. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-64402002000300002>. PMID:12428587.
26. Corral LG, Post LS, Montville TJ. Antimicrobial activity of sodium bicarbonate. *J Food Sci*. 1988 May;53(3):981-2. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb09005.x>.
27. Verkaik MJ, Busscher HJ, Jager D, Slomp AM, Abbas F, van der Mei HC. Efficacy of natural antimicrobials in toothpaste formulations against oral biofilms *in vitro*. *J Dent*. 2011 Mar;39(3):218-24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2010.12.007>. PMID:21195122.
28. Yigit N, Aktas E, Ayyildiz A. Antifungal activity of toothpastes against oral *Candida* isolates. *J Mycol Med*. 2008;18(3):141-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2008.06.003>.
29. Abirami CP, Venugopal PV. *In vitro* evaluation of the antifungal activity of toothpastes. *J Mycol Med*. 2005 Dec;15(4):247-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2005.06.003>.
30. Adwan G, Salameh Y, Adwan K, Barakat A. Assessment of antifungal activity of herbal and conventional toothpastes against clinical isolates of *Candida albicans*. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012 May;2(5):375-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60059-8](http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60059-8). PMID:23569933.
31. Hugo WB. The degradation of preservatives by microorganisms. *Int Biodeterior*. 1991;27(2):185-94. [http://dx.doi.org/10.1016/0265-3036\(91\)90010-O](http://dx.doi.org/10.1016/0265-3036(91)90010-O).

32. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada - RDC N° 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos. Diário Oficial da União. Brasília, 19 de abril de 2010 [citado em 2015 Jul 30]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0017_16_04_2010.html
33. Vecchia AD, Castilhos-Fortes R. Contaminação fúngica em granola comercial. Rev Ciênc Tecnol Aliment. 2007 Jun;27(2):324-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000200020>.
34. Bezirtzoglou E, Cretoiou SM, Moldoveanu M, Alexopoulos A, Lazar V, Nakou M. A quantitative approach to the effectiveness of ozone against microbiota organisms colonizing toothbrushes. J Dent. 2008 Aug;36(8):600-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2008.04.007>. PMID:18502558.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

*AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Charise Dallazem Bertol, UPF – Universidade de Passo Fundo, Campus I, Curso de Farmácia, Km 292, BR 285, Bairro São José, 99052-900 Passo Fundo - RS, Brasil, e-mail: charise@upf.br

Recebido: Maio 21, 2015
Aprovado: Outubro 28, 2015