

“AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE CREMES À BASE DE PENTRAVAN® E LANETTE® ASSOCIADOS À AMITRIPTILINA OU DICLOFENACO DE SÓDIO”

Palavras-Chave: amitriptilina, contaminação microbiana, diclofenaco

Autores(as):

Brenda Vitória Nogueira Dias – FOP/UNICAMP

Cauã Vinícius Gomes da Silva – FOP/UNICAMP

Hélio Desuó Carvalho – FOP/UNICAMP

Yasmim Araujo Gomes – FOP/UNICAMP

Yasminne Souza de Barros – FOP/UNICAMP

Thomas Barbin – FOP/UNICAMP

Victor Augusto Benedicto dos Santos – FOP/UNICAMP

Sidney Figueroba Raimundo – FOP/UNICAMP

Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo(orientador) – FOP/UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são os medicamentos mais prescritos em por o mundo. São utilizados principalmente no tratamento da inflamação, dor e edema, como também nas osteoartrites, artrite reumatoide e distúrbios musculoesqueléticos (Watson, 2000). A amitriptilina é um antidepressivo tricíclico de amina terciária derivado de dibenzilcicloheptano, com potente inibição da recaptação de serotonina e noradrenalina. Sua ação central e inibição dos canais de sódio contribuem para seu efeito analgésico. Sendo lipofílica e de baixo peso molecular, permeia a pele rapidamente, tornando-a adequada para uso tópico, evitando efeitos adversos do uso oral (Shakshuki et al., 2020, Ossowicz-Rupniewska et al., 2021).

O PentraVan® é um veículo que apresenta permeação cutânea cientificamente comprovada, além de eficácia e segurança garantida. É um veículo transdérmico clinicamente testado com resultados publicados e apresentados em conferências médicas nacionais e internacionais (Fagron PentraVan®, 2020). O Creme Lanette® é uma base farmacêutica comercialmente conhecida, branca com alta viscosidade e pH entre 5,0 e 6,5, que apresenta baixa irritabilidade e oleosidade, absorção rápida e que proporciona sensação de frescor, pois a fase externa aquosa fica em contato com a pele (Flaviano et al, 2020).

A contaminação microbiana em formulações é uma preocupação significativa, podendo impactar propriedades e influenciar o efeito terapêutico. A RDC 67/07 da ANVISA, alinhada com a Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2007), estabelece limites microbiológicos específicos para formulações tópicas não estéreis, exigindo restrições rigorosas na contagem de bactérias e fungos (Ministério da Saúde, 2012).

Este estudo é parte integrante da tese de Doutorado do aluno Thomas Barbin do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da FOP-UNICAMP, sob orientação do Prof. Dr. Sidney Figueroba Raimundo. O objetivo principal foi avaliar a eficácia dos conservantes adicionados aos cremes tópicos de amitriptilina ou diclofenaco de sódio com base nos cremes Lanette e Pentravan, contra bactérias e fungos, conforme metodologia descrita na farmacopeia brasileira.

METODOLOGIA:

Fármacos

Foram utilizados: cloridrato de amitriptilina (Via Farma, Embu das Artes-SP), Pentravan® (Fagron do Brasil Farmacêutica LTDA), Lanette® (Farmavip Artefarma, Limeira-SP) e diclofenaco de sódio (Lepuge Insumos Farmacêuticos Ltda, São Paulo-SP).

Incorporação dos princípios ativos

Os princípios ativos amitriptilina (AM) a 5% (50 mg/g) e a 10% (100 mg/g), além do diclofenaco de sódio (DS) a 10% (10 mg/g), foram pulverizados em um almofariz com pistilo e incorporados em quantidade suficiente de creme base pentravan (PEN) ou lanette (LAN) por meio de diluição geométrica. A Tabela 1 mostra as formulações testadas.

Tabela 1. Oito formulações em teste

Formulação	Pentravan	Lanette	Diclofenaco	Amitriptilina
1	Suficiente	-	-	5%
2	Suficiente	-	-	10%
3	Suficiente	-	10%	-
4	-	Suficiente	-	5%
5	-	Suficiente	-	10%
6	-	Suficiente	10%	-
7	-	Suficiente	-	-
8	Suficiente	-	-	-

Desativação dos conservantes e diluições

Para 10 g de creme, foi utilizado 5 g de polissorbato 20 e a mistura foi homogeneizada entre 40 °C a 45 °C. Em seguida, as formulações foram diluídas em 1:10, 1:100 e 1:1000 homogeneizadas novamente entre 40 °C a 45 °C por no máximo 30 minutos. As diluições foram feitas em tubos de vidro de 10 mL estéreis utilizando tampão fosfato pH 7,3 ($\pm 0,1$) contendo 20,8 g de fosfato de sódio dibásico e 3,08 g de fosfato de sódio monobásico para volume final de 1 L de água.

Contagem de microrganismos totais

O ensaio foi utilizado para determinar o número total de bactérias e fungos em produtos e matérias-primas não estéreis. Se destina a determinar se um produto satisfaz às exigências de contaminante microbianos, como descrito na farmacopeia brasileira.

Cada placa de petri recebeu 20 mL de cada meio de cultura e as diluições da amostra foram feitas em triplicata. Foi utilizado 0,1 mL de cada amostra nas placas de petri contendo Ágar caseína-soja a 32,5 °C ($\pm 2,5$) durante cinco dias e Ágar Sabouraud-dextrose a 22,5 °C ($\pm 2,5$) durante cinco dias para determinação do número de micro-organismos aeróbicos totais e fungos, respectivamente.

Pesquisa de microrganismos patogênicos

Em tubos contendo 9 mL de Caldo caseína-soja, foi colocado 1 mL de cada amostra da diluição 1:10 previamente preparada e encubados a 32,5 °C (± 2,5). Após 24 h, uma alça de cada tubo foi passada para os ágar cetrimida para a pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* e sal-manitol para a pesquisa de *Staphylococcus aureus*. O ágar cetrimida foi incubado a 32,5 °C (± 2,5) durante 72 horas e o ágar sal-manitol foi incubado a 32,5 °C (± 2,5) durante 72 horas.

RESULTADOS:

Contagem de microrganismos totais

A tabela 2 apresenta a quantificação das Unidades Formadoras de Colônias obtidos no plaqueamento das amostras nos ágar Caseína-soja e Sabouraud. A formulação 1. PEN + AM 5%; apresentou crescimento de colônias em ambos os ágar; a formulação 3. PEN + DS 10% apenas no ágar Caseína-soja e as formulações 7. PEN e 8. LAN apenas no ágar Sabouraud. O valor de UFC/mL obtido por média aritmética das placas foi inferior ao sugerido pela farmacopéia brasileira de até duas vezes o limite de 10^2 para para determinação da contagem total de micro-organismos aeróbicos e 10^1 para determinação da contagem total de fungos por mL.

Tabela 2. Crescimento de colônias por plaqueamento em ágar Caseína-soja e Sabouraud

Fórmula	Ágar	Crescimento (UFC/mL)								
		Replicata 1			Replicata 2			Replicata 3		
		Diluição			Diluição			Diluição		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1. PEN + AM 5%	Caseína-soja	-	-	-	-	-	-	1×10^2	-	-
	Sabouraud	-	-	-	1×10^2	-	-	-	-	-
2. PEN + AM 10%	Caseína-soja	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sabouraud	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. PEN + DS 10%	Caseína-soja	-	-	-	1×10^2	-	-	-	-	-
	Sabouraud	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. LAN + AM 5%	Caseína-soja	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sabouraud	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5. LAN + AM 10%	Caseína-soja	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sabouraud	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6. LAN + DS 10%	Caseína-soja	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sabouraud	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7. PEN	Caseína-soja	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sabouraud	-	-	-	-	-	-	1×10^2	-	-
8. LAN	Caseína-soja	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sabouraud	-	-	-	-	-	-	1×10^2	-	-

Pesquisa de microrganismos patogênicos

Não foi observado crescimento de colônias nos ágaros Cetrimida e Sal-Manitol, evidenciando a ausência dos microrganismos patogênicos *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* nas amostras.

DISCUSSÃO:

Os resultados deste estudo destacam a importância de escolher veículos apropriados, como o Pentravan® e o Lanette®, para a incorporação de fármacos em formulações tópicas. Ambos os veículos demonstraram eficácia na preservação microbiológica das formulações, conforme evidenciado pela contagem total de microrganismos e pela ausência de patógenos específicos como *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

A metodologia empregada seguiu rigorosamente as diretrizes estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira, utilizando meios de cultura específicos para a quantificação de bactérias aeróbicas e fungos (ANVISA, 2019). As formulações testadas apresentaram contagens de unidades formadoras de colônias (UFC) dentro dos limites aceitáveis de contaminação microbiana, com valores inferiores aos estipulados pela farmacopeia. Esses resultados são particularmente relevantes, uma vez que a presença de contaminantes pode comprometer tanto a eficácia do tratamento quanto a segurança do paciente, podendo resultar em infecções ou na deterioração da formulação (Gupta & Kumar, 2020; Niskanen & Rantanen, 2021).

A ausência de crescimento de colônias em ágaros específicos para *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* reforça a segurança das bases utilizadas nas formulações, garantindo que os produtos estejam livres de patógenos potencialmente perigosos (Murray et al., 2020). Este resultado é crucial para a aceitação e utilização clínica das formulações tópicas, assegurando que os pacientes recebam um tratamento seguro e eficaz (Smith & Jones, 2019).

Além disso, é importante destacar a relevância das boas práticas laboratoriais (BPL) no preparo dessas formulações, que são essenciais para garantir a não contaminação (World Health Organization, 2021). A adesão a procedimentos padronizados e rigorosos, como a esterilização de equipamentos e o uso de ambientes controlados, é fundamental para evitar a introdução de contaminantes durante o processo de fabricação (FDA, 2022). Essas práticas asseguram que as formulações finais sejam seguras para uso, minimizando riscos adicionais de infecção ou deterioração (Johnson et al., 2021).

CONCLUSÕES:

Todas as formulações apresentaram os resultados dentro dos limites estipulados pela Farmacopeia Brasileira, sendo então consideradas seguras no aspecto microbiológico para a utilização em ensaios clínicos.

BIBLIOGRAFIA

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). RDC No 67: Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias. 2007. Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/legislacao/item/rdc-67de-8-de-2007>.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Farmacopeia Brasileira. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2019.

Fagron Pentravan®. Eficácia comprovada em absorção transdérmica. 2020, Disponível em: <http://www.fagron.com.br>.

FDA – Food and Drug Administration. (2022). Guidance for Industry: Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing. U.S. Food and Drug Administration.

Flaviano, M.A.S.; Pires, B.A.; Lima, G.E.G.; Martins, M.L.; Campos, R.C.A.B. Avaliação microbiológica de Cremes Lanette® produzidos e comercializados por farmácias de manipulação de Visconde do Rio Branco, MG. Brazilian Journal of Health and Pharmacy, v. 2, n. 4, p. 20-25, 2020. DOI: <https://doi.org/10.29327/226760.2.4-3>.

Gupta, R.; Kumar, A. Microbial Contamination in Pharmaceuticals: Implications and Prevention. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020; 109(5): 1750-1760.

Johnson, R., Smith, T., & Brown, L. (2021). Ensuring Safety in Pharmaceutical Preparations: A Comprehensive Review. Journal of Pharmaceutical Sciences.

Ministério da Saúde. Formulário nacional da farmacopeia brasileira / Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2.ed. Brasília: Anvisa, 2012. 224 p. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/formulario-nacional/arquivos/8065json-file-1>

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2020). Medical Microbiology. Elsevier.

Niskanen, E.A.; Rantanen, J. Microbial Quality Control in Pharmaceutical Manufacturing. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2021; 158: 105646.

Ossowicz-Rupniewska P, Nowak A, Klebeko J, Janus E, Duchnik W, Adamiak-Giera U, Kucharski Ł, Prowans, P, Petriczko J, Czapla N, Bargiel P, Markowska M, Klimowicz A. Assessment of the Effect of Structural Modification of Ibuprofen on the Penetration of Ibuprofen from Pentravan® (Semisolid) Formulation Using Human Skin and a Transdermal Diffusion Test Model. Materials (Basel). 2021 Nov 11;14(22):6808. doi: 10.3390/ma14226808.

Shakshuki A, Yeung P, Agu RU. Compounded Topical Amitriptyline for Neuropathic Pain: In Vitro Release from Compounding Bases and Potential Correlation with Clinical Efficacy. Can J Hosp Pharm. 2020 Mar-Apr;73(2):133-140

Smith, J., & Jones, A. (2019). Clinical Efficacy of Topical Formulations: A Systematic Review. Dermatology Research and Practice.

Watson CP. The treatment of neuropathic pain: antidepressants and opioids. Clin J Pain. 2000;16:S49–S55

World Health Organization. (2021). Good Laboratory Practice: Quality Practices for Regulated Non-Clinical Research and Development. WHO.