

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO DE *MELALEUCA ALTERNIFOLIA* COMPARADA A CONSERVANTES QUÍMICOS USADOS EM BASES COSMÉTICAS

Antimicrobial activity of melaleuca alternifolia oil compared to chemical preservatives used in cosmetic bases

Actividad antimicrobiana del aceite de melaleuca alternifolia comparada a conservantes químicos utilizados en bases cosméticas

RESUMO

A contaminação microbiana é um dos problemas da indústria cosmética, uma vez que pode trazer ameaças à saúde humana. Os conservantes químicos disponíveis apresentam algum risco de hipersensibilidade e, por isso, há esforços para o uso de compostos naturais, como os óleos essenciais. O objetivo deste trabalho foi testar a ação antimicrobiana do óleo de *Melaleuca alternifolia* para uso como conservante de bases cosméticas comparado a parabenos. O método utilizado foi o teste de difusão em ágar com diferentes concentrações dos conservantes testados contra *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Os resultados indicaram que o óleo de melaleuca atende aos requisitos de atividade antimicrobiana, pois produziu halos de inibição semelhantes ou maiores aos observados nos parabenos. A pesquisa demonstra que o óleo de Melaleuca pode ser uma eficaz alternativa natural aos conservantes químicos parabenos, embora sejam necessários mais estudos sobre rendimento, custo de produção e desempenho com outras concentrações desse óleo.

Descritores: Agentes Antimicrobianos, Conservantes em Cosméticos, Óleos Essenciais.

ABSTRACT

Microbial contamination is one of the problems of the cosmetic industry as it brings threats to human health. Chemical preservatives available pose some risk of hypersensitivity and therefore there are efforts to use natural compounds such as essential oils. The objective of this work was to test the antimicrobial action of *Melaleuca alternifolia* oil for use as a preservative of cosmetic bases compared to parabens. The method used was the diffusion test in agar with different concentrations of preservatives tested against *Escherichia coli* and *Candida albicans*. The results indicated that melaleuca oil meets the requirements of antimicrobial activity, as it produced inhibition halos similar to or greater than those observed in parabens. Research shows that Melaleuca essential oil may be an effective natural alternative to parabens chemical preservatives, although further studies on yield, cost of production and performance are needed with other concentrations of this oil.

Descriptors: Antimicrobial Agents, Preservatives, Essential Oils.

RESUMEN

La contaminación microbiana es uno de los problemas de la industria cosmética, ya que trae amenazas a la salud humana. Los conservantes químicos disponibles en el mercado presentan algún riesgo de hipersensibilidad y, por lo tanto, hay esfuerzos para el uso de compuestos naturales, como los aceites esenciales. El objetivo de este trabajo fue probar la acción antimicrobiana del aceite de *Melaleuca alternifolia* para su uso como conservante de bases cosméticas comparado a parabenos. El método utilizado fue la prueba de difusión en agar con diferentes concentraciones de los conservantes probados contra *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Los resultados indicaron que el aceite de melaleuca atiende a los requisitos de actividad antimicrobiana, pues produjo halos de inhibición semejantes o mayores a los observados en los parabenos. La investigación demuestra que el aceite de Melaleuca puede ser una alternativa natural a los conservantes químicos parabenos, aunque se necesitan más estudios sobre rendimiento, costo de producción y desempeño con otras concentraciones de ese aceite.

Descriptorios: Acción Antimicrobiana, Aditivos para Cosméticos, Aceites Volátiles.

Janara de Camargo Matos

Bióloga. Professora da Faculdade de
Tecnologia de Praia Grande - FATECPG,
Mestre em Ciências, Doutoranda em
Saúde Coletiva.

E-mail: janara.matos@fatecpg.com.br

Nina Rosa Santos Cruz

Farmacêutica da Prefeitura de Cubatão/SP
e Tecnóloga em Processos Químicos.
E-mail: kluma_nina30@hotmail.com

Submissão: 23/12/2017

Aprovação: 06/03/2018

Introdução

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), o Brasil figura atualmente como o quarto maior mercado consumidor de produtos de higiene e cosméticos no mundo, ficando atrás apenas de Estados Unidos, China e Japão, tendo faturado em 2011 mais de 43 bilhões de dólares¹.

A indústria, assim como, a farmácia, é responsável pelo produto que manipula, conserva, dispensa e transporta, por isso, a escolha das substâncias com atividade antimicrobiana que serão incorporadas aos cosméticos, para prevenir a contaminação microbiana, deve ser feita de forma criteriosa, com concentrações adequadas, seguindo os requisitos de compatibilidade física e química dos componentes de cada formulação, os parâmetros de segurança terapêutica estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e as normas de qualidade, orientadas pelas RDC nº 33/00², RDC nº 67/07³, RDC nº 17/10⁴ da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Estudos demonstraram que os conservantes disponíveis no mercado apresentam, sem exceção, algum risco de hipersensibilidade e, por isso esforços têm sido direcionados para a utilização de compostos naturais com atividade antimicrobiana com o propósito de reduzir ou até mesmo substituir o conservante tradicional^{5,6}. Neste contexto, os óleos essenciais foram descobertos, e crescentemente testados, como potenciais agentes conservantes naturais. Pesquisa realizada entre os anos de 2001 e 2006, com 1.927 pacientes com eczema crônico foi demonstrado que 1,1% dos pacientes apresentaram sensibilização por parabenos, 1,7% pela associação de

metildibromoglutaronitrila com fenoxietanol e 0,7% por imidazolidinil ureia⁷.

Diante do fato do uso de cosméticos e dermocosméticos representarem um importante segmento do mercado farmacêutico brasileiro, a ANVISA, por meio da Resolução nº 33/2000², instituiu as Boas Práticas de Manipulação (BPM) em Farmácias, buscando estabelecer rígidos parâmetros de qualidade em todas as etapas de fabricação de um produto manipulado de forma magistral. Enquanto que, a RDC nº 481/99⁸ considera a necessidade de estabelecer parâmetros para controle microbiológico de produtos cosméticos, bem como aprimora as ações de controle de produtos sujeitos a Vigilância Sanitária e às ações de proteção ao consumidor, e a RDC nº 162/97⁹, lista os conservantes permitidos para uso em cosméticos.

A presença de contaminantes microbianos pode resultar em alterações físicas e químicas do produto, comprometendo sua estabilidade. Estas alterações, ainda que não afetem o teor do princípio ativo, podem se manifestar pela mudança de cor, separação de fases, aparecimento de odor desagradável e mudanças nos valores de pH. Portanto, mesmo em produtos não-estéreis há necessidade de se estabelecer padrões qualiquantitativos de microorganismos presentes na amostra, respeitando-se um limite pré-especificado de carga microbiana a fim de assegurar a estabilidade do produto durante o prazo de validade, garantindo inocuidade e eficácia terapêutica ao paciente.

A ANVISA⁸ estabelece os parâmetros para controle microbiológico de cosméticos, produtos de higiene pessoal e perfumes e os subdivide em dois tipos:

1) produtos infantis, para área dos olhos e que entram em contato com mucosas;

2) demais produtos susceptíveis à contaminação.

Para os produtos do tipo 1 a contagem de microrganismos mesófilos totais aeróbios não pode ser superior a 10^2 UFC/g ou ml de produto. Já para os do tipo 2 esse limite é de 10^3 UFC/g ou ml de produto⁸.

Um produto pode ser considerado estável do ponto de vista microbiológico se mantém a esterilidade ou a resistência ao crescimento microbiano de acordo com os requisitos especificados. A estabilidade microbiológica do produto farmacêutico é uma medida da sua resistência ao crescimento microbiano, bactérias e fungos, proveniente dos insumos e do ambiente durante a obtenção, estocagem e uso.

Os produtos cosméticos estão sujeitos à contaminação com diversos microrganismos, potencialmente patogênicos à saúde humana, dentro deles, destacam-se: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e as Enterobactérias, *Escherichia coli* e *Salmonella spp* e, entre os fungos, a levedura *Candida albicans*¹⁰.

A Resolução nº 481 de 23/09/99⁸ estabelece os limites máximos de carga microbiana em produtos cosméticos, onde por grama ou mililitro de produto é permitido até 100.000 microrganismos viáveis, 10.000 leveduras ou fungos filamentosos e 10.000 enterobactérias. Os produtos não devem conter *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e fungos do gênero *Aspergillus*.

Conservantes são substâncias adicionadas a produtos cosméticos, farmacêuticos, de limpeza e

alimentícios com o objetivo de inibir o desenvolvimento de microrganismos, durante sua fabricação e estocagem, bem como proteger o consumidor de contaminação inadvertida durante o uso do produto⁹.

Os conservantes têm como alvo bactérias, bolores e leveduras. Eles são normalmente utilizados em concentrações muito baixas, ou seja, menos de 1% da formulação, e são dirigidos a espécies como *E. coli*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus spp*, *Serratia spp*. e *Aspergillus niger*⁷.

Os conservantes por definição são considerados substâncias intrinsecamente tóxicas e, no caso de creme corporal, onde a pele é o órgão de maior exposição há uma preocupação relacionada diretamente com a possibilidade de absorção.

A exposição a um agente conservante pode ocorrer por meio da ingestão, inalação ou permeação cutânea, porém sendo este uma molécula biologicamente ativa, o simples contato com a pele pode desencadear uma irritação ou sensibilização de contato. Em relação aos produtos cosméticos, estima-se que aproximadamente 12% da população apresenta efeitos adversos a produtos cosméticos, especialmente reações alérgicas, sendo que os conservantes estão em segundo lugar neste ranking, atrás apenas das fragrâncias¹¹.

Devido aos riscos à saúde humana que os conservantes químicos sintéticos trazem há uma tendência atual de busca de produtos naturais, como os óleos essenciais, que possam fazer o papel de agente conservante em cosméticos e alimentos.

O óleo de melaleuca é um desses produtos naturais de futuro promissor como conservante. Obtido da espécie vegetal *Melaleuca alternifolia*,

popularmente chamada *Tea tree* é comum na região de New South Wales, na Austrália, sendo extraído por destilação por arraste a vapor ou hidrodestilação das folhas, onde se obtém os seguintes constituintes químicos: terpenos (cineno, terpeno e cimeno), terpineol (terpinen-4-ol), sesquiterpenos e cineol que estão relacionados com sua atividade antimicrobiana. O rendimento do processo é de cerca de 1 a 2% do peso fresco da planta utilizada¹².

Quanto a sua toxicidade, um estudo demonstrou haver elevada citotoxicidade da *Melaleuca alternifolia*, em células cancerígenas do pulmão (A549), mama (MCF-7) e próstata (PC-3)¹³. Em uma revisão realizada por outros pesquisadores em 2006, evidências empíricas surgiram em células saudáveis, a baixa ocorrência de efeitos adversos, geralmente autolimitantes, bem como relativa segurança no uso sobre a pele, mas que em concentrações elevadas pode ser tóxico e irritativo tanto na ingestão, quanto no uso tópico¹⁴.

O comitê australiano de padronização estabelece que o óleo deve conter no mínimo 30% de terpinen-4-ol e no máximo 15% de 1,8-cineol, para que tenha eficácia mínima como antisséptico. Esses níveis mínimos e máximos são indicados principalmente porque o cineol é um conhecido irritante da pele e o terpinen-4-ol é apontado como o maior contribuinte da atividade antimicrobiana dentre os componentes¹⁵.

No Brasil não existe uma regulamentação federal. O uso do óleo de melaleuca como agente conservante é preconizado por uma norma internacional, a ISO-4730:2004, que orienta o uso do óleo puro, em concentrações de 0,2 a 1%¹⁶. Como agente conservante natural, cuja eficiência foi testada

no escopo desta pesquisa, o óleo de melaleuca foi incorporado às formulações nas concentrações de 0,5 a 1%, em bases cosméticas de uso tópico, como indicado.

Por sua ampla ação terapêutica, o óleo de melaleuca é utilizado em formulações de produtos antiacnes, antissépticos, desinfetantes, produtos de higiene capilar e corporal, produtos para queimaduras, picadas de inseto, uso veterinário, aromaterapia e flavorizantes.

Objetivos

O objetivo deste trabalho foi testar a ação antimicrobiana do óleo de *Melaleuca alternifolia*, agregado em base cosmética como conservante, comparado aos conservantes químicos, metil e propil parabenos.

Material e Método

Preparação das Bases Cosméticas

Para a preparação das bases adotaram-se os critérios da Farmacopeia Brasileira¹⁷ (1988), e do Guia de Controle de Qualidade e avaliação de segurança de Produtos Cosméticos¹⁸, e os parâmetros das Resoluções ANVISA nº 481/99⁸, RDC nº 162/97⁹ e RDC nº 29/2012¹⁹.

O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) foi adquirido comercialmente de All Chemistry do Brasil Ltda.

As amostras de creme foram preparadas em uma farmácia de manipulação parceira e transportadas ao Laboratório de Microbiologia da FATEC Praia Grande, onde foram testadas.

As bases foram manipuladas em duas etapas, pela técnica universal de preparação de emulsões nas condições recomendadas de temperatura e

velocidade de agitação, sendo estocadas em temperatura ambiente, entre 20°C e 30°C, em condições ideais de armazenagem e preparadas em diferentes concentrações, segundo sequência abaixo:

- Amostra 1: base cosmética contendo parabenos - propilparabeno (0,05%) e metilparabeno (0,1%);
- Amostra 2: base cosmética contendo parabenos - propilparabeno (0,15%) e metilparabeno (0,2%);
- Amostra 3: base cosmética contendo com óleo essencial de melaleuca (0,5%);
- Amostra 4: base cosmética contendo com óleo essencial de melaleuca (1%);
- Amostra 5: sem conservante;
- Oléo de melaleuca puro.

Considerando que os óleos essenciais são voláteis, insolúveis em água, viscosos e complexos e, podem formar uma suspensão turva, que dificulta a determinação visual da eficácia antimicrobiana do óleo²⁰, devido à interferência da dissolução insuficiente dos componentes testados foram adotadas as concentrações de 0,5 à 1% para evitar a perda de estabilidade das emulsões.

As amostras da série A, preparadas em junho de 2014, e da série B, manipuladas em outubro de 2014, foram armazenadas em embalagens estéreis, em temperatura ambiente (entre 20°C e 30°C), para posteriores avaliações.

A aparência e a cor dos cremes foram verificadas visualmente, o odor foi verificado por meio do método organoléptico e o pH por meio de pHmetro. Esses parâmetros foram monitorados em 14, 30, 60, 90 e 120 dias para amostras da série A e, em 7 e 14 dias para amostras da série B.

Teste de Atividade Antimicrobiana

A escolha do melhor meio de cultura a ser utilizado nas análises foi baseada nas propriedades inibitórias de cada agente microbiano, ágar MacConkey para *E. coli*¹⁸, e meio Ágar Potato Dextrose, para *Candida albicans*.

Foi realizado o Teste de Difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, que é um método físico, no qual um microrganismo é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo (halo) desafiado com a concentração da substância ensaiada¹¹, como observado na figura 1.

Figura 1. Modelo de halo de inibição formado durante o teste de eficácia do sistema conservante



Fonte: Globolab, 2018²¹.

A interpretação dos resultados é comparativa frente a um padrão biológico de referência e, a zona ou o halo de inibição de crescimento é medida partindo-se da circunferência do disco até a margem onde há crescimento de microrganismos. De acordo com a dimensão do halo os microrganismos podem ser classificados como: Sensíveis, quando o diâmetro da zona de inibição é maior, ou não mais do que 3 mm menos que o controle positivo; Moderadamente Sensíveis, halo maior que 2 mm, mas menor que o

controle positivo de mais de 3 mm; e Resistentes, diâmetro igual ou menor que 2 mm¹⁸.

As cepas liofilizadas, adquiridas comercialmente de Cefar Diagnóstica Ltda., de *E. coli* (ATCC 25922; beta-lactamase negativa) foram hidratadas com 2,5 ml de solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%), e as cepas de *Candida albicans* (CCCD 001) com 0,5 ml de NaCl 0.9%. A turbidez das culturas em crescimento com solução salina estéril foi ajustada, de modo a obter uma turbidez óptica comparável à da solução padrão de McFarland entre 0,5 e 1,0. Isso resulta numa suspensão contendo aproximadamente de $1 \text{ a } 3 \times 10^8$ UFC/ml¹⁸.

As suspensões foram inoculadas em placas contendo os respectivos meios de cultura apropriados para cada tipo de micro-organismo, com o auxílio de um *swab* estéril, deslizando-o por toda superfície do meio¹⁸. As placas foram incubadas em estufa, a 36,5°C por 24 a 72 horas.

A eficiência antimicrobiana do óleo essencial e parabenos foram avaliadas mediante teste do halo. Em cada placa foram colocados discos de papel filtro esterilizados, contendo as amostras testadas. Identificados, no fundo da placa, o número da amostra que corresponde ao disco colocado na superfície do meio.

Os halos são medidos em milímetros usando um paquímetro ou uma régua, que é encostado na parte de trás da placa de Petri invertida.

Como halo de inibição, será considerado a área sem crescimento bacteriano detectável a olho nu¹⁸.

No ensaio proposto foram utilizados seis discos por placa, um de controle negativo, contendo amostra sem conservante, um disco de controle positivo, contendo Clorafenicol e, quatro contendo

amostras testes (1, 2, 3, 4, e 5). O Clorafenicol, escolhido como controle positivo, é o antibiótico utilizado em testes de difusão em ágar contendo *E. coli*. Nos testes realizados com *Candida albicans* não foi utilizado nenhum controle positivo.

As análises foram feitas em triplicata para todas as amostras de cada série. A análise estatística foi realizada pelo software *Action Stat*, onde foi executado o teste T para amostras independentes. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Em todas as condições de estudo analisadas, as formulações mantiveram-se estáveis ao longo do tempo avaliado, sem qualquer oscilação significativa nos resultados, durante o período de armazenamento. As formulações avaliadas apresentaram coloração branca inicialmente, variando entre branco brilhante a branco opaco. Por não conter nenhuma essência/fragrância, o odor da formulação é classificado inicialmente como característico, em função das matérias primas utilizadas, bem como a permanência do odor característico do óleo essencial, que permaneceram inalteradas durante todo o período de avaliação. Em relação à aparência, as formulações mantiveram sua característica cremosa levemente viscosa ao longo de todas as etapas do estudo.

Durante a incorporação do óleo essencial às formulações, as características macroscópicas, como aparência, cor e odor, não foram alteradas, confirmando o êxito da pesquisa; caso contrário, sua utilização como conservante, seria inviabilizada.

Quanto a atividade antimicrobiana, os halos de inibição do crescimento das cepas, obtidos a partir da ação dos produtos testados, indicaram a atividade

antimicrobiana das substâncias empregadas. A partir das medidas dos diâmetros dos halos de inibição de crescimento em milímetros (mm) em cada triplicata da amostra, calcularam-se as médias e desvios-

padrão. Os valores encontrados estão expostos na tabela 1 e discutidos na ordem apresentada.

Tabela 1. Média e desvio-padrão dos halos de inibição formados frente aos microrganismos testados

SÉRIE A: PREPARADAS EM JUNHO/ 2014			SÉRIE B: PREPARADAS EM OUTUBRO/ 2014		
AMOSTRAS	Halos de inibição em mm (Média ± DP)		AMOSTRAS	Halos de inibição em mm (Média ± DP)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>		<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
1- parabenos a 0,15%	16 ± 0,76 (I)*	-	1- parabenos a 0,15%	14 ± 1,00 (I)	-
2- parabenos a 0,35%	18 ± 0,58 (S)	-	2- parabenos a 0,35%	17 ± 0,29 (S)	-
3- melaleuca a 0,5%	14 ± 0,50 (I)	-	3- melaleuca a 0,5%	16 ± 1,00 (I)*	-
4- melaleuca a 1%	18 ± 0,76 (S)	-	4- melaleuca a 1%	18 ± 0,50 (S)	-
5- sem conservante	8 ± 0,87	-	5- sem conservante	13 ± 0,76 *	-
Óleo de melaleuca puro	20 ± 0,50 (S)	30 ± 0,76 (S)	Óleo de melaleuca puro	20 ± 0,76 (S)	30 ± 0,50 (S)

Legenda: S (sensível), I (intermediário), R (resistente), - (sem formação de halo) frente ao padrão de controle positivo.

* $p < 0,001$; teste t de Student

Nas análises realizadas com *E. coli*, as amostras 1 e 2, contendo parabenos como conservantes, tanto da série A quanto da série B, o halo de inibição formado caracterizou este conservante como sensível para amostra 2 e intermediário para amostra 1, frente ao microrganismo testado, confirmando que as concentrações máximas de parabenos preconizadas pela literatura fornecem nível de proteção bacteriostática¹⁹.

Nas amostras 4, com óleo de melaleuca a 0,5%, a preparação mais nova, série B, se mostrou mais eficaz contra *E. coli* ($p < 0,001$), do que a preparação da série A.

Nas amostras 5, preparadas sem adição de conservantes verificou-se a formação de halos entre 8 e 13 mm, sendo a preparação mais nova (série B) mais eficaz na ação microbicida ($p < 0,001$) o que demonstra que os componentes utilizados na formulação também fornecem certa proteção

microbiológica, mas que pode ser insuficiente para garantir a qualidade do produto até o seu prazo de validade final.

Já, quando testado puro, o óleo de melaleuca puro, frente à *Escherichia coli* apresentou um melhor halo de inibição, se comparado às amostras, onde o mesmo foi incorporado ao creme teste. Este resultado atesta a interferência do agente emulsificador na susceptibilidade da bactéria ao óleo essencial podendo explicar a possível influência que este exerce sobre o crescimento bacteriano e/ou sobre a permeabilidade da membrana celular, visto que, os emulsificadores podem agir antagônica ou sinergicamente aos componentes ativos do óleo. Altas concentrações, por exemplo, podem aumentar a atividade antibacteriana produzindo resultados falso-positivos ou reduzir a bioatividade do óleo, esse último efeito é, possivelmente, causado pela

formação de micelas que dificultariam o contato direto do óleo com os microrganismos²⁰.

A figura 2 ilustra os halos formados nas análises feitas com o óleo puro, produzindo diâmetro de 20 mm para o óleo de melaleuca (M), sinalizando mais uma vez, o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, como aquele com maior potencial de inibição frente ao microrganismo testado, com efetividade semelhante à observada nos halos formados no controle positivo com cloranfenicol (+), de 35 mm.

Figura 2. Halo de inibição para *Escherichia coli*, por óleo de melaleuca (à direita, marcado com M), e controle positivo (Cloranfenicol, acima, marcado com +).



Fonte: arquivo pessoal

Em todas as amostras testadas, o experimento confirmou uma melhor atividade e efetividade antimicrobiana naquelas preparadas com concentrações máximas do óleo de melaleuca (1%) e parabenos (0,35%).

Já no caso da *Candida albicans*, foi verificado que não houve formação de halo de inibição, porém nota-se que, em volta do disco contendo óleo de melaleuca puro houve um menor crescimento de colônias de fungos, comparado ao controle negativo (disco sem conservante), demonstrando que o óleo fornece ação fungicida sobre *Candida albicans*.

O óleo essencial de Melaleuca possui importância medicinal e ampla aplicabilidade, sendo atualmente muito empregado em formulações cosméticas, o qual se torna uma substância ativa em potencial para ser veiculada em tratamentos cosméticos e estéticos, podendo ser incorporado a cremes, loções, sabonetes e xampus antissépticos, produtos para a limpeza da pele em especial a oleosa, demaquilantes, *after shaves*, pós depilatórios, desodorantes, xampus para cabelos oleosos ou com caspa²².

Entre os óleos essenciais estudados, o óleo de Melaleuca é considerado como tendo qualidade superior, pois contém em sua composição entre 2 a 5% de cineol e de 40 a 47% de terpinen-4-ol, que são os principais responsáveis pela ação antimicrobiana^{15,23}.

Conclusão

O controle da qualidade microbiológica é muito importante para avaliação de pontos críticos de contaminação. Embora as formulações cosméticas não necessitem de esterilidade, devem cumprir as exigências da legislação quanto à ausência de microrganismos específicos, a fim de se obter produtos de excelência em qualidade, estabilidade e confiança.

Neste contexto, a escolha do conservante ideal deve ser cautelosa, pois o mesmo precisa ser estável, compatível com outros ingredientes da formulação, sem interferir com a cor ou odor do produto, ter amplo espectro de ação em baixa concentração, permanecer ativo em diferentes valores de pH, distribuir-se de forma apropriada em sistemas emulsionados, inativar contaminantes rapidamente, prevenindo a adaptação microbiana, além de não

provocar efeitos tóxicos, irritantes e hipersensibilizantes.

Os resultados obtidos nesta pesquisa confirmam aplicabilidade e efetividade dos conservantes utilizados, tanto os parabenos quanto o óleo essencial, uma vez que, mantiveram a estabilidade das amostras de creme, promovendo também, a formação de halos de inibição nas amostras testadas frente à *Escherichia coli*, mesmo 120 dias após o preparo.

O óleo essencial de melaleuca atende aos requisitos de uma substância dotada de atividade antimicrobiana, mostrando-se estável quando utilizado em cremes, podendo ser considerado uma alternativa conservante para produtos cosméticos, uma vez que produziram halos de inibição de tamanhos semelhantes aos observados nas amostras conservadas com parabenos.

Sugerem-se estudos complementares relativos ao desempenho de novas faixas de concentração dos óleos essenciais testados, bem como, sobre a padronização dos testes de susceptibilidade antimicrobiana, específica para óleos essenciais, uma vez, que os testes de avaliação antimicrobiana atualmente empregados são padronizados pela *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) e desenvolvidos para agentes antimicrobianos convencionais como os antibióticos, que são substâncias de natureza hidrófila, sendo padronizados para esta condição. Além disso, seria importante o detalhamento do rendimento e custo de produção, para elucidar a verdadeira bioatividade, o potencial terapêutico e a utilidade clínica, para que finalmente se consagre o uso de óleos essenciais

como alternativas seguras e economicamente viáveis para o mercado cosmético-farmacêutico.

Referências

1. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos- ABIHPEC. Mercado brasileiro de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC): quarta posição mundial com sensação de terceira. 16 Fev, 2017. Disponível em: <<http://www.abihpec.org.br/>>. Acesso em: 20 dez 2017.
2. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 33, de 19 de abril de 2000. Aprova o regulamento técnico que institui as boas práticas de manipulação em farmácias. Brasília: Ministério da Saúde, ANVISA. 2012.
3. Brasil. Agência Nacional de Vigilância sanitária. RDC nº 67 de 8 de outubro de 2007. Aprova o regulamento técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de medicamentos em farmácias e seus anexos. Brasília: Ministério da Saúde, ANVISA. 2012.
4. Brasil. Agência Nacional de Vigilância sanitária. RDC nº 17 de abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Brasília: Ministério da Saúde, ANVISA. 2012.
5. Silva AVA, Fonseca SGC, Arrais PSD, Francelino EV. Presença de excipientes com potencial para indução de reações adversas em medicamentos comercializados no Brasil. *Rev Bras Ciências Farmacêuticas*. 2008; 44(3):397-405.
6. Artus G, Bonamigo RR, Cappelletti T. Dermatite de contato alérgica: prevalência dos agentes sensibilizantes em amostra de Porto Alegre, Brasil. *Rev AMRIGS*. 2011; 55(2):155-159.
7. Araujo ACR. Avaliação da qualidade microbiana de sabonetes comercializados em feiras de artesanato de Brasília. 2013. Dissertação de Mestrado. Brasília: Universidade de Brasília. 2013.
8. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 481, de 23 de setembro de 1999. Parâmetros para controle microbiológico de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Brasília: Ministério da Saúde, ANVISA. 2012.
9. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 162 de 18 de agosto de 1997. Aprova a lista de conservantes permitidos para produtos de higiene pessoal,

cosméticos e perfumes. Brasília: Ministério da Saúde, ANVISA. 2012.

10. Muller JJ. Análise bacteriológica de cosméticos produzidos em farmácias de manipulação e provadores cosméticos de uma farmácia de dispensação da cidade de Blumenau. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso. Blumenau: Universidade Regional de Blumenau. 2008.

11. Amaral LFB. Avaliação da eficácia antimicrobiana do monoéster de C-8 xilitol como alternativa conservante para produtos cosméticos. 2010. Dissertação de Mestrado. Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 2010.

12. Oliveira F, Akisue G. Fundamentos de Farmacobotânica. 2ª ed. São Paulo: Editora Atheneu. 2005.

13. Liu X, Zu Y, Fu Y, Yao L, Gu C, Wang W, Efferth T. Antimicrobial activity and cytotoxicity towards cancer cells of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil. *European Food Research and Technology*. 2009; 229(2): 247.

14. Hammer KA, Carson CF, Riley TV, Nielsen JB. A review of the toxicity of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil. *Food Chem Toxicol*. 2006; 44:616-25.

15. Simões RP, Groppo FC, Sartorato A, Del Fiol FS, Mattos Filho TR, et al. Efeitos do óleo de Melaleuca alternifolia sobre a infecção estafilocócica. *Lecta-USF*. 2002; 20(2):143-152.

16. Maccari FLR. Avaliação da atividade antiproliferativa in vitro, liberação, permeação e retenção cutânea in vitro e estabilidade de emulsões contendo (-)- terpinen-4-ol. 2011. 134f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP. Araraquara. 2011.

17. Brasil. Ministério da Saúde. Farmacopeia Brasileira. 4ª ed. parte 1. Brasília: 1988. Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/publicacoes/4_edicao/parte1/4_edicao_part1.pdf>. Acesso em: 30 set 2013.

18. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos. Brasília: ANVISA, 2003. Disponível em:<https://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/guia_cosmeticos_final_2.pdf>. Acesso em: 30 set 2013.

19. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 29, de 1º de junho de 2012 Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre conservante permitidas para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. Brasília: MS, ANVISA. 2012.

20. Nascimento PFC, Nascimento AC, Rodrigues CS, Antonioli AR, Santos PO, et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. *Rev Bras Farmacognosia*. 2007; 17(1):108-113.

21. Globolab. Mikrobiologie?...und dann noch in der Dritten Welt. Disponível em: <<http://www.globolab.de/mikrobiologie.htm>> Acesso em: 08 fev 2018.

22. Souza VM, Antunes D. Ativos dermatológicos, guia de ativos dermatológicos utilizados na farmácia de manipulação para médicos e farmacêuticos. São Paulo: Pharmabooks. 2009.

23. Garcia CC, Germano C, Osti NM, Chorilli M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações de sabonete líquido íntimo acrescidas de óleo de Melaleuca. *Rev Bras Farm*. 2009; 90(3):236-240.