

Artigos Originais

Autores:

Clarissa Prieto Herman Reinehr¹
Célia Luiza Petersen Vitello Kalil¹
Laura de Mattos Milman¹
Christine Chaves²

¹ Clínica Célia Kalil, Porto Alegre (RS), Brasil.

² Farmatec Farmácia de Manipulação, Porto Alegre (RS), Brasil.

Correspondência:

Clarissa Prieto Herman Reinehr
R. Félix da Cunha, 1009/401
Floresta
90570-001 - Porto Alegre (RS), Brasil
E-mail: cla.reinehr@gmail.com

Data de recebimento: 20/03/2019

Data de aprovação: 13/06/2019

Trabalho realizado na Clínica Célia Kalil, Porto Alegre (RS), Brasil.

Suporte Financeiro: Nenhum.

Conflito de interesse: Nenhum.



Sérum anidro fluido como veículo para formulações de *drug delivery*: resultados do teste de esterilidade para crescimento bacteriano e fúngico

Anhydrous fluid serum as vehicle for drug delivery formulations: sterility test results for bacterial and fungal growth

DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20191121340>

RESUMO

Introdução: A entrega tópica de medicamentos é essencial na Dermatologia. Devido à dificuldade de permeação do estrato córneo, as técnicas de *drug delivery* vêm recebendo destaque. O uso de formulações não específicas para este fim nos faz atentar para possíveis efeitos adversos e para a segurança microbiológica destas formulações.

Objetivo: Avaliar crescimento bacteriano e fúngico no sérum anidro fluido por meio do teste de esterilidade simples.

Materiais e métodos: O teste de esterilidade simples foi realizado em um sérum anidro contendo ativos lipofílicos e hidrofílicos. Este teste foi realizado três meses após a manufatura do produto.

Resultados: A formulação estudada foi aprovada no teste de esterilidade simples realizado três meses após a manufatura do produto, mesmo sem uso de conservantes na formulação. A formulação em estudo foi aprovada no teste de esterilidade possivelmente devido ao fato de o veículo sérum ser de origem mineral e anidra, características que não favorecem a proliferação de micro-organismos.

Conclusões: Embora somente o veículo contando ativos específicos tenha sido testado, os resultados deste estudo são promissores e demonstram a necessidade de estudos futuros que englobem de forma mais ampla o assunto.

Palavras-chave: Vias de administração de medicamentos; Farmacopeia brasileira; Creme para a pele

ABSTRACT

Introduction: Topical delivery of drugs is essential in Dermatology. Due to the difficulty of permeation of the stratum corneum, drug delivery techniques have been highlighted. The use of non-specific formulations for this purpose makes raises the concern of possible adverse events and the microbiological safety of these formulations.

Objective: To assess bacterial and fungal growth in anhydrous fluid serum through simple sterility test.

Materials and methods: The simple sterility test was performed on an anhydrous serum containing lipophilic and hydrophilic active substances. This test was performed three months after the manufacture of the product.

Results: The formulation studied was approved in the simple sterility test conducted three months after the manufacture of the product, even without the use of preservatives in the formulation.

Discussion: The assessed formulation was approved in the sterility test possibly due to the fact that the serum vehicle has mineral and anhydrous origin, characteristics that do not favor the proliferation of microorganisms.

Conclusions: Although only the vehicle counting specific assets has been tested, the results of this study are promising and demonstrate the need for future studies broadly encompassing this subject.

Keywords: Drug Administration Routes; Brazilian Pharmacopeia; Skin Cream

INTRODUÇÃO

A entrega tópica de medicamentos é essencial na Dermatologia a fim de, efetivamente, realizarem sua função. Os medicamentos e ativos aplicados na pele precisam penetrar e atingir sua estrutura-alvo. A função de barreira da epiderme é mantida pela dupla camada lipídica do estrato córneo, o principal fator limitante para a entrega tópica de medicamentos.¹ A penetração de fármacos através do estrato córneo intacto ocorre por difusão e, em menor grau, através de apêndices cutâneos; além disso, somente as moléculas lipofílicas menores do que 500da podem penetrá-la, e somente 1 a 5% dos medicamentos aplicados sobre a pele são efetivamente absorvidos para se tornarem biodisponíveis.² A técnica de *drug delivery* consiste em utilizar técnicas para otimizar a penetração de fármacos por meio de métodos químicos, mecânicos ou físicos.² O uso de formulações não específicas para *drug delivery* pode causar efeitos indesejáveis, tais como dermatite irritativa e alérgica, granulomas de corpo estranho e infecção cutânea.³

Muitas formulações cosméticas disponíveis no mercado contêm conservantes e aditivos químicos em sua formulação, o que as torna inadequadas para uso em *drug delivery*; além disso, pode ocorrer contaminação das formulações por micro-organismos, tornando-as não ideais para esse fim.⁴

MATERIAIS E MÉTODOS

Motivados pela demanda crescente de formulações adequadas para *drug delivery*, aplicadas imediatamente após procedimentos médicos dermatológicos, os autores desta publicação realizaram o teste de esterilidade no veículo sérum anidro, com propriedades que promovem a entrega da medicação com segurança, contendo os seguintes ativos lipofílicos e hidrófilos: hydroxyprolisilane® 6% (promove aumento da síntese de colágeno e elastina, além de melhoria da cicatrização), MDI Complex® 4% (anti-inflamatório, reduz eritema e edema), PBR® 1% (ativo com propriedades reepitelizantes), madecassoside 0,1% (inibe uma série de citocinas inflamatórias e tem ação regenerativa, além de estimular colágeno I) e pantenol 4% (promove cicatrização e regeneração) (Tabela 1-Farmatec® Pharmacy, Porto Alegre (RS), Brasil).

A formulação foi submetida ao teste de esterilidade em relação à sua capacidade de permanecer estéril, mesmo após sua abertura, simulando o que ocorre quando a formulação é utilizada pelo médico no consultório e/ou paciente em domicílio.

Foi realizado o teste de esterilidade simples, descrito na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (metodologia descrita no item testes 5.5.3.2 para produtos estéreis) (Pharmacontrol – laboratório de controle de qualidade, Porto Alegre (RS), Brasil). Este mesmo teste, que é realizado para formulações injetáveis e tópicas estéreis, foi realizado três meses após a fabricação da amostra. Além disso, o frasco foi aberto e utilizado durante o período de três meses para mimetizar as condições de uso no consultório médico. O teste de esterilidade consiste no uso de dois meios de cultura, que são previamente testados para assegurar sua capacidade de promover o crescimento bacteriano, por inoculação direta de duas unidades de 4,5ml do lote produzido (representando 5% do lote total): meio líquido de 1-tioglicolato para bactérias aeróbias e anaeróbicas e 2- meio caseína-soja fluido para bactérias aeróbias, leveduras e fungos. A substância estudada, no nosso caso o sérum anidro, permanece incubada por um período de 14 dias. Após o primeiro frasco testado ser aprovado no teste de esterilidade, a esterilidade do lote é confirmada incubando-se todos os frascos produzidos nos meios de cultura, nas condições descritas acima, por 14 dias. Nenhum crescimento microbiano deve ocorrer. A ocorrência de crescimento microbiano ativo reprovava o lote para o teste de esterilidade.

tando 5% do lote total): meio líquido de 1-tioglicolato para bactérias aeróbias e anaeróbicas e 2- meio caseína-soja fluido para bactérias aeróbias, leveduras e fungos. A substância estudada, no nosso caso o sérum anidro, permanece incubada por um período de 14 dias. Após o primeiro frasco testado ser aprovado no teste de esterilidade, a esterilidade do lote é confirmada incubando-se todos os frascos produzidos nos meios de cultura, nas condições descritas acima, por 14 dias. Nenhum crescimento microbiano deve ocorrer. A ocorrência de crescimento microbiano ativo reprovava o lote para o teste de esterilidade.

RESULTADOS

O teste de esterilidade resultou na ausência de contaminação microbiológica para bactérias, fungos e leveduras (Figura 1). Portanto, a formulação estudada foi aprovada no teste de esterilidade, mesmo sem conter conservantes e após três meses de sua manufatura.

DISCUSSÃO

A escolha do veículo adequado para a entrega de medicamentos é crucial: cremes, loções, géis e alguns séruns não são adequados devido à sua alta viscosidade, o que diminui a entrega transepidérmica/transdérmica de ingredientes ativos.⁴ A formulação ideal para *drug delivery* não deve conter água, deve repelir água e deve ser mineral a fim de fornecer uma barreira contra a perda de água transepidérmica (TEWL) e de favorecer a cicatrização e permeação cutânea de substâncias hidrofílicas e lipofílicas. Além disso, o pH da formulação deve assemelhar-se ao pH da pele pois um pH mais elevado pode conduzir à irritação de pele e ao rompimento do “manto ácido” cutâneo.⁵ O veículo anidro não provoca sensação de queimação e não requer a adição de conservantes e produtos químicos, o que teoricamente oferece segurança microbiológica relacionada à proliferação bacteriana e fúngica; além disso, o sérum anidro também promove a oclusão.⁶ Vale ressaltar que independentemente da técnica de *drug delivery* escolhida para otimizar a permeação de fármacos, a oclusão é benéfica para potencializar o método, pois retarda a recuperação da barreira cutânea, o que faz com que o estrato córneo permaneça permeável por mais tempo.⁷

Os autores acreditam que a razão pela qual a formulação estudada foi aprovada no teste de esterilidade deve-se ao fato de que o veículo é de origem mineral e anidra, características que não permitem a proliferação de micro-organismos, favorecendo a hipótese de que a formulação é segura para realização de *drug delivery*, mesmo se utilizada imediatamente após procedimentos ablativos.

TABELA 1: Características basais da amostra

Ingrediente ativo	Características físico-químicas
Hydroxyprolisilane®	Hidrofílico
MDI Complex®	Hidrofílico
PBR®	Lipofílico
Madecassoside	Lipofílico
Pantenol	Hidrofílico

Pharmacontrol
Laboratório de Controle de Qualidade

REBLAS
Pharmacontrol
Laboratório de Controle de Qualidade

REBLAS
Pharmacontrol
Laboratório de Controle de Qualidade

TEST CERTIFICATE No. 012514/2017-0

APPLICANT INFORMATION
Client: FARMATEC FARMACIA DE MANIPULACAO LTDA – ME – FARMATEC BRANCH – CENTRO – PORTO ALEGRE
Address: 570 CORONEL VICENTE ST – PORTO ALEGRE RS
Type of Agreement: Monthly agreement

SAMPLE INFORMATION:
Sample Identification: Skin Regenerator after IPCA
Type of Sample: Sterility Test
Date of Receipt: 09/29/2017
Manufacture Date: 06/26/2017
Expiry Date: 06/26/2019
Quantity Received: 4 ml
Preservatives: -

Batch No.: NR: 135724
Containers Supplied by: Client
Party Responsible for Collection: Client
Collection as per SOP: No. 005

Microbiological Characteristics			
TEST	METHOD	SPECIFICATIONS	RESULTS
Bacteria Survey	FB 5 – 5.5.3.2	Absence	Absence
Fungi and Yeasts Survey	FB 5 – 5.5.3.2	Absence	Absence

FB 5 – Farmacopeia Brasileira 5ª Ed.

Opinion:
Regarding the analyzed parameter(s), the sample MEETS the microbiological parameters established by Farmacopeia Brasileira 5ª Edição.

Remarks: Results of this report present a restrict meaning to the analyzed sample(s). This Test Certificate can be only reproduced in full and under previous authorization in writing of the issuer.

Porto Alegre, November 13, 2017.

Maure B. Torres da Silva
Analyst

Marlova Serafin
Microbiological Lab. Supervisor
CRF/RS 17093

Page 1 of 1

Rua Dr. Eduardo Chartier, 559 - CEP 90520-100 - Fone/Fax: (51) 3337-6938 - Porto Alegre - RS - E-mail: pharmacontrol@labpharmacontrol.com.br
www.labpharmacontrol.com.br - Certificado na Fundação Estadual de Proteção Ambiental - FEPAM - sob nº 0063/2015-DL

FIGURA 1:

Resultados do teste de esterilidade simples: a formulação foi aprovada no teste de esterilidade simples realizado três meses após a manufatura do produto

CONCLUSÃO

Escolher o veículo apropriado para *drug delivery* é crucial, independentemente do método específico para promovê-lo que esteja sendo usado. Por este motivo, estudos sobre veículos específicos para entrega de medicamentos são de grande interesse para garantir a segurança no procedimento. Embora apenas o

veículo anidro sérum contendo hidroxiprolisilane®, MDI Complex®, PBR®, madecassoside e pantenol tenha sido testado, os resultados observados neste relato são promissores para impulsionar estudos futuros e mais abrangentes sobre a questão. ●

AGRADECIMENTOS

A formulação utilizada de *drug delivery* foi manufaturada e cedida sem custos pela Farmatec Farmácia de Manipulação.

REFERÊNCIAS

1. Purdon CH, Azzi CG, Zhang J, Smith EW, Maibach HI. Penetration enhancement of transdermal delivery—current permutations and limitations. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2004;21(2):97-132.
2. Leite-Silva VR, de Almeida MM, Fradin A, Grice JE, Roberts MS. Delivery of drugs applied topically to the skin. *Expert Rev Dermatol.* 2012; 7(4):383-97.
3. Soltani-Arabshahi R, Wong JW, Duffy KL, Powell DL. Facial Allergic Granulomatous Reaction and Systemic Hypersensitivity Associated With Microneedle Therapy for Skin Rejuvenation. *JAMA Dermatol.* 2014;150(1):68-72.
4. Haedersdal M, Erlendsson AM, Paasch U, Anderson RR. Translational medicine in the field of ablative fractional laser (AFXL)-assisted drug delivery: A critical review from basics to current clinical status. *J Am Acad Dermatol.* 2016; 74(5):981-1004.
5. Brogden NK, Milewski M, Ghosh P, Hardi L, Crofford LJ, Stinchcomb AL. Diclofenac delays micropore closure following microneedle treatment in human subjects. *J Control Release.* 2012; 163(2):220-9.
6. Lin CH, Aljuffali IA, Fang JY. Lasers as an approach for promoting drug delivery via skin. *Expert Opin Drug Deliv.* 2014;11(4):599-614.
7. Kelchen MN, Siefers KJ, Converse CC, Farley MJ, Holdren GO, Brogden NK. Micropore closure kinetics are delayed following microneedle insertion in elderly subjects. *J Controlled Release.* 2016; 225:294-300.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES:

Clarissa Prieto Herman Reinehr |  ORCID 0000-0003-1811-4519

Aprovação da versão final do manuscrito; concepção e planejamento do estudo; elaboração e redação do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados; participação efetiva na orientação da pesquisa; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica da literatura.

Célia Luiza Petersen Vitello Kalil |  ORCID 0000-0002-1294-547x

Aprovação da versão final do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados; participação efetiva na orientação da pesquisa; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica da literatura; revisão crítica do manuscrito.

Laura de Mattos Milman |  ORCID 0000-0002-3249-0396

Aprovação da versão final do manuscrito; concepção e planejamento do estudo; elaboração e redação do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados; participação efetiva na orientação da pesquisa; revisão crítica da literatura.

Christine Chaves |  ORCID 0000-0001-8861-6499

Aprovação da versão final do manuscrito; concepção e planejamento do estudo; elaboração e redação do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados; participação efetiva na orientação da pesquisa; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica da literatura.