

ESTUDO DE ESTABILIDADE QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE SORO FISIOLÓGICO

Julio Cesar B. Fernandes¹ e Juliana Nunes M. Caraíba²

1. Pesquisador da Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA – ICED - Campus Rondon
2. Graduada em Farmácia pela Universidade Municipal de São Caetano do Sul – USCS - Campus Centro

Resumo:

Neste trabalho estudamos a estabilidade do soro fisiológico do ponto de vista químico e microbiológico em diferentes condições de armazenamento por planejamento fatorial em dois níveis. As condições de estocagem foram escolhidas visando simular aquilo que um consumidor sem conhecimento técnico usualmente adota como procedimento em sua vida diária, comparando com condições em ambientes mais controlados.

Palavras-chave: controle de qualidade, medicamento, planejamento fatorial.

Introdução:

O Soro Fisiológico consiste de uma solução aquosa de cloreto de sódio a 0,9% sendo um produto utilizado para vários fins, como inalações, oftalmologia e limpeza de lesões cutâneas. Quando aplicado no globo ocular necessita ser estéril, assim, deverá ser mencionado em seu rótulo esta finalidade e indicar que foi sujeito à esterilização, o método utilizado e o prazo de validade do produto. Ele somente deverá ser usado se o produto apresentar-se límpido e sem quaisquer indícios de contaminação e violação do lacre de proteção¹. Consumidores têm fácil acesso à aquisição do produto uma vez que à sua venda não é controlada. Devido ao seu grande consumo, várias aplicações terapêuticas e por sua facilidade de aquisição em farmácias e drogarias, é importante para profissionais e consumidores conhecer a estabilidade química e microbiológica deste produto.

A estabilidade de um produto é a capacidade que ele tem de manter suas propriedades físico-químicas e microbiológicas inalteradas, desde o momento que finalizou sua fabricação até o término do prazo de validade². No caso da solução fisiológica, sua estabilidade pode ser afetada por contato com o ar atmosférico devido a contaminação microbiológica ou por evaporação de água quando armazenado em clima de elevada temperatura ambiente, levando então a modificações nas características físico-químicas e sua aparência³.

Dois parâmetros são fundamentais na análise da qualidade do soro fisiológico, o teor de cloreto, uma vez que sua alteração pode causar efeitos na pressão osmótica em células biológicas e o teor total de microrganismos, desde que o soro fisiológico tem ampla aplicação em enfermagem na limpeza de feridas ou lentes de contato. A Resolução nº 481 de 23 de setembro de 1999 dispõe sobre os parâmetros para controle microbiológico de produtos da área farmacêutica^{2,4}. Na contagem de bactérias totais, recomenda-se a utilização de meio de cultivo à base de extrato de levedura, peptona-glicose e ágar, meio este conhecido como PCA (*Plate Count Agar*)⁵, enquanto que a determinação de íons cloreto pode ser realizada pelo método argentométrico quando em altas concentrações⁶.

O soro fisiológico é um dos produtos mais consumidos na área de saúde. Sua estabilidade depois de aberto é pouco conhecida e a recomendação é descartá-lo logo após o uso para evitar contaminação microbiológica. Ferreira et. al. avaliaram a eficácia e segurança de soluções fisiológicas comercializadas em farmácias e drogarias e concluíram que os produtos estéreis são mais confiáveis, porém não fizeram um estudo de estabilidade microbiológica de longo prazo após o produto aberto. Assim, a garantia da qualidade do produto dependerá do modo de uso e local de armazenamento⁷. Recente estudo mostrou que o soro fisiológico

poderia não permanecer estéril durante o tempo de utilização em procedimento odontológico. Neste caso, o ambiente do consultório contribuiu significativamente para a contaminação microbiológica das amostras⁸.

Este trabalho visa estudar a estabilidade de soro fisiológico em diferentes condições de armazenamento por planejamento fatorial em dois níveis. Para os testes de estabilidade, as condições de estocagem estudadas foram a variação de temperatura (baixa ou alta temperatura), o modo como a embalagem foi guardada (aberta ou lacrada) e o período de armazenamento (1 ou 3 meses). Assim é possível avaliar o desempenho do produto e sua eficácia, gerando maior segurança ao consumidor.

Metodologia:

O estudo de estabilidade foi realizado em amostras de soro fisiológico estéril sob diferentes condições de armazenamento. A **Tabela 1** apresenta o planejamento experimental utilizado bem como a resposta. Oito (2^3) experimentos em dois níveis foram feitos em duplicata, totalizando 16 análises. A resposta para o teor de íons cloreto foi obtida por titulação potenciométrica usando um eletrodo indicador de mercúrio e um eletrodo de referência de Ag/AgCl, 1 M LiNO₃. As análises microbiológicas foram realizadas em meio padrão de contagem (PCA) para a determinação do número total de microrganismos viáveis de uma amostra. A técnica de inoculação adotada foi à mesma descrita em prévio trabalho⁹. A análise estatística dos efeitos estudados por planejamento fatorial que poderiam influenciar a estabilidade química e microbiológica do soro fisiológico foi realizada usando uma planilha de cálculos para planejamento fatorial desenvolvida em Visual Basic Application para Microsoft Excel¹⁰. Todas as amostras de soro fisiológico foram cedidas gentilmente pela empresa LBS LABORASA - Indústria Farmacêutica LTDA, sem conflito de interesse entre as partes, academia e indústria.

Tabela 1: Planejamento fatorial 2^3 referente ao estudo de estabilidade de soro fisiológico.

Nº Experimento	t _A	E	T	Resposta			
				% Cl ⁻		UFC ml ⁻¹	
1	-	-	-	1,03	0,88	196	0
2	+	-	-	1,15	1,03	0	6
3	-	+	-	1,06	0,93	0	114
4	+	+	-	1,07	1,09	4	4
5	-	-	+	0,95	0,89	0	0
6	+	-	+	0,97	1,32	20	110
7	-	+	+	1,01	0,90	0	0
8	+	+	+	1,01	0,99	0	6
Fator			-	+			
Tempo de Armazenamento (t _A)			30 dias	90 dias			
Condição da Embalagem (E)			Fechada	Aberta			
Temperatura (T)			10°C	35°C			

Resultados e Discussão:

Os resultados das amostras do soro fisiológico quanto ao nível de teor de cloreto (Cl) (%) e contaminação microbiológica em relação à condição de armazenamento, baixa e alta temperatura ou embalagem aberta e fechada durante um período de trinta a noventa dias, estão listados na **Tabela 1**, sendo os cálculos dos efeitos principais e de interações apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2: Estimativa dos efeitos principais e de interação obtidos nos experimentos de estabilidade por planejamento fatorial do soro fisiológico em diferentes condições de armazenamento.

Efeitos		Estimativa do efeito ± Erro padrão	
		% Cl ⁻	UFC ml ⁻¹
Média		1,02 ± 0,03	29 ± 19
Principais	t _A	0,12 ± 0,06	-20 ± 38
	E	-0,02 ± 0,06	-26 ± 38
	T	-0,03 ± 0,06	-24 ± 38
Dois fatores de interação	t _A × E	-0,06 ± 0,06	-5 ± 38
	t _A × T	0,01 ± 0,06	54 ± 38
	E × T	-0,04 ± 0,06	-6 ± 38
Três fatores de interação	t _A × E × T	-0,03 ± 0,06	-26 ± 38

Nível de significância de 0,05.

De acordo com a **Tabela 2** de estimativa dos efeitos principais, o tempo de armazenamento das amostras de soro influenciou o teor de cloreto, uma vez que o efeito calculado da análise foi maior que o erro padrão para um nível de confiança de 95%, tendo então uma resposta significativa sobre os valores obtidos para análise físico-química. Já na análise microbiológica o cálculo das estimativas dos efeitos mostram que houve interação entre tempo de armazenamento e a temperatura na qual o soro fisiológico estava armazenando, uma vez que o efeito foi maior que o erro determinado pelo cálculo de planejamento fatorial.

A **Fig. 1** mostra os gráficos de probabilidade da análise fatorial dos parâmetros, teor de cloreto e contaminação microbiológica. Se traçarmos uma reta que passe pelo maior número de pontos, fica claro na **Fig. 1**, que apenas o tempo de armazenamento está fora da região linear no gráfico de probabilidade da análise de cloreto, enquanto que na análise fatorial de resposta microbiológica, apenas o efeito de interação entre o tempo e temperatura de armazenamento apresenta este comportamento. O resultado gráfico vem a confirmar a análise da **Tabela 2**. Logo, a análise estatística por planejamento fatorial mostrou que o soro fisiológico é estável, tanto do ponto de vista físico-químico como microbiológico, podendo ser armazenado durante 90 dias, em baixa temperatura (10 °C) ou temperatura ambiente elevada (35 °C), mesmo depois de aberto. A análise fatorial mostrou também, que houve interação entre o fator temperatura e tempo de armazenamento para a resposta derivada de contaminação microbiológica. Contudo, esse produto pode ser considerado estável, já que seus resultados encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela ANVISA. Quanto ao critério de alteração do teor de cloreto, apenas o fator tempo apresentou uma contribuição significativa para seu valor, da ordem de 0,1%, o qual deve estar associado com a taxa de evaporação do solvente. No entanto, do ponto de vista legal, este aumento no teor de cloreto é negligenciável.

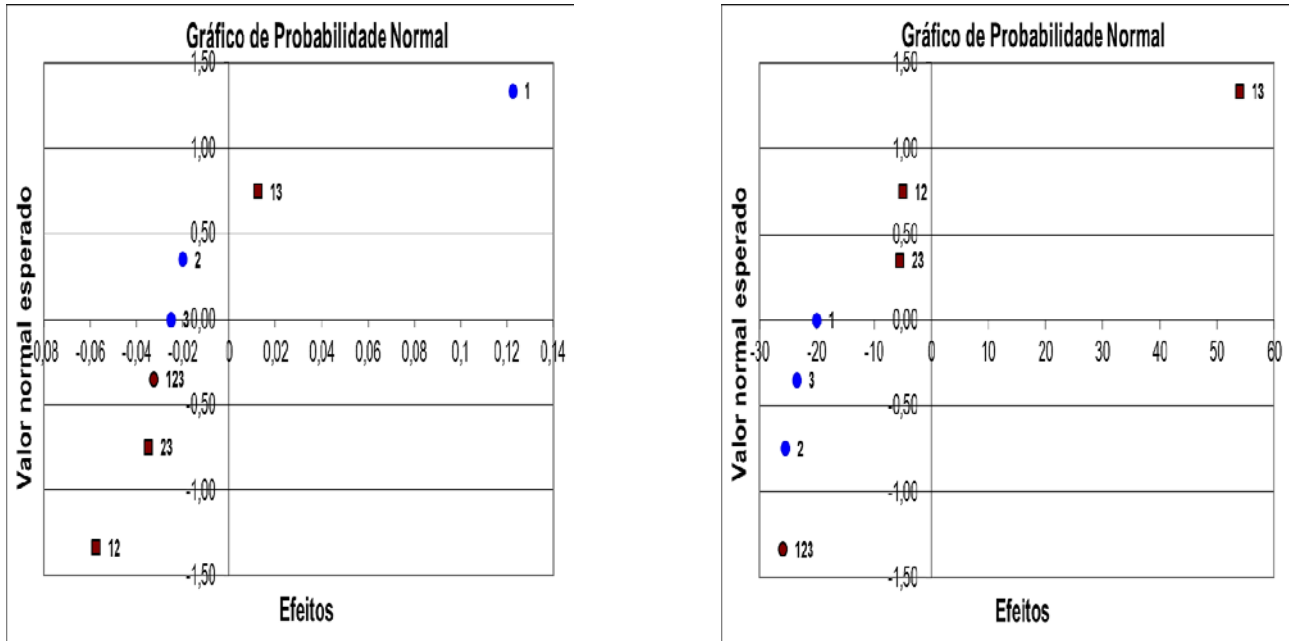


Figura 1. Gráficos de probabilidade para a resposta do teor de cloreto (esquerda) e contaminação microbológica (direita).

Conclusões:

Este trabalho mostrou que o soro fisiológico é bastante estável, tanto do ponto de vista analítico como microbiológico, podendo ser armazenado em baixa temperatura (10 °C) ou temperatura ambiente (35 °C), mesmo depois de aberto. Com as devidas precauções de assepsia do manipulador, seu uso pode ser consideravelmente estendido.

Referências bibliográficas

- [1] Prough DS, Bidani A. Hyperchloremic metabolic acidosis is a predictable consequence of intraoperative infusion of 0.9% saline. **Anesthesiology** 1999; 90(5): 1247–1249.
- [2] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Brasília: ANVISA, 2004. p. 52.
- [3] Ratti BA, Brustolin CF, Uber AP, Torquato AS. Soro Fisiológico: Potencial de Risco de Perda da Estabilidade após Aberto e Armazenado por Trinta Dias em Diferentes Meios. VII EPCC – **Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar** Maringá- PR; 25 e 28 de outubro de 2008; Maringá, Paraná.
- [4] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos**. 2. ed. Brasília: ANVISA, 2008. p. 121.
- [5] Atlas, RM. **Handbook of Microbiological Media**. London: CRC Press; 2004.p. 1390. ISBN 0-8493-1818-1.
- [6] Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª ed. Pioneira Thomson Learning, São Paulo, 2006.
- [7] Ferreira MJ, Vaz MM, Correia HC. Avaliação da segurança e eficácia de soluções fisiológicas dispensadas em farmácias e drogarias. **Rev. Bras. Farm.** 2008, 89(1): 21-23.
- [8] Rached GPCA, Almeida GC, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Gomes BPF. Análise microbiológica do soro fisiológico utilizado no tratamento endodôntico. **RFO - Passo Fundo** 2013; 18(3): 284-287.
- [9] Souza CMD, Kitahara SE, Fernandes JCB. Improved method for inoculation of microorganisms. **J Adv Sci Res**, 2014, 5(4): 31-33.
- [10] Teófilo RF, Ferreira MMC. Chemometrics II: Spreadsheets for experimental design calculations, A Tutorial. **Quim Nova** 2006; 29(2): 338-350.