

Avaliação da eficácia da higienização das mãos com diferentes formulações de sabonete líquido

Evaluation of the efficacy of hand hygiene using different liquid soap formulations

Janine G. de ARAÚJO¹, Alessandro A. da SILVA², Marcio Fernandes dos REIS¹, Edilene Bolutari BAPTISTA¹.

(1) Curso de Farmácia do Centro Universitário Presidente Antônio Carlos (UNIPAC). Juiz de Fora – MG, Brasil.

(2) Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Rio de Janeiro – RJ, Brasil.

Recebido: 18/08/2023

Revisado: 22/05/2024

Aceito: 22/05/2024

Editor de Seção:

Dr. Sérgio Gomes da Silva

Afiliação do Editor:

Centro Universitário

FAMINAS. Hospital do

Câncer de Muriaé –

Fundação Cristiano Varella.

Autor correspondente:

Edilene Bolutari Baptista (dibolutari@gmail.com)

Centro Universitário Presidente Antônio Carlos (UNIPAC).

Avenida Juiz de Fora 1100, Campus Granjas Bethânia.

CEP 36047-362. Juiz de Fora –MG, Brasil.

Conflitos de interesses: Os autores deste artigo declaram que não possuem conflito de interesse de ordem financeiro, pessoal, político, acadêmico ou comercial.

Resumo

A prática de higienização das mãos é uma rotina simples, eficaz e importante na prevenção e controle de doenças, sendo principalmente associada ao uso de sabonetes com ativos antimicrobianos como o triclosan. No entanto, há questionamentos sobre a eficácia e segurança na sua utilização, diante disso, sugere-se a substituição deste por outros compostos antimicrobianos, como o óleo essencial *Cymbopogon citratus* (DC) com atividades cientificamente comprovadas. O objetivo da pesquisa foi avaliar a eficácia de higienização das mãos pela comparação dos resultados microbiológicos de antes e depois da lavagem das mãos utilizando três formulações de sabonete líquido, duas incorporadas com componentes antimicrobianos e uma sem ativo. Os sabonetes foram manipulados na Farmácia Escola do Centro Universitário Presidente Antônio Carlos de Juiz de Fora e submetidos a testes para controle de qualidade, a eficácia foi determinada pela técnica de *swab* de mãos com plaqueamento da amostra pelo método de Pour Plate seguido de análise estatística. As formulações testadas apresentaram resultados satisfatórios nas avaliações físico-químicas e organolépticas. A eficácia na redução da carga microbiana das mãos dos voluntários foi comprovada por meio do teste de Wilcoxon ($p < 0,05$) para as três formulações e pelo teste de Kruskal-Wallis foi verificada maior ação antimicrobiana dos sabonetes capim-limão e triclosan em relação ao sabonete neutro ($p < 0,05$). Sendo assim, a higienização correta das mãos reduz significativamente a sua carga microbiana, principalmente, quando associado a utilização de sabonetes com ativos eficazes e seguros como óleos essenciais comprovadamente com ação antimicrobiana.

Palavras-chave: antimicrobianos; higiene das mãos; óleos essenciais; triclosan; capim-limão.

Abstract

*The practice of hand's hygiene is a simple routine, effective and important in the prevention and control of diseases, and is mainly associated with the use of soaps with antimicrobial actives such as triclosan. However, there are questions about the efficacy and safety of its use, therefore, it is suggested to replace it with other antimicrobial compounds, such as the essential oil *Cymbopogon citratus* (DC) with scientifically proven activities. The objective of the research was to evaluate the effectiveness of hand's hygiene by comparing the microbiological results before and after hand's washing using three liquid soap formulations, two incorporated with antimicrobial components and one without active. The soaps were manipulated at the Pharmacy School of the Centro Universitário Presidente Antônio Carlos of the Juiz de Fora and submitted to tests for quality control, the effectiveness was determined by the swab technique of hands with plating of the sample by the Pour Plate method followed by statistical analysis. The tested formulations showed satisfactory results in physicochemical and organoleptic evaluations. The effectiveness in reducing the microbial load on the volunteers' hands was confirmed by means of the Wilcoxon test ($p < 0.05$) for the three formulations and by the Kruskal-Wallis test, a greater antimicrobial action was verified for lemongrass and triclosan soaps in compared to neutral soap ($p < 0.05$). Therefore, correct hand's hygiene reduces, significantly, their microbial load, especially when associated with the use of soaps with effective and safe active ingredients such as essential oils proven to have antimicrobial action.*

Keywords: anti-infective agents; hand hygiene; essential oils; triclosan; lemon grass.

1 Introdução

Regulamentados pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 7 de 2015 (ANVISA, 2015), os produtos de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos (HPPC) são definidos como

Preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas para uso externo nas diversas partes do corpo humano – pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral – com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência, corrigir odores corporais, protegê-los e/ou mantê-los em bom estado (ANVISA, 2015, n.p.).

Os itens de HPPC fazem parte dos cuidados habituais diários das pessoas em todo o mundo, além de ser considerado indispensável para os cuidados básicos com a saúde, alinhados ao bem-estar e a qualidade de vida. Dados do mercado mostram que o Brasil ocupa o quarto lugar no *ranking* de consumo mundial de HPPC e fica apenas atrás dos Estados Unidos da América (EUA) no *ranking* global de países que mais lançam produtos anualmente (ABIHPEC, 2023).

Dentre os vários cuidados com a saúde, a prática de higienização das mãos é sem dúvida a rotina mais simples, eficaz e de maior importância na prevenção e no controle da disseminação de doenças (Primo *et al.*, 2010). A limpeza associada à desinfecção é a melhor prática para prevenir, inclusive, a doença causada pelo coronavírus, Covid-19. A transmissão do Covid-19 pode ocorrer por meio de gotículas respiratórias ou contato, por exemplo, quando as mãos contaminadas tocam as mucosas da boca, olhos ou nariz, ou ainda, tocam outras superfícies, acarretando a transmissão do vírus por contato indireto. Portanto, a higienização das mãos é uma medida importante no processo para interromper a transmissão do vírus Covid-19, assim como de outros vírus e bactérias, reduzindo a carga microbiana de uma forma geral (CENTERS, 2020; WHO, 2020).

Incorporada a essa prática de higienização, tornou-se comum a utilização de sabonetes com ativos antimicrobianos, visando reduzir a microbiota das mãos (Haas *et al.*, 2005). Entre os ativos utilizados nessas formulações está o triclosan (1-tricloro-2,4,4'-hidróxi-2'-difetiléter), que apesar de regulamentado por meio da RDC 528/2021, como conservante numa concentração máxima de 0,3% (m/v) em produtos de HPPC, é comumente utilizado em formulações como agente antimicrobiano em concentrações superiores a indicada na legislação (ANVISA, 2021).

No entanto, o consumo de produtos contendo o triclosan tem sido alvo de preocupações com a saúde humana e ambiental (Yueh, 2016; Weatherly; Gosse, 2017). Considerando a relevância, a segurança e a eficácia do mesmo, em dezembro de 2017 a *Food and Drug Administration* (FDA), emitiu uma regra final que banuiu o uso do triclosan e mais 23 compostos em produtos antissépticos isentos de prescrição médica alegando que o triclosan não oferece benefícios para a saúde humana (FDA; HHS, 2017).

Como alternativa ao uso do triclosan, existem as plantas medicinais e seus metabólitos, como os óleos essenciais, cujo efeitos antimicrobianos e propriedades antissépticas, sugerem que a incorporação desses em formulações de HPPC pode ser eficaz, além de diminuir riscos ambientais e à saúde (Gnatta *et al.*, 2013).

A espécie *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, popularmente conhecida como capim-limão, está entre as espécies com propriedades antimicrobianas relevantes, em que o óleo essencial se mostra efetivo contra leveduras e bactérias. Tal propriedade foi atribuída ao citral, mistura dos isômeros geranial e neral (65-80%), constituinte principal do óleo essencial do capim-limão (Leal *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2009).

Considerando a possibilidade de utilização de diversas formulações na lavagem das mãos, o presente estudo teve por objetivo avaliar a eficácia do processo de higienização das mãos de voluntários pela análise da redução da contagem microbiana após a lavagem com diferentes formulações de sabonetes líquidos.

2 Métodos

2.1 Preparo das formulações

A formulação-base dos sabonetes líquidos foi manipulada respeitando os critérios de boas práticas de manipulação disposto na RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007 (ANVISA, 2007c), conforme descrição da fórmula no Quadro 1.

As matérias-primas foram calculadas para pesagem em quantidade suficiente para o preparo de 800 mL da formulação-base. Em um béquer, foram adicionados, o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), o lauril éter sulfato de sódio e o coco amido propil betaina, empregando 50 mL de água destilada para homogeneizar. Em outro recipiente, foram misturados os conservantes e a dietanolamida de ácido graxo de coco, aquecendo até, aproximadamente, 50 °C e sob agitação até completa solubilização e homogeneização dos sólidos.

Quadro 1 – Descrição das matérias-primas, funções e respectivas concentrações dos componentes da formulação-base dos sabonetes líquidos empregados no ensaio de eficácia de higienização das mãos

Matéria-prima	Função	Concentração % (m/v)
Coco amido propilbetaina	Tensoativo Anfótero	3
Lauril Ester Sulfato de Sódio	Tensoativo Aniônico	35
Edetatodissódico (EDTA)	Potencializa a ação do conservante prevenindo a formação do ranço	0,2
Dietanolamida de ácido graxo de coco	Espessante	3
Glicerina	Umectante/Solvente	3
Metilparabeno	Conservante	0,15
Propilparabeno	Conservante	0,05
Propilenoglicol	Umectante	1
Ácido Cítrico	Ajuste de pH	Quantidade suficiente
Triclosan	Antimicrobiano	0,3 (apenas na F2)
Óleo essencial de capim-limão	Antimicrobiano	2 (apenas na F3)
Água purificada	Veículo	q.s.p. 100%

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2007c.

Em seguida, foi adicionado o propilenoglicol. As duas partes foram misturadas acertando o volume final para 800 mL com água destilada. A formulação-base foi dividida em três partes, sendo uma alíquota separada e sem adição de nenhum composto antimicrobiano, denominada de F1. Em outra parte, foi adicionado o triclosan, denominada F2 e à terceira e última parte da formulação, denominada como F3, foi incorporado o óleo essencial.

2.2 Caracterização química do óleo essencial

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* incorporado em F3, foi obtido comercialmente da empresa Laszlo® Aromatologia Ltda, a determinação da composição química do óleo foi realizada por Cromatografia de Fase Gasosa de Alta Resolução, empregando o cromatógrafo BRUKER-SCION 456-GC, acoplado a espectrômetro de massas BRUKER-SCION TQ, na Central Analítica Fernanda Coutinho do Instituto de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Foi utilizada uma coluna BR5-MS (95% Polimetilsiloxano + 5% fenil); 30m x 0,25mm ID, 0,25 µm film, o módulo de injeção com vazão de divisão de fluxo 1:10 e volume de 1 µL de injeção da amostra. Como gás de arraste, foi usado o gás Hélio, a um fluxo de 1,0 mL/min. Utilizou-se espectro de varredura de 40 a 500 Da. Na identificação dos espectros de massas dos principais picos do cromatograma, foi realizada por comparação com a biblioteca espectral em massa do *National Institute of Standards and Technology* (NIST).

2.3 Controle de qualidade físico-químico dos sabonetes líquidos

De modo geral foram avaliadas características organolépticas e constantes físico-químicas das formulações, empregando as metodologias propostas na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (ANVISA, 2010).

2.4 Ensaios organolépticos

Nos ensaios organolépticos foram avaliadas características detectáveis pelos órgãos sensoriais, seguindo os parâmetros aspecto, cor e odor. Foram observadas características visuais e macroscópicas da amostra. A cor foi determinada pelo método visual, sob luz branca e comparada com a sua coloração inicial, já o odor da amostra foi avaliado diretamente através do olfato.

2.5 Ensaios físico-químicos

2.5.1 Determinação do pH

O pH foi determinado por potenciometria com auxílio do pHmetro Digimed – DM22. O valor foi medido pela diferença de potencial entre dois eletrodos imersos na amostra em estudo.

2.5.2 Determinação da densidade

Para determinar a densidade das formulações foi utilizado o método do picnômetro. A amostra foi transferida para um picnômetro limpo e seco, com capacidade de, no mínimo, 25mL e calibrado através da determinação da massa do picnômetro vazio e da massa de seu conteúdo com água a 20°C, recentemente destilada e fervida. Após ajustar a temperatura para 20°C, o excesso da substância foi removido e o picnômetro pesado. O peso da amostra foi obtido através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. A densidade relativa foi calculada determinando a razão entre a massa da amostra líquida e a massa da água, ambas a 20°C. A densidade relativa foi utilizada para calcular a densidade da massa.

2.5.3 Determinação de viscosidade

A viscosidade foi determinada utilizando o viscosímetro de *brookfield* MARTE-MDV20, utilizando-se *spindle* número 4 a 60 rotações por minuto (RPM). Para isso o *spindle* foi imerso nas amostras e a medida foi calculada pelo aparelho em centipoise (cPs).

2.6 Avaliação da eficácia de higienização das mãos

A avaliação da eficácia de higienização das mãos foi realizada por meio de um estudo experimental que avaliou a atividade antimicrobiana dos sabonetes líquidos associados à técnica de lavagem das mãos. Foi uma amostragem por conveniência, em que as formulações foram testadas em condições normais de uso, com 12 voluntários, tendo como base a norma EN1499:2013 adaptada (EUROPEAN, 2013).

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisas e após aprovação (número do parecer 2.780.461) o estudo foi iniciado. Foi distribuído aos voluntários um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), para que tivessem ciência do trabalho realizado e autorizassem a divulgação dos resultados obtidos, mantendo a identidade dos mesmos em sigilo.

As análises ocorreram em dia e horário agendados com os voluntários no Laboratório de microbiologia do Centro Universitário Presidente Antônio Carlos/Campus JF. Os mesmos receberam um treinamento prévio da técnica de higienização das mãos.

As análises ocorreram em três etapas, com intervalo de sete dias entre as etapas, ou seja, para total cumprimento da pesquisa e para que os dados fossem validados, cada voluntário compareceu ao laboratório por três vezes, com duração de 15 a 20 minutos cada visita. Em cada etapa foi testada uma formulação diferente, respeitando a seguinte ordem de testes, primeira etapa sabonete líquido neutro sem ativo, segunda etapa sabonete líquido com óleo essencial de capim-limão a 2,0% (m/v) e terceira etapa sabonete líquido com triclosan a 0,3% (m/v). Foi realizada a contagem de microrganismos viáveis totais das mãos dos voluntários antes e após a higienização com as formulações.

A técnica de higiene das mãos utilizada nos ensaios foi a publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), substituindo-se o sabão por uma das amostras de sabonetes manipuladas.

Seguindo a técnica, primeiramente, as mãos foram molhadas evitando sempre o contato com a pia. Aplicou-se o sabonete em quantidade suficiente para cobrir toda superfície das mãos quando espalhado. Assim, toda a superfície foi ensaboada, friccionando sempre uma palma na outra. Esfregou-se o dorso de uma mão com a palma da outra mão, entrelaçando os dedos, posteriormente, esfregando os espaços interdigitais. O dorso dos dedos de uma mão foi esfregado com a palma da outra, segurando os dedos e fazendo movimento de vaivém friccionando. Da mesma forma, cada polegar foi esfregado com

auxílio da outra mão, com movimentos circulares. As pontas dos dedos também foram esfregadas contra a palma da outra mão fazendo movimentos de fricção circulares e a parte do punho foi esfregada com apoio da palma da outra mão, em movimentos circulares. O enxágue foi feito retirando os resíduos do sabonete, partindo da ponta dos dedos para o punho. A mão foi seca com papel toalha estéril, iniciando pelas palmas das mãos e, em seguida, os punhos. Os movimentos foram efetuados na mão direita e esquerda, o procedimento teve duração entre 40 e 60 segundos (ANVISA, 2007b).

As coletas das amostras foram realizadas pela técnica de *swab* das mãos, somente na mão direita dos voluntários, antes e após a higienização das mesmas. O *swab* esterilizado foi umedecido em solução tampão fosfato pH 7,2 e, em seguida, aplicado sobre a mão do voluntário, friccionando na direção de cada dedo, por três vezes a partir do punho e, posteriormente, entre os dedos. O material coletado foi transferido para um tubo contendo 10 mL de tampão-fosfato, em seguida uma alíquota de 1mL foi pipetada para uma placa estéril e, para o cultivo, foram adicionados em cada placa cerca de 15 mL a 20mL do ágar para contagem total de bactérias Pour Plate Agar (PCA) - MERCK®. Foi realizada diluição 10^{-1} para as amostras coletadas antes da lavagem das mãos, permitindo obter placas com contagem de 30 a 300 colônias. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica Nova ética 400/D com temperatura controlada a 37°C. Após o período de 5 dias, as unidades formadoras de colônia (UFC) foram quantificadas. Com essa metodologia, foi possível quantificar os microrganismos nas mãos dos voluntários antes delas serem higienizadas e após a higienização com as formulações em teste. Os ensaios foram conduzidos em condições de esterilização e assepsia adequados, em que todos os voluntários foram submetidos ao mesmo método de higienização e secagem das mãos, possibilitando um comparativo entre as amostras (Andrade, 2008).

2.7 Análise estatística dos dados

Após estabelecer o número de UFC por placa, foi comparada a quantidade de UFC nos momentos antes e depois da higiene das mãos para cada formulação e, posteriormente, a fim de constatar qual formulação entre as três testadas foi mais eficaz na redução da carga microbiana nas mãos dos voluntários, os valores obtidos entre as três formulações foram comparados.

Para isso, os resultados de UFC/mL foram digitados em planilha eletrônica e avaliados estatisticamente com o auxílio do *software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*

versão 21.0. As amostras foram testadas quanto a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e o teste de Wilcoxon foi utilizado para comparar a carga microbiana antes e depois das lavagens das mãos para cada uma das formulações, enquanto o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste Post-Hoc de Dunn foi aplicado para verificar diferenças nos resultados entre as três formulações utilizadas, ambos para um nível de significância de 0,05 ($p < 0,05$).

3 Resultados

A fim de garantir a qualidade do óleo essencial utilizado na formulação F3, foi realizada a cromatografia de fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. De acordo com os espectros de massas dos três principais picos do perfil cromatográfico do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, foi possível identificar os componentes mirceno, neral e geranial, como apresentado na Figura 1.

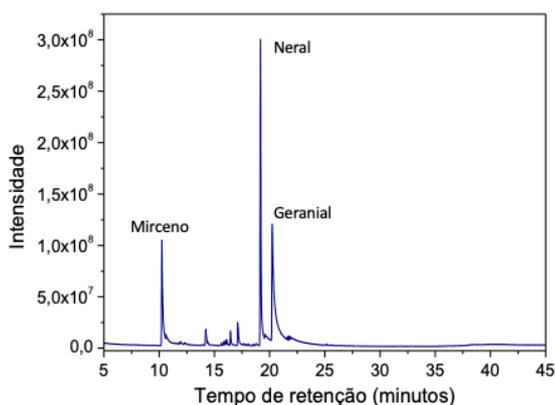


Gráfico 1 – Perfil cromatográfico do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, obtidos por CG-EM ou GC-MS.

Fonte: Dados da pesquisa.

Na avaliação das características organolépticas foi constatado que as amostras se mantiveram uniformes, dentro do padrão esperado de sabonete líquido para as mãos, visto que formulações como estas não possuem regulamentação definida para tais características. Os resultados para cor, odor e aspecto estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultado do controle de qualidade dos parâmetros organolépticos para as formulações de sabonete líquido.

Parâmetros organolépticos	Sabonete Neutro (F1)	Sabonete Triclosan (F2)	Sabonete Capim-Limão (F3)
Cor	Transparente	Transparente	Amarelado
Odor	Inodoro	Inodoro	Característico
Aspecto	Viscoso	Viscoso	Viscoso

Fonte: Dados da pesquisa.

O aspecto das formulações se manteve estável e em nenhuma delas houve formação de precipitados, divisão de fases

ou turvação. No que se refere à cor e ao odor, somente a F3 teve leve alteração, apresentando uma cor mais amarelada e odor característico.

Quanto aos parâmetros físico-químicos pH, densidade e viscosidade, os resultados estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultado do controle de qualidade físico-químico para as formulações de sabonete líquido.

Parâmetros Físico-Químicos	Sabonete Neutro	Sabonete Triclosan	Sabonete Capim-Limão
pH	6,3	6,1	5,9
Densidade	1,08186 g/mL	1,08277 g/mL	1,08302 g/mL
Viscosidade	2856 cPs	2856 cPs	3120 cPs

Fonte: Dados da pesquisa.

As formulações apresentaram pH dentro da faixa considerada ideal para sua utilização entre 5,5 e 6,5. As densidades foram semelhantes para as três formulações, dentro de valores que garantem a qualidade do produto. Quanto à viscosidade dos sabonetes, a maior diferença observada foi para F3, o qual se mostrou mais viscoso.

Os resultados da contagem de microrganismos viáveis totais nas mãos dos voluntários, antes e após a higienização das mãos, com as três formulações de sabonetes líquidos, estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados da contagem de microrganismos viáveis totais das mãos de voluntários, antes e após a higienização das mãos, com diferentes sabonetes líquidos.

AMOSTRAS	SABONETE NEUTRO		SABONETE TRICLOSAN		SABONETE CAPIM-LIMÃO	
	ANTES	DEPOIS	ANTES	DEPOIS	ANTES	DEPOIS
1	5,9 x 10 ³	2,1 x 10 ²	4,0 x 10 ³	3,0 x 10 ¹	1,6 x 10 ³	5,0 x 10 ¹
2	3,1 x 10 ³	1,8 x 10 ²	6,0 x 10 ²	2,0 x 10 ¹	1,4 x 10 ³	6,0 x 10 ¹
3	5,6 x 10 ³	4,0 x 10 ¹	2,3 x 10 ³	2,0 x 10 ¹	1,8 x 10 ³	3,0 x 10 ¹
4	4,9 x 10 ³	1,2 x 10 ²	8,0 x 10 ²	2,0 x 10 ¹	8,0 x 10 ²	3,0 x 10 ¹
5	4,7 x 10 ³	1,2 x 10 ²	3,2 x 10 ³	4,0 x 10 ¹	1,3 x 10 ³	6,0 x 10 ¹
6	4,8 x 10 ³	1,8 x 10 ²	3,1 x 10 ³	8,0 x 10 ¹	1,2 x 10 ³	3,0 x 10 ¹
7	6,8 x 10 ³	2,2 x 10 ²	1,4 x 10 ³	4,0 x 10 ¹	1,1 x 10 ³	8,0 x 10 ¹
8	4,8 x 10 ³	1,6 x 10 ²	8,0 x 10 ²	3,0 x 10 ¹	1,1 x 10 ³	5,0 x 10 ¹
9	6,4 x 10 ³	1,1 x 10 ²	3,2 x 10 ³	1,2 x 10 ²	1,9 x 10 ³	3,0 x 10 ¹
10	4,7 x 10 ³	9,0 x 10 ¹	2,8 x 10 ³	4,0 x 10 ¹	1,7 x 10 ³	3,0 x 10 ¹

Nota: Os resultados estão expressos em UFC/mL/mão.

Fonte: Dados da pesquisa.

A comparação entre os resultados mostrou que a técnica de higienização agregada à utilização dos sabonetes foi eficaz na redução microbiana para todas as formulações, tendo rendimento significativo ($p < 0,05$), reduzindo a carga microbiana após a higiene das mãos. Quando realizada a comparação entre as formulações, identificou-se uma diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação do triclosan e do capim-limão em relação ao sabonete neutro, não sendo encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) na comparação do sabonete de capim-

limão com o triclosan. A Tabela 4 sintetiza os resultados da ação antimicrobiana para cada uma das formulações.

Tabela 4 – Comparação da eficácia de higienização das mãos entre as diferentes formulações de sabonetes líquidos.

Formulação	Momento da Testagem		Comparação entre os resultados das Formulações			
	Antes	Depois	p value	Neutro	Capim-limão	Triclosan
Neutro	5170	143	p<0,05	-	p<0,05	p<0,05
Capim-limão	1390	45	p<0,05	p<0,05	-	p>0,05
Triclosan	2220	44	p<0,05	p<0,05	p>0,05	-

Nota: valores médios expressos em UFC/mL/mão.

Fonte: Dados da pesquisa.

4 Discussão

O hábito de higienização das mãos é uma medida simples, mas extremamente relevante para evitar doenças e impedir novos contágios. Liu *et al.* (2016), demonstraram que há relação de redução progressiva do risco de transmissão das infecções quando as chances de higienização das mãos aumentam, nos casos de controle contra gripes sazonais, sendo a higiene das mãos a medida não medicamentosa mais eficiente capaz de reduzir novos casos. No presente estudo, os resultados obtidos comprovaram que a higienização correta das mãos reduz significativamente a carga microbiana.

No entanto, esta higienização tem sido banalizada no dia a dia. Um estudo observacional sobre a prática após utilização do banheiro, realizado com público amplo, constatou que a maioria das pessoas não é capaz de higienizar as mãos adequadamente, não realizando a técnica recomendada, negligenciando o tempo investido e, até mesmo, o uso dos sabonetes, o que reduz a eficácia do processo de higienização das mãos (Borchgrevink; Cha; Kim, 2013). Os sabonetes são grandes aliados do procedimento e, independentemente de suas formulações, auxiliam na função de reduzir a carga microbiana, conforme também foi constatado no presente estudo.

A escolha da formulação utilizada para sabonetes é importante e envolvem características essenciais para a satisfação do usuário, podendo contribuir para adesão ao uso. Assim, a verificação das especificações é requisito necessário para garantir a eficácia do produto, a segurança e a sua aceitabilidade (ANVISA, 2007a). Daí a importância de certificar que as formulações utilizadas no presente estudo obtinham tais propriedades.

Nos resultados encontrados para o controle das características físico-químicas das formulações, a cor amarelada e a maior viscosidade, encontrada em F3, pode ser atribuída à adição do óleo essencial na formulação, contudo tais peculiaridades não interferem na sua utilização. Embora não seja objetivo do presente trabalho, vale destacar que o sabonete com óleo essencial de capim-limão apresentou odor característico

muito agradável ao olfato, instintivamente ligado a limpeza e ao bem-estar, sendo elogiado e citado em vários momentos pelos participantes, agregando assim, apelo estético a formulação. Quanto aos valores encontrados para o pH das formulações, por serem sabonetes para as mãos, estão dentro do esperado, pois assemelham-se ao pH cutâneo evitando ressecamentos e possíveis danos a pele a medida em que são utilizados (Leonardi; Gaspar; Campos, 2002).

Adicionalmente, com o propósito de potencializar a eficácia dos sabonetes líquidos no processo de higienização, compostos antimicrobianos são comumente incorporados nas formulações. Haas *et al.* (2005), afirmam que sabonetes contendo antimicrobianos, são mais utilizados pelo público em geral, sobe a alegação de serem de fato mais efetivos que os sabonetes neutros.

Em 1987, o primeiro sabonete líquido com composto antimicrobiano foi lançado e continha o triclosan como princípio ativo (Lundmark, 2008). Existem no mercado brasileiro uma diversidade de produtos contendo triclosan, inclusive, em muitas dessas formulações sua concentração pode chegar a até 2%, ultrapassando o limite de 0,3% estabelecido pela RDC 528/2021.

Porém, com o passar dos anos, foi verificado que tal composto pode ser responsável por uma série de danos à saúde do usuário, assim como danos ambientais (Weatherly; Gosse, 2017). Tais pesquisas levaram a FDA a mensurar o risco/benefício do composto, proibindo assim o uso do triclosan em sabão em barra e líquido nos EUA. No entanto, o produto ainda se encontra presente em produtos como pastas dentais e enxaguantes bucais, o que faz com que a exposição ao composto ainda seja grande (FDA; HHS, 2017). Weatherly *et al.* (2016), em sua pesquisa evidenciaram que a exposição humana ao triclosan produz efeitos citotóxicos e, principalmente, alterações mitocondriais celulares. Os autores o classificaram como um produto químico de desregulação endócrina em várias espécies, incluindo humanos, relacionando o aumento nas concentrações de triclosan na urina com uma elevação nos níveis de hormônio T₃ total. A toxicidade do triclosan também foi testada em modelo *in vitro* utilizando linhagem celular de hepatócitos de peixe-zebra, os resultados comprovaram a citotoxicidade (Guidony *et al.*, 2021).

Diante do exposto, existe uma busca por produtos baseados em princípios ativos naturais e o interesse por óleos essenciais com propriedades antimicrobianas tem evoluído com amplas perspectivas. Em um estudo, realizado *in silico*, o efeito de compostos bioativos encontrados no óleo essencial de

espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia*, foi testado como uma opção de terapia eficaz contra a covid-19, o resultado demonstrou que o óleo essencial das espécies investigadas, principalmente o componente eucaliptol, pode ser utilizado como um potencial inibidor contra o vírus (Panikar, 2021). Alghamdi (2021), em seu estudo, destacando que a higienização das mãos foi primordial entre as medidas preventivas durante a pandemia de covid-19, apresentou formulações e preparações a base de plantas com reconhecida atividade antimicrobiana e de menor toxicidade ambiental. Segundo o autor, a adaptação de preparações alternativas baseadas em recursos naturais e vegetais para serem utilizados como desinfetantes para as mãos, pode ser uma solução para a toxicidade de alguns compostos sintéticos utilizados.

O potencial antiviral de óleos essenciais e seus constituintes químicos também foi discutido no trabalho de revisão de Wani *et al.* (2021). Os autores evidenciaram os testes realizados com os óleos essenciais contra vários vírus patogênicos, incluindo influenza e outras infecções virais respiratórias como a covid-19, sendo que o óleo essencial do capim-limão foi descrito como tendo efeitos antivirais potentes contra o vírus da influenza tipo A.

Mas, a primeira preocupação ao se utilizar óleos essenciais, refere-se à qualidade da matéria-prima, visto que suas propriedades antimicrobianas estão invariavelmente ligadas à sua composição. No caso do óleo essencial de capim-limão, mais de 60 marcadores químicos podem ser identificados, mas a sua boa qualidade é atribuída à quantidade de citral, que deve se manter numa faixa entre 65-80%, o citral é uma mistura dos compostos geranial e neral, que são os compostos majoritários do óleo e responsáveis por sua ação antimicrobiana (Leal *et al.*, 2003; Ajayi; Sadimenko; Afolayan, 2016). No presente estudo, o óleo utilizado foi testado e a presença desses componentes foi confirmada pelo perfil cromatográfico. O capim-limão é

considerado pela FDA, como um aditivo seguro (FDA, 2017). Possuindo efeito antimicrobiano, desempenhando atividade antiviral (Almeida, 2018), antibacteriana (Hindumathy, 2011) e antifúngica (Al-Yousef, 2013). O óleo também foi testado quanto a sua atividade antimicrobiana em espécies formadoras de biofilme dentário, tendo atividade satisfatória contra espécies cariogênicas, apontando-o como promissor substituto do triclosan, não só em sabonetes, como também em enxaguantes bucais e pastas de dentes. O mesmo estudo demonstra baixa toxicidade do óleo essencial de *C. citratus* (Oliveira *et al.*, 2017).

Assim como o presente trabalho, Gnatta *et al.* (2013) avaliaram e compararam a higiene das mãos realizada com sabonete líquido contendo óleo essencial de Tea Tree 0,3% (m/v) e o sabonete líquido contendo 0,5% (m/v) de triclosan e, em termos de eficácia antimicrobiana, também não houve diferença no processo de higienização das mãos entre as duas formulações testadas. Logo, alternativas naturais ao uso do triclosan são excelentes opções como adjuvantes ao processo de higienização das mãos.

5 Conclusão

Uma técnica de higienização das mãos feita de forma correta utilizando sabonetes líquidos, incluindo aqueles com óleos essenciais comprovadamente com ação antimicrobiana, é eficaz na redução da carga microbiana. Porém, o uso do triclosan em sabonetes líquidos com o objetivo de reduzir a contagem microbiana nas mãos, apesar de eficaz, é questionável diante dos riscos que ele apresenta ao homem e ao meio ambiente. Portanto, a busca por alternativas naturais que possam substituir esse composto é necessária e os óleos essenciais são opções promissoras para essa finalidade.

6 Referências

ABIHPEC. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. **Panorama do Setor**. 2023. Disponível em: <https://abihpec.org.br/publicacao/panorama-do-setor/>. Acesso em: 17 jul. 2023.

AJAYI, E. O.; SADIMENKO, A. P.; AFOLAYAN, A. J. GC-MS evaluation of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf oil obtained using modified hydrodistillation and microwave extraction methods. **Food chem.**, v. 209, p. 262-266, 2016.

ALGHAMDI, H. A. A need to combat COVID-19; herbal disinfection techniques, formulations and preparations of human

health friendly hand sanitizers. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, p. 3943-3947, 2021.

ALMEIDA, K. B. *et al.* In vitro release and anti-herpetic activity of *Cymbopogon citratus* volatile oil-loaded nanogel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 495-502, 2018.

AL-YOUSEF, S. A. Antifungal activity of volatiles from lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and peppermint (*Mentha piperita*) oils against some respiratory pathogenic species of *Aspergillus*. **Int J Curr Microbiol Appl Sci**, v. 2, n. 6, p. 261-272, 2013.

ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos -**

Avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. São Paulo, SP: Varela, 2008.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 5. ed. Brasília, DF: ANVISA, 2010. (Vol. 1).

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos: uma abordagem sobre ensaios físicos e químicos**. Brasília, DF: ANVISA, 2007a.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Higienização das mãos em serviços de saúde**. Brasília, DF: ANVISA, 2007b.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 7, 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. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867685/RDC_07_2015.pdf/c2a1078c46cf-4c4b-888a-092f3058a7c7. Acesso em: 17 jul. 2023.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007**. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias. 2007c. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/res0067_08_10_2007.html. Acesso em: 17 jul. 2023.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 528, de 4 de agosto de 2021**. Dispõe sobre a lista de substâncias de ação conservante permitidas para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e internaliza a Resolução GMC MERCOSUL nº 35/20. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-de-diretoria-colegiada-rdc-n-528-de-4-de-agosto-de-2021-337561592>. Acesso em: 17 jul. 2023.

BORCHGREVINK, C. P.; CHA, J. M.; KIM, S. H. Hand washing practices in college town environment. **Journal Environ Health**, v. 75, n. 8, p. 18-25, 2013.

CENTERS for Disease Control and Prevention. **Interim Infection Prevention and Control Recommendations for Healthcare Personnel During the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic**. 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/infectioncontrolrecommendations.htm>. Acesso em: 17 jul. 2023.

EUROPEAN Committee for Standardization. **BS EN 1499:2013**. Chemical disinfectants and antiseptics – hygienic handwash – test method and requirements (phase2/step2). Brussels, Belgium: Central Secretariat, 2013. Disponível em: <https://www.sis.se/api/document/preview/89943/>. Acesso em: 17 jul. 2023.

FDA. Food and Drug Administration. **Substances generally recognized as safe**. Code of Federal Regulations (Title 21. Volume 3. Part 182), 2017. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.60>. Acesso em: 17 jul. 2023.

FDA; HHS. Safety and Effectiveness for Health Care Antiseptics, Topical Antimicrobial Drug Products for Over-the-Counter Human Use. Final Rule. **Fed Regist**, v. 82, n. 242, p. 60474-60503, dec. 2017.

GNATTA, J. R. *et al.* Comparison of hand hygiene antimicrobial efficacy: *Melaleuca alternifolia* essential oil versus triclosan. **Rev. Latino-Am Enfermagem**, v. 21, n. 6, p. 1212-1219, 2013.

GUIDONY, N. S. *et al.* ABC proteins activity and cytotoxicity in zebrafish hepatocytes exposed to triclosan. **Environmental Pollution**, v. 271, 116368, 2021.

HAAS, C. N. *et al.* Assessment of benefits from use of antimicrobial hand products: Reduction in risk from handling ground beef. **Int. J. Hyg. Environ. Health**, v. 208, n. 1, p. 461-466, 2005.

HINDUMATHY, C. K. In vitro antibacterial activity of lemongrass. **ISSRI**, v. 5, n. 2, p. 164-168, 2011.

LEAL, T. C. A. B. *et al.* Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim cidreira [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf] em diferentes idades. **BrasPIMed**, v. 5, p. 61-64, 2003.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. G. B. M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **An bras Dermatol.**, v. 77, n. 5, p. 563-569, 2002.

LIU, M. *et al.* Protective effect of hand-washing an good hygienic habist against seasonal influenza: a case-control study. **Medicine**, Baltimore, v. 95, n. 11, p. 1-7, 2016.

LUNDMARK, L. The evolution of liquid soap. **Cosmetics & Toiletries**, v. 107, p. 49-53, 2008.

OLIVEIRA, M. A. C. *et al.* *Cymbopogon citratus* essential oil: effect on polymicrobial caries-related biofilm with low cytotoxicity. **Braz. Oral Res.**, v. 31, e89, 2017.

PANIKAR, S. *et al.* Essential oils as an effective alternative for the treatment of COVID-19: Molecular interaction analysis of protease (Mpro) with pharmacokinetics and toxicological properties. **Journal of Infection and Public Health**, v. 14, n. 5, p. 601-610, 2021.

PRIMO, I. M. G. B. *et al.* Adesão à prática de higienização das mãos por profissionais de saúde de um Hospital Universitário. **Rev. Eletr. Enf.**, v. 12, n. 2, p. 266-271, 2010.

SANTOS, A. *et al.* Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 19, n. 2a, p. 436-441, 2009.

WANI, A. R. *et al.* An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. **Microb Pathog**, v. 152, art. 104620, 2021.

WEATHERLY, L. M.; GOSSE, J. A. Triclosan exposure, transformation and human health effects. **J. Toxicol Environ Health B Cri Rev.**, v. 20, n. 8, p. 447-469, 2017.

WEATHERLY, L. M. *et al.* Antimicrobial agent triclosan is a proton ionophore uncoupler of mitochondria in living rat and human mast cells and in primary human keratinocytes. **J Appl Toxicol.**, v. 36, p. 777-789, 2016.

WHO. **Interim Recommendation on obligatory hand hygiene against transmission of covid-19**. Apr. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/interim-recommendations-on-obligatory-hand-hygiene-against-transmission-of-covid-19>. Acesso em: 17 jul. 2023.

YUEH, M. F.; TUKEY, R. H. Triclosan: a widespread

environmental toxicant with many biological effects. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 56, p. 251-272, 2016.