

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA SOLUÇÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO A 0,5%, UTILIZADA PELA FARMAUSCS, E DE SUA EFICÁCIA BACTERICIDA SOBRE STAPHYLOCOCCUS AUREUS E ESCHERICHIA COLI

EVALUATION OF PHYSICAL AND CHEMICAL STABILITY OF SODIUM HYPOCHLORITE SOLUTION 0.5% USED BY FARMAUSCS AND ITS BACTERICIDAL EFFICACY OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND ESCHERICHIA COLI

Débora Cristina Caetano de Andrade¹, Cícera Cristina Vidal Aragão² e Cássia Maria Furlan³

¹ Graduanda do curso de Farmácia da Universidade Municipal de São Caetano do Sul - USCS.

² Farmacêutica responsável pela Farmácia-Escola da Universidade Municipal de São Caetano do Sul - FarmaUSCS.

³ Docente do curso de Farmácia da Universidade Municipal de São Caetano do Sul - USCS.

RESUMO

A FarmaUSCS é um projeto de extensão do curso de Farmácia da Universidade Municipal de São Caetano do Sul, que tem por finalidade manipular e dispensar medicamentos para a comunidade, além de servir de campo de estágio e de desenvolvimento de projetos de pesquisa. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a estabilidade físico-química da solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,5%, utilizada para a desinfecção de ambientes produtivos na FarmaUSCS, bem como sua eficácia como agente bactericida sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Para a estabilidade físico-química, amostras da solução foram submetidas a diferentes condições ambientais e determinado o teor de hipoclorito por iodometria. A eficácia do desinfetante foi realizada pela técnica da diluição em tubos. Em nenhuma das condições ambientais testadas, houve degradação do teor de hipoclorito de sódio. A solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,5% foi eficaz diante de *S. aureus* e *E. coli*, já a partir do tempo mínimo testado de 2,5 minutos de exposição.

Palavras-chave: hipoclorito de sódio, eficácia bactericida, estabilidade físico-química.

ABSTRACT

The FarmaUSCS is an extension project of the pharmacy's course of the Universidade de São Caetano do Sul. Its purpose is manipulate and dispense medicines to the community, beyond serving as field training period and development of research projects. The aim of this study was to evaluate the physical and chemical stability of the aqueous solution of sodium hypochlorite 0.5%, used for disinfection of environments in FarmaUSCS and the effectiveness as bactericidal agent on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. For the physical and chemical stability, samples of the solution were submitted to different environmental conditions and determined the hypochlorite by iodometry. The efficacy of the disinfectant was used by the technique of dilution in tubes. None of the environmental conditions tested, there was degradation of the content of sodium hypochlorite. The aqueous solution of sodium hypochlorite 0.5% was effective against *S. aureus* and *E. coli* as from the minimum time of 2.5 minutes of exposure.

Keywords: sodium hypochlorite, bactericidal efficacy, physical and chemical stability.

I. INTRODUÇÃO

A FarmaUSCS é um projeto de extensão do curso de Farmácia da Universidade Municipal de São Caetano do Sul, que tem por finalidade manipular e dispensar medicamentos para a comunidade, além de servir de campo de estágio e de desenvolvimento de projetos de pesquisa. Como no local são manipulados medicamentos, a desinfecção desses ambientes produtivos é de extrema importância para que possam ser evitadas contaminações decorrentes de diferentes tipos de micro-organismos nos produtos finais, garantindo a qualidade dos medicamentos dispensados (OLIVEIRA, s/d; PINTO, KANEKO & OHARA, 2003). Para obter-se a qualidade microbiológica de um produto farmacêutico, é importante controlar todo o processo produtivo, conhecendo as possíveis e principais fontes de contaminação do ambiente e do medicamento. Em um ambiente produtivo, destacam-se como principais fontes geradoras de contaminantes microbiológicos: a matéria-prima, principalmente as de origem natural, uma vez que podem conter elevadas cargas microbianas, dependendo dos cuidados no momento da manipulação ou da estocagem; os operadores, devido à flora normal presente em humanos, ou, quando for o caso, à contaminação originada das condições inadequadas de higiene do indivíduo; o material de acondicionamento, podendo interferir na qualidade do produto final quando este não se encontra devidamente limpo; e, finalmente, a área de produção nos diferentes momentos da manipulação, quando não há controle dos contaminantes presentes na área, e quando não ocorre a higienização do local de forma correta (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003).

Pela constatação de o fator humano estar presente em todos os momentos do processo produtivo, os micro-organismos mais frequentemente encontrados são, em geral, derivados da flora dos operadores. Um dos micro-organismos que aparecem com frequência nesse tipo de contaminação é o *Staphylococcus aureus*, uma bactéria Gram-positiva que cresce em um padrão semelhante a cachos de uva. Além do arranjo padrão comumente encontrado, ele pode também se apresentar como células isoladas, aos pares ou em pequenas cadeias. Contém 1µm de diâmetro, é imóvel e pode crescer tanto em aerobiose como em anaerobiose (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; SANTOS *et al.*, 2007). Esta bactéria encontra-se frequentemente na flora cutânea e nas vias respiratórias de indivíduos sadios (RODRÍGUEZ, 2006). Porém, quando a integridade das barreiras naturais é comprometida, o *S. aureus* migra

para dentro do organismo, provocando infecções que, dependendo do caso, podem levar a óbito. O contato com esse micro-organismo leva a infecções simples, como foliculite, furúnculo, carbúnculo, espinhas, celulite e impetigo, podendo ocasionar também casos mais graves e complexos, como síndrome do choque tóxico, pneumonia, meningite, endocardite e septicemia. A transmissão pode acontecer por contato direto e indireto, ocorrendo frequentemente em ambientes hospitalares e dentro de comunidades em que há aglomeração de indivíduos, que se encontram expostos a uma gama de patógenos. Nos hospitais, a contaminação é muito mais comum, decorrente da susceptibilidade dos pacientes ali internados (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; SANTOS *et al.*, 2007; CAVALCANTI *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2007; SILVEIRA *et al.*, 2006).

Outro micro-organismo que também pode ser observado como contaminante de ambientes e produtos é a *Escherichia coli*, bactéria Gram-negativa que se apresenta na forma de bacilos. Faz parte da microbiota intestinal normal do homem, sendo, portanto, encontrada nas fezes de todos os indivíduos normais. Quando em seu *habitat* natural, a *E. coli* não é considerada uma bactéria patogênica. Porém, por intermédio de diferentes mecanismos, ela pode causar infecções tanto intestinais como extraintestinais, dependendo do local onde é encontrada. Devido a essa estreita relação com as fezes, a presença desse micro-organismo em ambientes, produtos ou, até mesmo, na água indica más condições de higiene do manipulador, sendo, portanto, primordial a sua detecção para verificação de uma possível contaminação fecal (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; TORTORA, FUNKE & CASE, 2005).

Como é relativamente normal a presença de micro-organismos no ambiente, por não se tratar de uma área de classificação limpa, utilizada apenas para produtos estéreis, deve-se monitorar o seu crescimento. Uma maneira de controlar esse tipo de contaminação é a utilização de antimicrobianos de ação ambiental (OLIVEIRA, s/d; TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; RODRÍGUEZ, 2006; PELCZAR JR., CHAN & KRIEG, 1996). Entende-se por agentes antimicrobianos substâncias químicas que matam ou inibem o crescimento de micro-organismos nos diferentes locais onde podem ser encontrados. Como exemplo, é possível ter um agente antisséptico, utilizado no corpo humano, principalmente em feridas e cortes, ou um desinfetante, produto utilizado principalmente em objetos inanimados e superfícies. A ação de um agente antimicrobiano pode ocorrer de duas formas principais: ação bactericida,

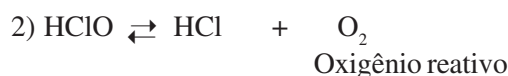
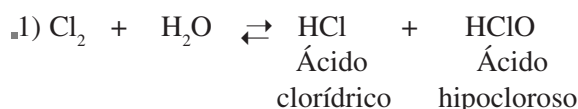
quando acontece a eliminação, ou seja, a morte do micro-organismo, neste caso, bactérias; ou pode também apresentar ação bacteriostática, quando acontece apenas a inibição do crescimento microbiano quando este entra em contato com o agente utilizado (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; RODRÍGUEZ, 2006; TORTORA, FUNKE & CASE, 2005; PELCZAR JR., CHAN & KRIEG, 1996).

Um agente químico antimicrobiano ideal deve apresentar algumas características: ser um produto de amplo espectro de ação em baixas concentrações; apresentar rápida inativação dos micro-organismos, ausência de poderes corrosivos e tintoriais; possuir atividade em temperaturas ambiente ou corporal; ser atóxico; ter ação residual; ter alta solubilidade, principalmente em água, por ser o veículo mais comumente utilizado; ser estável por um período razoável; apresentar poder desodorizante; ter tolerância à variação de pH; apresentar facilidade de aquisição e de preparo e com baixo custo (RODRÍGUEZ, 2006; PELCZAR JR., CHAN & KRIEG, 1996; ANDRADE *et al.*, 2007).

Por agregar várias características dentre as citadas acima, um produto muito utilizado é o hipoclorito de sódio, um composto inorgânico liberador de cloro ativo, empregado como desinfetante e alvejante doméstico, em desinfecção de áreas e equipamentos industriais farmacêuticos e alimentícios e, ainda, em sistemas para fim de diagnóstico, como hemodiálise. Sua utilização restringe-se a superfícies e objetos inanimados (RODRÍGUEZ, 2006; TORTORA, FUNKE & CASE, 2005; PELCZAR JR., CHAN & KRIEG, 1996; PRIETO *et al.*, 2007). Essa solução também é comumente empregada em tratamentos de água e desinfecção de materiais cirúrgicos e odontológicos (RODRÍGUEZ, 2006; ESTEVES *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2008).

A utilização do hipoclorito de sódio apresenta-se vantajosa em razão de se enquadrar muito bem nos requisitos necessários para a obtenção de uma eficiente ação antimicrobiana, além de ser de fácil aquisição e de baixo custo, contribuindo para o fato de ser largamente utilizado em ambientes farmacêuticos e hospitalares (OLIVEIRA, s/d; TORTORA, FUNKE & CASE, 2005; PELCZAR JR., CHAN & KRIEG, 1996; ESTEVES *et al.*, 2007; NICOLETTI *et al.*, 2009).

O hipoclorito de sódio, quando em contato com a água, sofre hidrólise com conseqüente formação do ácido hipocloroso. Este, por sua vez, sofre uma reação na qual acontece a liberação do oxigênio reativo, que é um poderoso agente oxidante, pois destrói substâncias celulares vitais aos micro-organismos por meio da oxidação. Esse processo ocorre, principalmente, em enzimas vitais para o metabolismo dos micro-organismos. As reações envolvidas no mecanismo de ação de agentes clorados, que é o caso do hipoclorito de sódio, estão representadas abaixo (TORTORA, FUNKE & CASE, 2005; PELCZAR JR., CHAN & KRIEG, 1996; NICOLETTI *et al.*, 2009; BORIN & OLIVEIRA, 2008):



Para que um agente saneante com ação antimicrobiana atue de maneira eficiente, é importante que ele mantenha suas características químicas e físicas desde o momento de sua diluição até a sua utilização no ambiente, garantindo a sua estabilidade (BORIN, BECKER & OLIVEIRA, 2007). A estabilidade de produtos saneantes depende de fatores ambientais, como temperatura, umidade e luz, e de outros inerentes ao produto, como propriedades físicas e químicas de substâncias ativas e dos demais componentes da formulação, forma de apresentação, tipo e propriedades dos materiais de embalagem. Assim, essa estabilidade pode sofrer alterações, dependendo das condições ambientais às quais o produto é submetido, principalmente em seu armazenamento e durante a sua utilização (BORIN & OLIVEIRA, 2008).

Partindo dessas considerações, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) publicou a Resolução RE n. 3.169/2006, estabelecendo as condições e os critérios para o desenvolvimento de estudos de estabilidade de agentes saneantes. Testes de estabilidade são realizados para determinar o prazo de validade dos produtos, a sua embalagem ideal e as condições ambientais adequadas para seu armazenamento e manuseio, visando a garantir que, no período de seu prazo de validade, quando o produto é utilizado e armazenado de forma correta, ele mantenha suas características iniciais, de modo a cumprir sua finalidade proposta (BRASIL, 2006).

Além dos estudos de estabilidade, que visam à qualidade do produto utilizado, torna-se necessário também garantir que um método empregado em um determinado local e para a finalidade pretendida realmente seja eficiente e seguro, garantindo assim

um alto grau de confiabilidade dos resultados obtidos ((PINTO, KANEKO & OHARA, 2003; ROCA *et al.*, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2008). Essa garantia se dá por meio do processo de validação, que é, segundo a Resolução RDC n. 67/2007, da Anvisa, o “ato documentado que ateste que qualquer procedimento, processo, material, atividade ou sistema esteja realmente conduzindo aos resultados esperados” (BRASIL, 2007). Ou seja, não é suficiente um procedimento estar adequadamente descrito nos Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) da empresa; ele precisa ser comprovadamente funcional, o que é atestado pela validação desse procedimento.

O presente trabalho teve, portanto, por objetivo avaliar a estabilidade físico-química da solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,5%, utilizada para a desinfecção de ambientes produtivos na FarmaUSCS, bem como sua eficácia como agente bactericida sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, validando assim o procedimento utilizado para sanitização dos ambientes da farmácia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

2.1.1. Amostra

Foi preparada uma diluição a 0,5% a partir da solução concentrada de hipoclorito de sódio a 5% \pm 0,5%. Essa diluição é a recomendada pelo fabricante no rótulo do produto para sua utilização como desinfetante de ambientes.

As características do fabricante da amostra estão especificadas abaixo.

Fabricante: Audax Química – Indústria e Comércio para Higiene.

Lote: 918.788.

Fabricação: 30/04/2009.

Validade: 30/10/2009.

Teor de NaClO declarado no rótulo: 5% \pm 0,5%.

2.1.2. Reagentes e soluções

Solução volumétrica de tiosulfato de sódio 0,1 M – fator de correção 1,0094.

Solução reagente de ácido acético 6 M.

Amido SR.

Iodeto de potássio p.a (Fabricante: Nuclear® Lote: 08.060.962).

Caldo Tryptic Soy Broth (Fabricante: Acumedia® Lote: 100.354).

Agar Tryptic Soy Agar (Fabricante: Himedia® Lote: 31.596).

Cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923.

Cepa padrão de *Escherichia coli* ATCC 25.922.

2.2. Métodos

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade da FarmaUSCS, localizado no Município de São Caetano do Sul.

2.2.1. Preparo da amostra

A amostra foi obtida a partir da diluição da solução de hipoclorito de sódio a 5%, até obter-se uma solução diluída a 0,5%, conforme instruções de uso constante no rótulo do produto.

Em seguida, a amostra foi distribuída em diferentes frascos de polietileno, leitosos e transparentes, que foram submetidos às diferentes condições ambientais citadas abaixo.

2.2.2. Estudo de estabilidade

A elaboração do protocolo de estabilidade seguiu as orientações constantes na Resolução RE n. 3.169/2006, no que se refere às condições ambientais e aos ensaios (BRASIL, 2006).

Cada unidade da amostra foi armazenada sob diferentes condições: geladeira Eletrolux do Brasil S/A®, a uma temperatura de 4°C a 8°C; temperatura ambiente protegida da luz solar; temperatura ambiente exposta ao calor, que era o armazenamento usual na farmácia. Nesta última condição, a amostra foi acondicionada em frasco de polietileno leitoso e em frasco de polietileno transparente.

Conforme preconizado para o estudo de estabilidade, cada unidade da amostra foi analisada em diferentes momentos: no momento inicial (T_0), logo após a diluição; depois, diariamente na primeira semana; e, então, após 30 dias.

2.2.3. Ensaios físico-químicos

Em cada período de tempo, foram realizados os ensaios de aspecto e doseamento por iodometria, segundo metodologia constante na *Farmacopeia brasileira*, 4ª edição (1977), para análise de solução diluída de hipoclorito de sódio.

As soluções volumétricas foram preparadas e padronizadas conforme metodologia da *Farmacopeia brasileira*, 4ª edição (1977) e foram utilizadas vidrarias volumétricas calibradas.

- **Aspecto:** as amostras foram avaliadas conforme as suas características organolépticas, como cor, odor, forma e aparência.
- **Doseamento:** foram transferidos, exatamente, 3ml da amostra ou volume, contendo entre 60mg e 90mg de hipoclorito de sódio para um Erlenmeyer de 250ml com tampa. Foram, então, adicionados cerca de 50ml de água, 1g de iodeto de potássio e 10ml de ácido acético 6 M. A solução foi tampada, agitada e armazenada ao abrigo da luz por 15 minutos. Após esse tempo, as paredes do frasco foram lavadas com poucos mililitros de água e titulado o iodo formado com tiosulfato de sódio 0,1 M SV. Foi adicionado 1ml de amido SR quando a coloração da solução se tornou amarelo-esverdeada. Continuou-se a titulação até o desaparecimento da cor azul. Cada mililitro de tiosulfato de sódio 0,1 M SV equivale a 3,723mg de hipoclorito de sódio.

2.2.4. Ensaio microbiológico para determinação da eficácia do desinfetante

Para a determinação da eficácia do hipoclorito de sódio como agente desinfetante, foi utilizada a técnica da diluição em tubos, conforme descrita a seguir. Os micro-organismos utilizados no teste foram diluídos a concentrações conhecidas.

- **Escolha dos micro-organismos:** como o propósito deste trabalho foi testar a ação bactericida do hipoclorito de sódio, foram selecionadas bactérias comumente encontradas num ambiente produtivo, de características Gram-positiva e Gram-negativa, para incluir ambas as classes no estudo.
- **Preparo e contagem dos inóculos:** a suspensão dos micro-organismos testados foi preparada a partir de diluições seriadas, até a concentração de 10^{-5} . Esta diluição foi posteriormente submetida à contagem dos micro-organismos, por intermédio do método de *Pour Plate*, em placas contendo o meio caseína soja (TSA), para obtenção de valores de micro-organismos em torno de 350 UFC/mL.
- **Técnica da diluição em tubo:** foram distribuídos 5ml de solução diluída de hipoclorito de

sódio a 0,5% em tubo de ensaio esterilizado. Adicionou-se a esse tubo 0,1ml de suspensão de *Staphylococcus aureus*. Imediatamente após o contato do inóculo com o desinfetante, teve início a contagem do tempo. Em intervalos de tempo de 2,5, 5,0, 10 e 15 minutos, foi transferida uma alíquota de 1ml do tubo, contendo o desinfetante mais o micro-organismo, para outros tubos contendo 5ml de caldo nutriente estéril (TSB). Os tubos inoculados foram incubados em estufa Quimis Aparelhos Científicos Ltda.[®], modelo Q-316M, por 48 horas, a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e, em seguida, examinados quanto ao crescimento microbiano, caracterizado pela turvação do caldo. Nenhum crescimento (caldo límpido) indicou a diluição na qual o hipoclorito de sódio matou o micro-organismo no período de tempo em que foi exposto (PELCZAR JR., CHAN & KRIEG, 1996).

O ensaio acima foi repetido, substituindo-se a suspensão de *Staphylococcus aureus* pela suspensão de *Escherichia coli*.

3. RESULTADOS

3.1. ESTUDO DE ESTABILIDADE

Antes do início dos procedimentos com a solução diluída de hipoclorito de sódio a 0,5%, foi realizado o doseamento da solução comercial empregada para a diluição, obtendo-se um valor de 4,0% de NaClO.

Os resultados dos testes de aparência e doseamento do princípio ativo (teor), da solução diluída, estão expostos nos Quadros I a 4, para cada condição ambiental monitorada.

3.2. Teste de eficácia do desinfetante

A avaliação do poder bactericida do hipoclorito de sódio, quando testado diante de *S. aureus* e *E. coli*, em diferentes períodos de contato, encontra-se representada na Tabela I.

Tabela I: Resultado do teste de eficácia bactericida do hipoclorito de sódio a 0,5%

Micro-organismo	Tempo de contato			
	2,5 minutos	5 minutos	10 minutos	15 minutos
<i>S. aureus</i>	Ausência de turvação	Ausência de turvação	Ausência de turvação	Ausência de turvação
<i>E. coli</i>	Ausência de turvação	Ausência de turvação	Ausência de turvação	Ausência de turvação

Quadro 1: Condições de estudo e resultados da amostra armazenada em geladeira

Produto: solução aquosa de NaClO a 0,5%						
Categoria química: agente antioxidante				Forma: solução		
Indicação de uso: desinfetante de superfície						
Data T₀: 26/05/2009						
Condição ambiental submetida: geladeira						
Embalagem primária: pote de plástico leitoso						
Análise físico-química						
Ensaio	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia	30º dia
Aparência	Líquido límpido, amarelo-pálido-esverdeado, com leve odor de cloro	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração
Teor de NaClO	0,36%	0,37%	0,37%	0,37%	0,36%	0,36%

Quadro 2: Condições de estudo e resultados da amostra armazenada em temperatura ambiente protegida da luz solar

Produto: solução aquosa de NaClO a 0,5%						
Categoria química: agente antioxidante				Forma: solução		
Indicação de uso: desinfetante de superfície						
Data T₀: 26/05/2009						
Condição ambiental submetida: temperatura ambiente protegida da luz						
Embalagem primária: pote de plástico leitoso						
Análise físico-química						
Ensaio	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia	30º dia
Aparência	Líquido límpido, amarelo-pálido-esverdeado, com leve odor de cloro	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração
Teor de NaClO	0,36%	0,37%	0,36%	0,37%	0,36%	0,37%

Quadro 3: Condições de estudo e resultados da amostra armazenada em temperatura ambiente exposta à luz solar, em frasco leitoso

Produto: solução aquosa de NaClO a 0,5%						
Categoria química: agente antioxidante				Forma: solução		
Indicação de uso: desinfetante de superfície						
Data T₀: 26/05/2009						
Condição ambiental submetida: temperatura ambiente exposta à luz solar						
Embalagem primária: pote de plástico leitoso						
Análise físico-química						
Ensaio	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia	30º dia
Aparência	Líquido límpido, amarelo-pálido-esverdeado, com leve odor de cloro	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração
Teor de NaClO	0,36%	0,37%	0,37%	0,36%	0,36%	0,37%

Quadro 4: Condições de estudo e resultados da amostra armazenada em temperatura ambiente exposta à luz solar, em frasco transparente

Produto: solução aquosa de NaClO a 0,5%						
Categoria química: agente antioxidante				Forma: solução		
Indicação de uso: desinfetante de superfície						
Data T₀: 26/05/2009						
Condição ambiental submetida: temperatura ambiente exposta à luz solar						
Embalagem primária: pote de plástico transparente						
Análise físico-química						
Ensaio	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia	30º dia
Aparência	Líquido límpido, amarelo-pálido-esverdeado, com leve odor de cloro	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração
Teor de NaClO	0,36%	0,36%	0,37%	0,37%	0,36%	0,37%

4. DISCUSSÃO

Diante das normas atualmente existentes no mercado, tanto as obrigatórias, que são as editadas pela Anvisa, quanto as opcionais, que são as ISO¹, torna-se cada vez mais necessária a validação dos processos e métodos analíticos adotados por uma determinada empresa, a fim de garantir que os procedimentos seguidos estejam atingindo adequada e plenamente seus objetivos propostos (ROCA *et al.*, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2008; BRASIL, 2007).

Diante da facilidade de obtenção e do baixo custo, a solução de hipoclorito de sódio é uma das mais utilizadas na higienização de ambientes e utensílios (TOR-TORA, FUNKE & CASE, 2005; PELCZAR JR., CHAN & KRIEG, 1996; PRIETO *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2008; NICOLETTI *et al.*, 2009), sendo um dos saneantes de escolha para a desinfecção do ambiente produtivo da Farmácia-Escola da Universidade Municipal de São Caetano do Sul (FarmaUSCS), fator que motivou a sua escolha. Com base no exposto, o presente trabalho procurou determinar a estabilidade e a eficácia da solução aquosa de hipoclorito de sódio na concentração de 0,5%, que é a especificada no rótulo do produto para as condições normais de uso, como uma forma de validar o procedimento adotado na farmácia.

A escolha do período de estudo, menor do que os seis meses preconizados pela RE n. 3.169/2006 (BRASIL, 2006), ocorreu em função do procedimento de sanitização adotado na FarmaUSCS. Neste proce-

dimento, a solução de hipoclorito é diluída diariamente momentos antes do uso, não ficando armazenada, motivo pelo qual o estudo foi realizado diariamente durante uma semana e depois de um mês do preparo da solução, para verificar a manutenção da sua estabilidade.

Conforme observado na literatura, a solução aquosa de hipoclorito de sódio é passível de decomposição e consequente perda de estabilidade diante de diversas situações, como temperatura, luminosidade, concentração, embalagem e contato com o ar (RODRÍGUEZ, 2006; NICOLETTI *et al.*, 2009; BORIN & OLIVEIRA, 2008). Por esse motivo, a amostra foi testada diante de variáveis que se mostraram mais significativas à vista das reais condições de uso na farmácia, ou seja, alterando-se a embalagem e submetendo-a a diferentes condições ambientais.

Com base nos resultados obtidos a partir dos ensaios físico-químicos, não foi observada nenhuma alteração nas características organolépticas da amostra (cor, odor, forma e aparência) em nenhuma das condições e nos períodos de tempo testados (Quadros 1 a 4). A estabilidade da solução foi comprovada pela manutenção do teor de hipoclorito, que se mostrou estável em todas as condições testadas. Esse resultado demonstrou que, se uma solução clorada permanecer protegida em embalagens fechadas, não é passível de rápida degradação, uma vez que a perda do cloro se dá principalmente por sua volatilização (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008). Nicoletti *et al.* (2009) e Borin & Oliveira (2008) também relataram que o contato direto com o ar

¹ International Organization for Standardization.

atmosférico apresenta importante papel na degradação do hipoclorito, que sofre degradação mais intensa na presença de luminosidade.

O ensaio de doseamento empregou o método oficial da iodometria, que, além de ser o método preconizado pela *Farmacopeia brasileira*, é de fácil execução, possibilitando seu emprego em farmácias de manipulação. Como a titulometria é uma técnica analítica que pode apresentar subjetividade, sofrendo influências externas, procurou-se minimizar esses erros por intermédio do uso de vidrarias calibradas, da padronização da solução volumétrica utilizada, da realização de ensaios em triplicata e do emprego de um mesmo analista (ROCA *et al.*, 2007; MENDHAM *et al.*, 2002). Também foi realizado o doseamento da solução concentrada de hipoclorito de sódio a 5%, que serviu de base para a diluição, obtendo-se um valor inicial de 4,0%, o que contradiz a especificação rotulada na embalagem, que é de 5% (com variação permitida de 4,5% a 5,5%). Estudos relatam que é comum encontrar esse tipo de irregularidade em produtos comerciais, o que é grave, pois pode interferir na efetividade e na qualidade do produto (BORIN & OLIVEIRA, 2008).

O valor inicialmente obtido do teor de hipoclorito de sódio na solução aquosa diluída, que foi de 0,36%, ficou abaixo do valor nominal, que era de 0,5%. Isso pode ser justificado pelo teor obtido da solução concentrada, que também estava abaixo da especificação do rótulo, conforme exposto acima. No entanto, no período de tempo testado (Quadros 1 a 4), não foi observada alteração no teor de hipoclorito de sódio, que se manteve constante em todas as condições testadas.

Borin & Oliveira (2008) também realizaram estudos de estabilidade de soluções de hipoclorito (obtidas diretamente do fabricante dois dias após a sua fabricação), submetendo-as às mesmas condições deste estudo, mas por um período de ensaio de 180 dias. Os referidos autores observaram que as amostras analisadas de maior concentração (1,16%, 2,98% e 6,0%) obtiveram perda de cloro no decorrer do tempo, enquanto a mais diluída (0,57%) manteve sua estabilidade, confirmando os resultados obtidos no presente estudo. De acordo com os mesmos autores, a estabilidade da solução também está relacionada com o tipo de embalagem e o local de armazenamento,

chegando-se à conclusão de que as amostras mais estáveis foram as acondicionadas em frascos de vidro ou plástico âmbar e armazenadas em refrigerador.

Além da estabilidade físico-química da solução, a eficácia bactericida da amostra foi testada diante de *S. aureus* e *E. coli*, bactérias escolhidas em função do potencial patogênico e da sua importância em contaminações ambientais (SILVA *et al.*, 2008). O *S. aureus* é uma bactéria de presença comum no ambiente, detectada por meio do monitoramento ambiental realizado mensalmente na FarmaUSCS, e a *E. coli* foi selecionada por sua importância na definição das condições de higiene do manipulador. Silva *et al.* (2008) e Sassone *et al.* (2007), em estudos de eficácia bacteriana de saneantes de ambientes, superfícies e instrumentos cirúrgicos, também escolheram essas bactérias para a realização dos ensaios.

A técnica de diluição em tubos para avaliação da eficácia também foi escolhida por sua facilidade de execução, visando à adoção da técnica por farmácias de manipulação. Observou-se que não houve turvação em nenhum dos tubos, com nenhum dos micro-organismos, nos diferentes tempos testados, o que confirma a ação bactericida do hipoclorito de sódio nas condições do estudo. Prieto *et al.* (2007), Silva *et al.* (2008) e Sassone *et al.* (2007) também comprovaram a eficácia da solução aquosa de hipoclorito de sódio, nas concentrações de 1% e 5%, testando-a com as bactérias utilizadas neste estudo e, também, diante de outros micro-organismos.

5. CONCLUSÃO

Os métodos de ensaios empregados, tanto para a verificação do teor de hipoclorito de sódio quanto para a avaliação de sua eficácia como agente sanitizante, são de fácil execução e de baixo custo, podendo ser adotados por farmácias de manipulação.

A solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,5% mostrou-se estável em todas as condições testadas, quando armazenada em frascos fechados.

A solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,5% foi eficaz diante de *S. aureus* e *E. coli*, já a partir de 2,5 minutos de exposição.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. *Farmacopeia brasileira*. 3. ed. São Paulo: Organização Andrei, 1977. p. 1.162.
- ANDRADE, Denise de; BERALDO, Carolina C.; WATANABE, Evandro; OLIVEIRA, Bruna A. & ITO, Izabel Y. Atividade antimicrobiana *in vitro* do álcool gel a 70% frente às bactérias hospitalares e da comunidade. *Medicina*, v. 40, n. 2, p. 250-254, Ribeirão Preto, abril/junho, 2007.
- BORIN, Grazielle; BECKER, Alex N. & OLIVEIRA, Elias Pandonor M. de. A história do hipoclorito de sódio e a sua importância como substância auxiliar no preparo químico mecânico de canais radiculares. *Revista de Endodontia Pesquisa e Ensino On-Line*, v. 5, n. 1, p. 1-5, Santa Maria, janeiro/junho, 2007. Disponível em: <http://74.125.155.132/scholar?q=cache:9n_Q_5gYwixwj:scholar.google.com/+a+historia+do+hipoclorito+de+sodio+e+a+sua+importancia&hl=en>. Acesso em: 17 de setembro de 2009.
- BORIN, Grazielle & OLIVEIRA, Elias Pandonor M. de. Alterações no pH e teor de cloro ativo em função da embalagem e local de armazenamento de solução de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações. *Revista da Faculdade de Odontologia da UFP – RFO*, v. 13, n. 2, p. 45-50, Recife, maio/agosto, 2008.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RE n. 3.169, de 22 de setembro de 2006. Determina a publicação do “Regulamento desta Resolução, com o objetivo de acrescentar ferramentas à garantia da qualidade, apresentando diretrizes e procedimentos para realização do estudo de estabilidade de produtos saneantes, objetivando, gerar informações acerca da segurança e eficácia dos produtos, visando definir prazo de validade consistente.”. Brasília: DOU, 25 de setembro de 2006. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=24039&word=>>>. Acesso em: 10 de setembro de 2007.
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC n. 67, de 08 de outubro de 2007. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. Brasília: DOU, 9 de outubro de 2007. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=28806&word=>>>. Acesso em: 08 de agosto de 2009.
- CAVALCANTI, Silvana Maria de M.; FRANÇA, Emmanuel R. de; VILELA, Marinalda A.; MONTENEGRO, Francisco; CABRAL, Carlos & MEDEIROS, Ângela Cristina R. Estudo comparativo da prevalência de *Staphylococcus aureus* importado para as unidades de terapia intensiva de hospital universitário, Pernambuco, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 9, n. 4, p. 436-446, São Paulo, dezembro, 2006.
- ESTEVES, Renata A.; SOUSA, Esmeralda G. de; CELESTINO JÚNIOR, Aluísio F.; MARANHÃO, Kalena de M.; PEDROSA, Simone S. & GAUCH, Lurdete Maria R. Análise da eficácia antimicrobiana dos alginatos autodesinfetantes. *Revista Gaúcha de Odontologia – RGO*, v. 55, n. 1, p. 23-28, Porto Alegre, janeiro/março, 2007.
- MENDHAM, John; DENNEY, Ronald C.; BARNES, J. D. & THOMAS, Michael JK. *Vogel: análise química quantitativa*. Tradução de Julio Carlos Afonso, Paula Fernandes de Aguiar e Ricardo Bicca de Alencastro. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002. p. 43.
- MOURA, Maria Eliete B.; CAMPELO, Sônia Maria de A.; BRITO, Francisca C. P. de; BATISTA, Odineia Maria A.; ARAÚJO, Telma Maria E. de & OLIVEIRA, Adélia Dalva da S. Infecção hospitalar: estudo de prevalência em um hospital público de ensino. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 60, n. 4, p. 416-421, Brasília, julho/agosto, 2007.
- NICOLETTI, Maria Aparecida; SIQUEIRA, Evandro Luiz; BOMBANA, Antonio Carlos & OLIVEIRA, Gabriela G. de. Shelf-life a 2,5% sodium hypochlorite solution as determined by arrhenius equation. *Brazilian Dental Journal*, v. 20, n. 1, p. 27-31, Ribeirão Preto, fevereiro, 2009.
- OLIVEIRA, Nesser Cristiano de P. Desinfecção e antissepsia na indústria farmacêutica – uma abordagem prática. [Artigo técnico]. *Revista da Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação – SBCC*, ed. 18, São José dos Campos, s/d. Disponível em: <http://www.sbcc.com.br/revistas_pdfs/ed%2018/18ArtigoTecnicoDesinfetantes.pdf>.
- PELCZAR JR. Michael J.; CHAN, E. C. S. & KRIEG, Noel R. *Microbiologia – conceitos e aplicações*. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. p. 220.
- PINTO, Terezinha de Jesus A.; KANEKO, Telma Mary & OHARA, Mitsuko T. *Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 30-60.

REFERÊNCIAS

- PRIETO, Lena Carolina E.; ORJUELA, Gloria Clemencia C.; RAMIREZ, José Manuel G.; PALÁCIOS, Janeth A. & LÓPEZ, Cindy F. Cinética de desinfección para cinco desinfetantes utilizados em industria farmacéutica. *Revista Cubana de Farmacia*, v. 41, n. 2, Ciudad de La Habana, 2007
- RIBEIRO, Fabiana A. de L.; FERREIRA, Márcia Miguel C.; MORANO, Sandra C.; SILVA, Lucimara R. da & SCHNEIDER, René P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova*, v. 31, n. 1, p. 164-171, São Paulo, 2008.
- ROCA, Mônica F. de la; SOBRINHO, José Lamartine S.; NUNES, Lívio César C. & ROLIM NETO, Pedro José. Desenvolvimento e validação de método analítico: passo importante na produção de medicamentos. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 88, n. 4, p. 177-180, Rio de Janeiro, 2007.
- RODRÍGUEZ, Águeda H. 2006. 235p. Aportaciones al estudio de la actividad antimicrobiana de los antisépticos y desinfetantes. Tesis doctoral in Ciències de la Salut – Departament de Genètica i Microbiologia de la Facultat de Ciències de la Universitat Autònoma de Barcelona. p. 1-37. Disponível em: <http://www.tesisenred.net/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0601107-162233/ahr1del.pdf>. Acesso em: 10 de agosto de 2009.
- SANTOS, André Luis dos; SANTOS, Dilvani O.; FREITAS, Cícero Carlos de; FERREIRA, Bruno L.A.; AFONSO, Ilídio F.; RODRIGUES, Carlos R. & CASTRO, Helena Carla. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 43, n. 6, p. 413-423, Rio de Janeiro, dezembro, 2007.
- SASSONE, Luciana M.; FIDEL, Rivail Antonio S.; MURAD, Cristiana F.; FIDEL, Sandra R. & HIRATA JÚNIOR, Rafael. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. *Australian Endodontic Journal*, v. 34, n. 1, p. 19-24, July, 2007.
- SILVA, Francine Cristina; KIMPARA, Estevão T; MANCINI, Maria Nadir G.; BALDUCCI, Ivan; JORGE, Antonio Olavo C. & KOGA-ITO, Cristiane Y. Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on the topographic characteristics of acrylic resin. *Journal of Prosthodontics*, v. 17, n. 8, p. 627-633, Chicago, December, 2008.
- SILVA, Francine Cristina da; PARADELLA, Thaís C.; NAVAS, Edna Aparecida F. de A.; CLARO, Ana Paula R.A.; KOGA-ITO, Cristiane Y. & JORGE, Antonio Olavo C. Influência de agentes desinfetantes sobre a aderência de *Staphylococcus aureus* em aço inoxidável. *Ciência Odontológica Brasileira*, v. 11, n. 3, p. 60-65, São José dos Campos, julho/setembro, 2008.
- SILVEIRA, Gustavo P.; NOME, Faruk; GESSER, José Carlos; SÁ, Marcus M. & TERENCE, Hernán. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 844-855, São Paulo, julho/agosto, 2006.
- TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R. & CASE, Christine L. *Microbiologia*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 314.
- TRABULSI, Luiz R. & ALTERTHUM, Flávio. *Microbiologia*. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 276.

Endereço para correspondência:

Cássia Maria Furlan. E-mail: cassia.furlan@uscs.edu.br.