AUTORES:

Mariana de Paiva Oliveira
 Caroline Maria M e Silva
 Izabela Bretas Santos
 Luçandra R Espírito Santo
 Karina Andrade de Prince
 Patricia Mameluque e Silva

<https://doi.org/10.5628/rpcd.17.S3A.122>

Avaliação antibacteriana dos sabonetes íntimos frente aos principais constituintes da microbiota vulvovaginal

PALAVRAS CHAVE:

Sabões. Higiene. Mulheres.
 Microbiota.

RESUMO

A preocupação do uso contínuo dos sabonetes íntimos pelas mulheres se justifica pela possibilidade de irritações e alergias loco-regionais, pois quanto mais se altera o habitat da microbiota genital, maiores serão os riscos de infecções e inflamações. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar a atividade antibacteriana dos sabonetes íntimos frente às principais bactérias constituintes da microbiota genital feminina. Trata-se de um estudo descritivo, transversal, com abordagem quantitativa de caráter exploratório. Para a sua realização foram testadas dez marcas de sabonetes íntimos, frente às cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Lactobacillus acidophilus*, utilizando a técnica do *Resazurin Microtiter Assay* (REMA). Este estudo evidenciou que as dez marcas testadas apresentam atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Lactobacillus acidophilus*. Entretanto, sete marcas não apresentaram atividade frente à *Escherichia coli*. Sendo assim, estes produtos, além de não eliminarem a *E. coli*, que é um dos principais causadores de infecções, eliminaram os *Lactobacillus acidophilus*, principal constituinte da microbiota vulvo-vaginal. Tais dados reafirmam o questionamento do real benefício do uso destes sabonetes, pois, eliminando os *Lactobacillus*, o paciente pode ficar susceptível ao desenvolvimento de infecções genitais. Porém, mais estudos são necessários para definir os reais benefícios e malefícios do uso deste produto.

Antibacterial assessment of intimate soap in relation to vulvovaginal microbiota components

ABSTRACT

The continuous use of intimate soaps worries women due to the possibility of local/ regional rash and allergy, since once the habitat of genital microbiota is changed, the risks of infection and inflammation are higher. Therefore, this study aimed to evaluate the antibacterial action of intimate soaps in relation to the female genital bacterias from the microbiota. It is a descriptive, transversal study with a quantitative approach and exploratory features. For its execution, ten brands of intimate soaps were tested against the strains of *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Lactobacillus acidophilus*, using the technique of *Resazurin Microtiter Assay* (REMA). The present study showed that the ten tested brands have antimicrobial action against *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus acidophilus*, though seven of them did not had activity against *Escherichia coli*. Therefore, these products not only failed on eliminating *E. coli*, one of the most important causes of infection, but also eliminated *Lactobacillus acidophilus*, the mainly constituent of vulvovaginal microbiota. These data reaffirm the questioning about soap's benefits because, by eliminating the *Lactobacillus*, the patient becomes susceptible to the development of genital infections. Nevertheless, more studies are needed to determine the real benefits and detriments due to the products use.

KEY-WORDS:

Soaps. Hygiene. Women. Microbiota.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos houve um aumento considerável do número e da variedade de sabonetes líquidos íntimos femininos. A utilização rotineira destes sabonetes, que tendem a manter o pH vaginal ácido, é questionada por ginecologistas, mas apreciada por boa parte das mulheres. A preocupação médica se justifica pela possibilidade de irritações e alergias locais-regionais uma vez que, quanto mais se alterar o habitat da microbiota bacteriana fisiológica vulvar e vaginal, maior o risco de infecções e inflamações (Jármay di Bella et al., 2009).

A microbiota bacteriana vaginal, associada à presença de vários componentes da imunidade adquirida e inata, compõe um fundamental mecanismo de defesa para evitar a invasão e proliferação de patógenos microbianos nos locais expostos ao meio ambiente externo (Linhares, Giraldo, & Baracat, 2010). A vagina é colonizada por bactérias gram negativas e gram positivas, com predominância de espécies anaeróbicas. Estas populações variam de acordo com a idade e os níveis hormonais, além do pH vaginal. No primeiro mês de vida, os lactobacilos (gram-positivos) predominam, decorrentes do nível estrogênico materno, mantendo o pH vaginal em torno de cinco. A partir do primeiro mês até a puberdade predominam os *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* e *Escherichia coli*, e o pH eleva-se em torno de sete (Jármay di Bella et al., 2009). Na menacme há novamente acidificação do pH vaginal com predomínio dos lactobacilos-80-95% da microbiota (Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia [FEBRASGO], 2009).

Diversos ginecologistas têm recomendado o produto, por possuir um pH compatível com o da área íntima feminina, ajudar a mantê-la saudável e prevenir infecções, além de proporcionar cuidado e uma sensação de bem-estar prolongada. Entretanto, o seu uso pode culminar no desequilíbrio da microbiota vaginal, levando a uma região com pH mais ácido, comum nas infecções fúngicas, normalmente causadas por *Candida sp.* Já o pH vaginal alcalino é associado às infecções por *Trichomonas vaginalis* e vaginose bacteriana, cujo agente etiológico é a *Gardnerella vaginalis* (Jármay di Bella et al., 2009). Giraldo et al. (2005) afirmam que fica implícito, portanto, que a microbiota que habita a vagina tem papel importante na eclosão de doenças (vaginose bacteriana, vaginose citolítica e doenças sexualmente transmissíveis), assim como na manutenção de um trato genital saudável.

Sendo assim, este estudo teve por objetivo avaliar a atividade antibacteriana dos sabonetes íntimos femininos, frente aos principais constituintes da microbiota vulvovaginal.

MÉTODO

O presente estudo trata-se de uma investigação de caráter transversal, descritiva e quantitativa. A avaliação da atividade antibacteriana dos sabonetes íntimos, frente aos principais constituintes da microbiota vulvovaginal (*Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia*

coli, e *Lactobacillus acidophilus*), foi realizada através da técnica do *Resazurin Microtiter Assay* (REMA), metodologia de diluição em caldo (microtécnica), adaptada de Palomino et al. (2002), seguindo as recomendações estabelecidas pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2010).

AMOSTRA

Foram avaliadas dez marcas diferentes de sabonetes íntimos, comercializadas em drogarias e perfumarias de todo o país. Estas foram testadas nas seguintes diluições 1/1, 1/2, 1/4/ 1/8, 1/16, 1/32, 1/64.

INSTRUMENTOS E PROCEDIMENTOS

Para a preparação do inóculo bacteriano, as colônias das cepas isoladas em meio sólido específico foram selecionadas e inoculadas em dois ml de solução salina (NaCl 0.85%) estéril para obtenção de um inóculo padrão com turvação comparável à escala 0.5 de *McFarland*, equivalente a uma contagem de bactérias de aproximadamente 10^6 UFC/ml (CLSI, 2010). Da escala 015 de MacFarland, foi realizada uma diluição de 1:100 em meio líquido de Muller-Hinton (BD®, GER).

Todos os ensaios foram realizados em triplicata, utilizando-se cepas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356).

Foram utilizadas microplacas com fundo em "U" esterilizadas com 96 orifícios (TPP®, EUA). Cada orifício recebeu o inóculo, o meio de cultura líquido Mueller Hinton (BD®, GER) e a respectiva marca de sabonete íntimo, nas seguintes diluições, 1/1, 1/2, 1/4/ 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, sendo o volume final de 100 µL. Logo após a micropipetagem as placas foram tampadas e incubadas a 35°C por 24 h, sem agitação. Terminado o período de incubação, foram adicionados em cada orifício das placas 30 µL de resazurina (*Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany*) a 0.01% em solução aquosa esterilizada onde, após quatro horas de reincubação, a leitura foi realizada. A resazurina facilita verificar a presença de crescimento microbiano, a coloração azul indica ausência de crescimento microbiano, enquanto a cor vermelha indica a presença de células viáveis em crescimento. Dessa maneira foi possível determinar a diluição capaz de inibir o crescimento dos micro-organismos avaliados.

RESULTADOS

Em relação à avaliação da atividade antimicrobiana dos dez sabonetes íntimos avaliados frente aos micro-organismos *Escherichia coli* (gram negativo), *Staphylococcus epidermidis* (gram positivo) e *Lactobacillus acidophilus* (gram positivo), verificou-se que as dez marcas testadas apresentaram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus epidermidis* e

Lactobacillus acidophilus, em todas as diluições realizadas. Em relação à *Escherichia coli*, apenas três marcas (D, E e J) apresentaram atividade antimicrobiana, sendo a D e a J com ação até a diluição 1:4; a E até a 1:2, entretanto, sete marcas não apresentaram atividade para o mesmo micro-organismo em nenhuma das diluições (A, B, C, F, G, H e I) (QUADRO 1).

QUADRO 1. Resultado do Teste de Atividade Antibacteriana

MICRO-ORGANISMOS/ MARCAS	ESCHERICHIA COLI	STAPHYLOCOCCUS AUREUS	LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS
A	Sem atividade	Atividade	Atividade
B	Sem atividade	Atividade	Atividade
C	Sem atividade	Atividade	Atividade
D	Atividade	Atividade	Atividade
E	Atividade	Atividade	Atividade
F	Sem atividade	Atividade	Atividade
G	Sem atividade	Atividade	Atividade
H	Sem atividade	Atividade	Atividade
I	Sem atividade	Atividade	Atividade
J	Atividade	Atividade	Atividade

DISCUSSÃO

A higiene íntima da mulher se refere a ações de limpeza da área anogenital, a fim de evitar umidade e resíduos (Águas & Silva, 2012). Schalka, Bombarda, Junior, Silva e Bueno (2013) afirmam que, para isso, utilizam-se substâncias que evitam infecções e proporcionam sensação de limpeza, bem-estar, conforto, segurança e saúde feminina.

A busca por produtos para higiene íntima tem apresentado crescimento no mercado farmacêutico, principalmente no que concerne à higiene dos órgãos genitais e mãos. O trato genital feminino apresenta inúmeros micro-organismos: os considerados não patogênicos, denominados microbiota vaginal, e os micro-organismos patogênicos que se desenvolvem frente ao desequilíbrio ou à baixa imunidade do indivíduo e podem causar inúmeras patologias na paciente com ou sem aparecimento de sintomas (Linhares et al., 2010).

Sendo assim, percebe-se que os sabonetes íntimos invadiram as prateleiras das farmácias e supermercados e conquistaram diversos tipos de mulheres, fazendo assim, parte da higiene diária destas. Isto se deve ao elevado marketing realizado por diversas empresas do seguimento, em relação ao produto e também pela busca das mulheres inseridas no mercado profissional e no mundo globalizado, que passam muitas horas fora de casa, por produtos que lhe forneçam sensação de frescor, higiene e bem-estar.

Atualmente, há diversos produtos para higiene íntima da mulher, embora os profissionais da área não conheçam as propriedades físico-químicas e o nível de satisfação e vantagens oferecidas à mulher, bem como os malefícios dos mesmos (FEBRASGO, 2009). Segundo López et al. (2015), os sabonetes íntimos femininos devem ser escolhidos de acordo com a faixa etária, estilo de vida e comorbidades.

As referências literárias mundiais ainda não definiram bem quais as práticas primordiais sobre higiene íntima feminina em relação à periodicidade, tipos de produtos e hábitos de higiene (FEBRASGO, 2009).

A região anogenital é naturalmente colonizada por micro-organismos e o objetivo dos produtos de limpeza não é esterilizar o local e sim eliminar urina, fezes e outros fluidos; além disso, devem ser compatíveis com as mucosas, não gerar irritação ou desidratar a pele, não alterar a barreira lipídica natural, manter a leve acidez local, ter ação sobre o frescor, odor e viscosidade epidérmica (SPG, 2012). Schalka et al. (2013) afirmam que estas ações não são possíveis quando apenas a água é utilizada para a higienização.

A microbiota da vagina é composta por diversas espécies de *Lactobacillus* denominadas bacilos Doderleïn, que criam biofilme nessa mucosa. Tais bactérias são benéficas por inibirem o crescimento, a adesão e dispersão de outros patógenos através de secreção de ácidos orgânicos, substâncias antimicrobianas, disputa por nutrientes, competição por receptores dentre outros mecanismos (Lepargneur & Prousseau, 2002).

O *Lactobacillus* sp é a principal bactéria encontrada na vagina e que determina o pH ácido (3.8 a 4.5), importante na manutenção da homeostase local (Giraldo et al., 2005). Ravel e Brotman (2016) defendem que as mulheres que apresentam diminuição desses micro-organismos estão sob alto risco de infecção, pois estes micro-organismos são produtores de peroxidase. Moodley, Connolly e Sturm (2002) acrescentam que possuem também efeito microbicida e impedem a ativação do linfócito T CD4⁺ localmente.

No presente estudo, verificou-se que as dez marcas testadas apresentavam atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus epidermides* e *Lactobacillus acidophilus*, em todas as diluições realizadas. No entanto, a maioria das marcas, não apresentaram atividade contra a *Escherichia coli* em nenhuma das diluições testadas.

Assim, percebe-se que a atividade sobre o *Lactobacillus* pode representar uma ameaça ao equilíbrio vaginal, já que este é primordial para a manutenção do pH fisiológico local. Além disso, não apresentaram atividade eficaz na eliminação da *E. coli*, bactéria gram negativa, uma das principais causadoras de infecções de diversos sítios anatômicos, como trato urinário, epiderme e pulmão. Estes resultados questionam a utilização destes produtos, mesmo que alguns profissionais da área indiquem o uso indiscriminado. A literatura disponível também diverge acerca dos benefícios da higienização íntima com estes produtos.

Então, devido os sabonetes íntimos testados neste estudo apresentarem ação microbicida contra os *Lactobacillus* e não apresentarem atividade contra a *E. coli*, o seu uso

frequente pode ter implicações na saúde genital das mulheres, tornando-as talvez mais vulneráveis à aquisição de vaginose bacterianas, infecções do trato urinário e doenças sexualmente transmissíveis, inclusive infecção pelo vírus HIV.

A microbiota vaginal representa, sem dúvida, um dos mais importantes mecanismos de defesa da função reprodutora, mantendo o meio saudável e impedindo a proliferação de micro-organismos estranhos à mesma. Dessa forma, é fundamental que os ginecologistas e obstetras ampliem seus conhecimentos sobre a microbiota vaginal, os sabonetes íntimos e as suas implicações, trazendo os resultados das pesquisas atuais para a sua prática (Linhares et al., 2010).

Schalka et al. (2013) afirma, portanto, que a higiene da região anogenital deve ser realizada com produtos hipoalérgicos, que possuam detergência suave e pH ácido, preferencialmente em sua forma líquida e que não comprometam a composição da microbiota vulvovaginal.

CONCLUSÕES

Os estudos acerca dos benefícios e malefícios do uso dos sabonetes líquidos íntimos femininos são escassos e divergentes quanto à indicação desses produtos na rotina de higiene anogenital da mulher. A literatura enfatiza as vantagens em relação à sensação de bem estar, limpeza, frescor e melhora do odor proporcionados por esses sabonetes, mas adverte sobre as possíveis alterações na microbiota vulvovaginal e, conseqüentemente, no mecanismo de defesa natural da genitália.

Através dos resultados obtidos neste estudo, podemos verificar que os sabonetes íntimos testados além de não eliminar a *E. coli*, que é um dos principais causadores de infecções de diversos sítios anatômicos, principalmente do trato urinário, eliminou os *Lactobacillus*, que são os principais constituintes da microbiota vulvovaginal não sendo totalmente apropriados para o uso genital. Ao eliminar alguns micro-organismos, principalmente os *Lactobacillus*, e não eliminar outros potencialmente patogênicos, o seu uso pode propiciar o desenvolvimento de infecções genitais.

Tais dados reafirmam o que foi observado na literatura, questionando o real benefício do uso destes sabonetes, porém mais estudos são necessários para definir a melhor forma de uso, bem como suas contraindicações. Cabe ao ginecologista avaliar os riscos e benefícios para cada paciente levando-se em conta a microbiota vaginal, a expectativa feminina e os eventuais efeitos colaterais, bem como recomendar o seu uso com cautela.

FONTE DE FINANCIAMENTO

FAPEMIG

REFERÊNCIAS

- Águas, F., & Silva, D. P. (Eds.) (2012). *Revisão dos consensos em infecções vulvovaginais*. Ericeira: Sociedade Portuguesa de Ginecologia.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2010). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Wayne, PA: CLSI.
- Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. (2009). Guia prático de condutas: Higiene genital feminina. São Paulo: FEBRASGO.
- Giraldo, P. C., Amaral, R. L. G., Gonçalves, A. K., Vicentini, R., Martins, C. H., Giraldo, H., & Fachini, A. M. (2005). Influência da frequência de coitos vaginais e da prática de duchas higiênicas sobre o equilíbrio da microbiota vaginal. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 27(5), 257-262. doi:http://dx.doi.org/10.1590/S0100-72032005000500005
- Jármay di Bella, Z. I. K., Araújo, M. P., Martins, K. D. F., Zucchi, E. V. M., Girão, M. J. B. C., & Sartori, M. G. F. (2009). O uso de sabonetes íntimos femininos. *Femina*, 37(4), 229-234.
- Lepargneur, J. P., & Rousseau, V. (2002). Rôle protecteur de la flore de Doderlein. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 31(5), 485-494. doi: JGYN-09-2002-31-5-0368-2315-101019-ART7
- Linhares, I. M., Giraldo, P. C., & Baracat, E. C. (2010). Novos conhecimentos sobre a flora bacteriana vaginal. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 56(3), 370-374. doi:10.1590/S0104-42302010000300026
- López, M. A., Ubilla, F. S., Morales, C. S., Zitko, P. M., Burgos, V. M., & Rivera, M. A. A. (2015). Hábitos higiênicos vulvo-vaginales de consultantes ambulatorias en gineco obstetricia. *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología*, 80(4), 282-288. doi:10.4067/S0717-75262015000400002
- Moodley, P., Connolly, C., & Sturm, A. W. (2002). Interrelationships among human immunodeficiency virus type 1 infection, bacterial vaginosis, trichomoniasis, and the presence of yeasts. *The Journal of Infectious Diseases*, 185(1), 69-73. doi:10.1086/338027
- Palomino, J. C., Martin, A., Camacho, M., Guerra, H., Swings, J., & Portaels, F. (2002). Resazurin microtiter assay plate: Simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 4(8), 2720-2722. doi:10.1128/AAC.46.8.2720-2722.2002
- Ravel, J., & Brotman, R. M. (2016). Translating the vaginal microbiome: Gaps and challenges. *Genome Medicine*, 8(35), 1-3. doi:10.1186/s13073-016-0291-2

Schalka, S., Bombarda, P. C. P., Júnior, M. S. B., Silva, S. L., & Bueno, P. T. B. (2013). Avaliação comparativa de segurança e eficácia para produtos de higiene íntima em mulheres na menopausa. *Revista Brasileira de Medicina*, 70(10), 372-376. doi:S0034-72642013011900006