

Avaliação da contaminação bacteriana na mistura de colírios de fluoresceína e drogas anestésicas

Evaluation of bacterial contamination of combined solutions of anesthetics and fluorescein eye-drops

Lauro Toshihiko Kawakami ⁽¹⁾

João Antônio Prata Júnior ⁽²⁾

José Carlos Reys ⁽³⁾

Tânia Guidugli ⁽⁴⁾

Paulo Augusto de Arruda Mello ⁽⁵⁾

RESUMO

Frascos de substâncias anestésicas tópicas e de fluoresceína sódica, disponíveis comercialmente, foram abertos, misturados na proporção 1:1 e inoculados com *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus*, a fim de ser testada a capacidade da mistura em manter-se estéril. Observou-se que não houve crescimento bacteriano em culturas obtidas da mistura após um minuto, 15 minutos, 1 hora, 2 horas e 24 horas após a inoculação.

Palavras-chave: Contaminação de colírios; Tonometria.

INTRODUÇÃO

Durante a execução do exame oftalmológico, várias drogas são instiladas na forma de colírios ^{5, 14}.

Visando manter estes medicamentos estáveis e livres de contaminação, diversos preservativos tem sido empregados em suas formulações. Os principais são o timerosol, clorobutanol e o cloreto de benzalcônio ^{6, 8, 9}. Entretanto, estudos tem relatado a contaminação bacteriana destes colírios durante a prática diária ^{7, 10, 12, 13}.

Uma preocupação especial recai sobre os colírios de drogas anestésicas e de fluoresceína sódica, utilizados para a medida da pressão intra-ocular (tonometria de aplanção), principalmente, em virtude de ser a fluoresceína excelente meio para o desenvolvimento de bactérias como a *Pseudomonas aeruginosa*, que é sabidamente um importante agente de afecções oculares ^{1, 3}.

A segurança de preparações de anestésicos associados à fluoresceína sódica tem sido relatada, sendo que essas preparações são formuladas com a finalidade de facilitar a realização da

tonometria de aplanção ^{4, 11, 15}. Entretanto, em nosso meio, estas formulações não estão disponíveis no mercado, sendo muitas vezes preparadas pelo próprio médico, o que pode colocar em dúvida quanto a contaminação bacteriana ^{10, 12, 13}.

O objetivo deste estudo é analisar a segurança da mistura de colírios anestésicos e de fluoresceína sódica quanto a contaminação à *Pseudomonas aeruginosa* e ao *Staphylococcus aureus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Formulações disponíveis comercialmente de colírios anestésicos e de fluoresceína sódica foram misturados na proporção de 1:1, imediatamente após sua abertura, seguindo as regras normais de assepsia de tal forma que a fluoresceína sódica foi acrescida ao frasco das substâncias anestésicas. Os colírios empregados foram o Anestalcon® (Alcon Laboratório do Brasil Ltda., São Paulo-SP), contendo cloridrato de proximetacaína 0,005g, veículo q.s.p. 1ml, glicerina 2%, ácido clorídrico, cloreto de sódio e cloreto de benzalcô-

⁽¹⁾ Ex-Estagiário do Setor de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

⁽²⁾ Mestre e Pós-Graduando, nível Doutorando, no Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

⁽³⁾ Professor Adjunto, Doutor, Chefe da Disciplina de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

⁽⁴⁾ Bióloga responsável pelo Laboratório de Doenças Externas do Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

⁽⁵⁾ Professor Adjunto, Doutor e Chefe do Setor de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

Endereço para correspondência: Rua Apinagés, 1752, apto. 123 - 01258-000 - São Paulo-SP.

Avaliação da contaminação bacteriana na mistura de colírios de fluoresceína e drogas anestésicas

nio como preservativo; Anestésico® (Laboratório Frumtost S.A., Guarulhos-SP), contendo cloridrato de tetracaina 10mg, cloridrato de fenilefrina 1mg, ácido bórico, veículo q.s.p. 1ml, EDTA 0,01 e cloreto de benzalcônio como preservativo; Fluoresceína® (Laboratório Frumtost S.A., Guarulhos-SP), contendo fluoresceína sódica 10mg, veículo q.s.p. 1ml, e timerosol como preservativo. Assim foram preparados 12 frascos de Anestalcon® mais Fluoresceína® e 12 frascos de Anestésico® mais Fluoresceína®. Também 12 frascos lacrados e em perfeitas condições de uso de cada colírio (Anestalcon®, Anestésico® e Fluoresceína®) foram analisados.

Desta forma, dois grandes grupos de frascos foram constituídos, cada um contendo 6 exemplares de cada colírio (Anestalcon, Anestésico e Fluoresceína) e 6 frascos de cada mistura

(Anestalcon mais Fluoresceína; Anestésico mais Fluoresceína). Ao primeiro grupo foi adicionada uma suspensão de *Pseudomonas aeruginosa* (grupo A) e outro grupo *Staphylococcus aureus* (grupo B).

Em cada grupo de 6 frascos com o mesmo conteúdo, 5 foram deliberadamente inoculados, com micropipetas descartáveis, com uma solução previamente preparada para conter 1000 bactérias por 50µl de solução salina 0,9% de *Pseudomonas aeruginosa* ou de *Staphylococcus aureus*, isolados de olhos de pacientes do Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina. Os frascos inoculados com as respectivas bactérias, foram homogenizados por três vezes e instilou-se uma gota de cada solução em placas de petri contendo agar-sangue, após um minuto, 15 minutos, 1 hora, 2 horas e 24 horas de contaminação dos frascos.

Foram considerados controle negativo, os frascos não inoculados e como controle positivo a própria solução que continha as respectivas bactérias, que também foi cultivada. Todas as culturas foram colocadas em estufa a 37°C e as leituras foram feitas após 24, 48 e 72 horas.

Considerou-se como contaminação positiva quando foi constatado crescimento bacteriano na placa de agar-sangue.

RESULTADOS

Nos dois grupos, não houve crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus* em nenhum frasco da mistura Anestalcon®-Fluoresceína® ou Anestésico®-Fluoresceína®, bem como em todos os frascos de Anestalcon® ou Anestésico® (Tabela I e II).

TABELA I
Culturas positivas Grupo A

| Solução | 1 minuto | | | 15 minutos | | | 1 hora | | | 2 horas | | | 24 horas | | |
|----------------------------|----------|----|----|------------|----|----|--------|----|----|---------|----|----|----------|----|----|
| | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| Fluoresceína | 5 | 5 | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Anestésico | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Anestalcon | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fluoresceína Anestésico | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fluoresceína Anestalcon | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

TABELA II
Culturas positivas Grupo B

| Solução | 1 minuto | | | 15 minutos | | | 1 hora | | | 2 horas | | | 24 horas | | |
|----------------------------|----------|----|----|------------|----|----|--------|----|----|---------|----|----|----------|----|----|
| | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| Fluoresceína | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | - | 1 | 3 |
| Anestésico | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Anestalcon | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fluoresceína Anestésico | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fluoresceína Anestalcon | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Crescimento de colônias só foi observado nos frascos de Fluoresceína®. No grupo A (inoculado com *Pseudomonas aeruginosa*) (Tabela I), observou-se crescimento em todas as amostras inoculadas (5) nas culturas de um minuto nas três leituras (24, 48 e 72 horas). Nas culturas de 15 minutos, somente em uma amostra inoculada o crescimento foi positivo, também nas três leituras. Nas culturas de uma hora, outra amostra inoculada foi positiva, nas três leituras. Nas culturas de 2 horas e 24 horas todas as leituras foram negativas. No grupo B, inoculado com *Staphylococcus aureus*, (Tabela II) todos os frascos inoculados foram considerados positivos nas culturas de 1 minuto e 15 minutos nas três leituras. Nas culturas de 1 hora, 4 frascos foram positivos, também nas três leituras, o mesmo acontecendo na cultura de 2 horas, sendo que o frasco negativo na cultura de 1 hora positivou e outro positivo negativou. Na cultura de 24 horas dois frascos anteriormente positivos a 1 minuto, 15 minutos e 1 hora negativaram as leituras e um outro da mesma forma anteriormente positivo, mostrou leitura negativa às 24 e 48 horas e positiva às 72 horas. Os dois outros casos restantes que na cultura de 1 hora e 2 horas respectivamente foram negativos, mostraram-se positivos na leitura de 72 horas. Nos frascos controles, em nenhuma cultura foi observado crescimento.

DISCUSSÃO

Os resultados observados neste estudo quanto ao desenvolvimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em soluções misturadas de substâncias anestésicas e de fluoresceína sódica são concordantes com os apresentados por Duffner & col.⁴ Entretanto este ensaio diferiu do anterior no que tange a obtenção das soluções conjuntas de fluoresceína sódica e drogas anestésicas. No estudo anterior as preparações pesquisadas foram rea-

lizadas no laboratório do fornecedor, esterilizadas e lacradas, sendo disponíveis comercialmente, onde foram adquiridas. Neste estudo, devido a falta deste produto no mercado brasileiro, a mistura foi precedida pelos autores, apesar de terem sido observadas regras de antissepsia.

Ainda que procedida de maneira não adequada, em nenhum frasco da mistura de drogas anestésicas e de fluoresceína houve crescimento de colônias de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* após serem inoculados nos recipientes. Isto, provavelmente, deveu-se ao preservativo empregado nas substâncias anestésicas (cloreto de benzalcônio), tendo em vista que nos frascos contendo apenas fluoresceína (onde utilizado outro preservativo, timerosol), houve crescimento de colônias e nos com somente drogas anestésicas em nenhum houve crescimento. A diferença na ação bactericida do cloreto de benzalcônio e do timerosol tem sido referido na literatura^{8,9}.

Apesar do crescimento observado nos frascos de fluoresceína, os resultados demonstram que as soluções foram se tornando negativas com o decorrer do estudo. Provavelmente se fosse realizado outra pesquisa após 24 horas, todos os colírios poderiam estar livres dos microorganismos inoculados.

Os resultados deste estudo demonstram a segurança nos períodos estruturados das soluções conjuntas de fluoresceína sódica e drogas anestésicas, mesmo quando preparados improvisadamente, à contaminação de *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus*. Entretanto, não se pode afirmar a mesma segurança quanto a outros microorganismos.

SUMMARY

Commercially available bottles of anesthetic solutions and fluorescein eye-drops were opened, combined (1:1) and inoculated with Pseudomonas aeruginosa or

Staphylococcus aureus, in order to analyse the ability of anesthetic fluorescein combination to remain sterile. Bacterial ingrowth were not observed on cultures got from the combination after one minute, 15 minutes, one hour, two hours and 24 hours of the inoculation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALFONSO, E.; KENYON, K. R.; ORMEROD, L. D.; STEVENS, R.; WAGONER, M. D. & ALBERT, D. M. - *Pseudomonas* corneal scleritis. *Am. J. Ophthalmol.*, **103**: 90-98, 1987.
2. BARKMAN, R.; GERMANIS, M.; KARPE, G. & MALMBORG, A. S. - Preservatives in eye drops. *Acta Ophthalmol.*, **47**: 461-475, 1969.
3. CLAOUE, C. - Experimental contamination of Minims of fluorescein by *Pseudomonas aeruginosa*. *Br. J. Ophthalmol.*, **70**: 507-509, 1986.
4. DUFFNER, L. R.; PFLUGFELDER, S. C.; MANDELBAUM, S. & CHILDRESS, L. L. - Potencial bacterial contamination in Fluorescein-anesthetic solutions. *Am. J. Ophthalmol.*, **110**: 199-202, 1990.
5. FENTON, P. J. - Applanation tonometry using one drop of an anaesthetic-fluorescein mixture. *Br. J. Ophthalmol.*, **49**: 205-208, 1965.
6. FRIESEN, W. T. & PLEIN, E. M. - The antibacterial stability of chlorobutanol stored in polyethylene bottles. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **28**: 507-512, 1971.
7. HOVDING, G. & SJURSEN, H. - Bacterial contamination of drops and dropper tips of in-use multidose eye drop bottles. *Acta Ophthalmol.*, **60**: 213-222, 1982.
8. KOHN, S. R.; GERHENFELD, L. & BARR, M. - Effectiveness of antibacterial agents presently employed in ophthalmic preparations as preservatives against *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Pharm. Sciences*, **52**: 967-974, 1963.
9. MULLEN, W.; SHEPHERD, W. & LABOVITZ, J. - Ophthalmic preservatives and vehicles. *Surv. Ophthalmol.*, **17**: 469-483, 1973.
10. PEREIRA, I. C.; ALFONSO, E.; SOUZA, M. A. C. M.; SONG, D. & MULLER, D. - Avaliação de contaminação de produtos oftálmicos em uso. *Arg. Bras. Oftalmol.*, **55**: 15-18, 1992.
11. QUICKERT, M. H. - A fluorescein-anesthetic solution for applanation tonometry. *Arch. Ophthalmol.*, **77**: 734-739, 1967.
12. QUINTELA, E. H.; PACZKA, J. A.; SANTOS, A. & ROSANO, V. V. - Bacterial contamination of ocular medications in glaucoma patients. *Invest. Ophthalmol.*, **32**: (suppl): 1222, 1991.
13. ROIZENBLAT, J. & INOMATA, S. - Contaminação de colírios. *Rev. Bras. Oftalmol.*, **41**(5): 55-59, 1982.
14. ROPER, D. L. - Applanation tonometry with and without fluorescein. *Am. J. Ophthalmol.*, **90**: 668-671, 1980.
15. STEWART, H. L. - Prolonged antibacterial activity of a fluorescein-anesthetic solution. *Arch. Ophthalmol.*, **88**: 385-387, 1972.