

# Penetração de diferentes antimicóticos na córnea humana - estudo "in vitro"

Ana Luisa Hofling de Lima<sup>1</sup>; Rubens Belfort Junior<sup>2</sup>; Richard Forster<sup>3</sup>; Jean Marie-Parel<sup>4</sup>; Gerbert Rebell<sup>5</sup>

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre os agentes infecciosos oculares, ao lado das bactérias e vírus, os fungos se constituem em importantes patógenos causadores de ceratites e endoftalmites. As infecções oculares por fungos são descritas há mais de 100 anos desde o primeiro caso de ceratite fúngica relatado por LEBER em 1879<sup>1</sup>. Pela destruição tecidual e reação inflamatória, a patologia apresenta mal prognóstico e sérios prejuízos à visão<sup>2,3</sup>.

Pelo menos 35 gêneros de fungos foram descritos como patógenos oculares e a sua frequência varia de acordo com a região geográfica<sup>4,5</sup>. Citam-se como exemplo *Candida albicans*, agente micótico mais freqüente na região de São Francisco nos E.U.A., e o *Fusarium solani*, o mais comum no sul da Flórida nos E.U.A.<sup>5</sup>.

A grande incidência de uma ou outra espécie de fungo, muito provavelmente, está associada à microbiota fúngica anemofila de cada região<sup>4</sup>.

Poucos são os trabalhos sobre micoses oculares realizados em nosso País. Contudo, um estudo feito em 1952 em Campinas, descreve *Aspergillus* sp. e *Actinomyces* sp. como os agentes etiológicos mais freqüentes das micoses oculares no Brasil<sup>6</sup>. Em estudo sobre a microbiota fúngica da conjuntiva normal de trabalhadores de canais de São Paulo SCARPI (1984), em sua tese de mestrado, revela ser o *Aspergillus* sp. o fungo mais freqüente.

A ceratite micótica ocorre, com maior incidência, em regiões de clima temperado e nos trópicos, em olhos traumatizados com fragmento vegetal, terra ou após cirurgia ocular<sup>5,7</sup>.

No tratamento das úlceras micóticas da córnea, além da sensibilidade do fungo à droga *in vitro*, deve-se levar em consideração outros fatores importantes, entre eles a penetração da droga através da córnea e toxicidade às estruturas oculares, além de

fatores sistêmicos, uma vez que o tratamento pressupõe, muitas vezes, a administração dos antimicóticos por via sistêmica sub-conjuntival, tópica e intra-ocular<sup>2</sup>.

Sabe-se pouco ainda sobre a farmacocinética das drogas antifúngicas aplicadas topicamente no olho, pois embora muitos estudos clínicos demonstrem sua eficácia *in vitro*, a penetração corneana e sua atividade biológica são ainda desconhecidas<sup>9</sup>.

GREEN<sup>10</sup>, em 1965, num estudo efetuado em cobaias, uma pequena penetração ocular da Anfotericina-B após injeção sub-conjuntival. Não há na literatura dados a respeito da concentração da Anfotericina B na córnea após administração tópica.

Embora exista boa evidência clínica a respeito da eficácia da Natamicina, pouco há na literatura a respeito da sua penetração corneana<sup>5,9</sup>.

A partir de 1979, estudou-se a penetração ocular do Miconazol após a administração endovenosa, subconjuntival e tópica em cobaias, e demonstrou-se que as concentrações eram altas na córnea e na câmara anterior após instilação tópica e injeção sub-conjuntival e ainda maiores quando o epitélio corneano estava ausente<sup>11</sup>.

ROBINSON et alli<sup>12</sup>, num estudo efetuado com cobaias, utilizando o Tiabendazol radioativo, demonstra penetração ocular após uso tópico da droga.

Não estão documentados na literatura estudos sobre a penetração ocular do Clotrimazol e 5-Fluorocitosina<sup>13</sup>.

A revisão bibliográfica revela a inexistência de estudo padronizado que compare a penetração das drogas antimicóticas clinicamente empregadas na córnea humana.

O objetivo do presente trabalho é conhecer, através de um estudo *in vitro*, a penetração ocular da Anfotericina B, Natamicina, Miconazol, Clotrimazol, Tiabendazol e 5-Fluorocitosina, e suas respectivas concentrações no estroma superficial e profundo da córnea humana.

<sup>1</sup> Chefe da Disciplina de Oftalmologia da Faculdade de Medicina de Jundiaí. Pós-graduanda Doutorado da Escola Paulista de Medicina. Chefe do Laboratório de Microbiologia Ocular da Escola Paulista de Medicina.  
<sup>2</sup> Prof. Adjunto, Dr. Oftalmologia, Dr. Imunologia da Escola Paulista de Medicina.  
<sup>3</sup> Professor da Universidade de Miami — Bascom Palmer Eye Institute.  
<sup>4</sup> Inc. E.T.S.-G. do Bascom Palmer Eye Institute.  
<sup>5</sup> PhD — Biólogo do Bascom Palmer Eye Institute.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi efetuado, em parte, no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Oftalmologia da Universidade de Miami, durante o período de fevereiro a outubro de 1983, e completado no Laboratório de Doenças Externas da Disciplina de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

### 2.1 MATERIAL

#### 2.1.1 Bulbos oculares

Foram utilizados 30 bulbos oculares humanos fornecidos pelo "Flórida Lions Eye Bank".

O primeiro passo antes do início do experimento era proceder-se a desepitelização da córnea com cotonete. Em seguida os olhos eram seccionados a 7 mm do nervo óptico sendo desprezada a calota superior. Logo após, procedia-se a dissecação e retirada com pinça e tesoura, do vítreo, cristalino, retina e úvea, obtendo-se um anel de esclera e córnea. Durante este procedimento tomou-se o cuidado de não traumatizar o endotélio corneano.

#### 2.1.2 Câmara de perfusão

Uma câmara de perfusão corneana foi construída especialmente para este estudo (Figura 1).

Esta câmara consistia de dois blocos de acrílico conectados. O bloco inferior continha duas aberturas: a primeira (abertura A), e a segunda (abertura B) Fig. 1).

O bloco superior, era perfurado na região central e lateral. Através do primeiro pertuito (abertura C) introduzia-se uma agulha plástica de 20 G para retirada das amostras. O pertuito lateral (abertura D) era conectado ao sistema de irrigação de solução salina balanceada (SSB).

#### 2.1.3. Antimicóticos usados na câmara de perfusão

- Anfotericina B — (SQUIBB) Fungizone 50 mg/ml em solução salina.
- Natamicina (ALCON) 50 mg/ml em solução salina.
- Natamicina (ALCON) em solução de Dimetil Sulfoxido (DMSO-Fisher Scientific Company) em proporção 10:1, concentração final de 45 mg/ml.
- Miconazol — (JANSEN) Monistat, solução endovenosa 100 mg/ml.

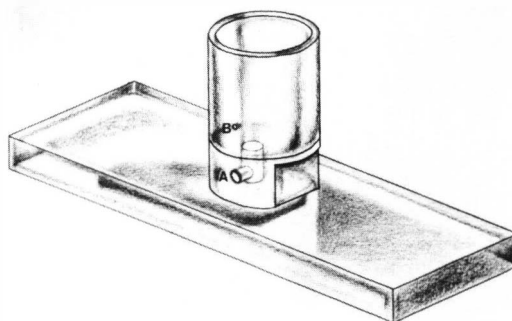
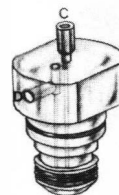


Fig. 1 — Esquema da câmara de perfusão: A — abertura A, B — abertura B, C — abertura C, D — abertura D.

- Clotrimazol — (SCHERING) 50 mg/ml em solução salina.
- Tiabendazol — (MERCK SHARP & DOHME) 50 mg/ml em solução salina.
- 5-Fluorocitosina — (ROCHE) 15 mg/ml em suspensão salina.
- 5-Fluorocitosina — (ROCHE) 15 mg/ml em suspensão salina marcada com Carbono 14.

As soluções dos antimicóticos foram preparadas imediatamente antes do respectivo experimento

### 2.2 MÉTODOS

#### 2.2.1 Experimento

Trinta bulbos oculares foram utilizados nos 30 experimentos que compõem este estudo. Estabeleceu-se a realização mínima de 3 experimentos por droga, em caso de resultado negativo, aumentando-se para 5 em caso de positividade.

Pela face posterior do bulbo ocular, preparado como anteriormente descrito no item 2.1.1, a córnea era centralizada na porção inferior do bloco de acrílico superior (Fig. 2) e a esclera fixada ao cilindro de acrílico.

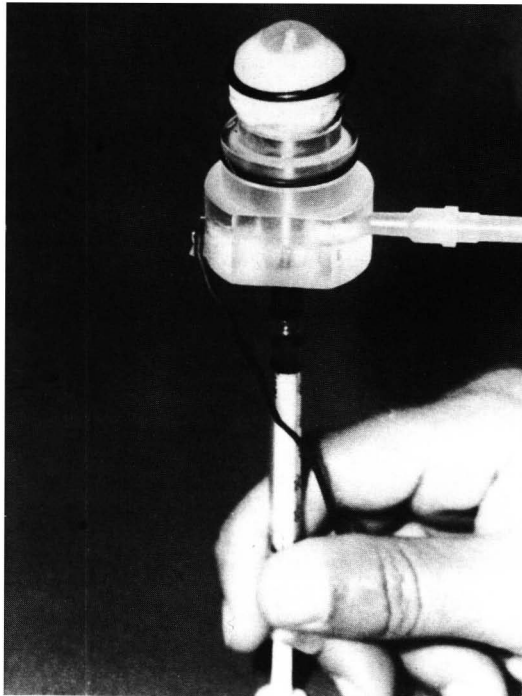


Fig. 2 — Córnea colocada no bloco de acrílico superior.

O bloco superior era então conectado do bloco inferior. Em seguida, preenchia-se a câmara de perfusão pela abertura A com a droga a ser testada, na concentração acima descrita (item 2.1.3). (Fig. 3).

Durante todo o tempo de exposição da córnea ao antimicótico, a câmara de perfusão foi mantida à temperatura ambiente, de 25°C no escuro.

#### 2.2.2. Concentração dos antimicóticos na câmara anterior simulada

Para a determinação da concentração dos 6 antimicóticos na câmara anterior simulada, foram efetuados 30 experimentos, assim divididos: 3 no estudo da Anfotericina B, Natamicina, Natamicina & DMSO e Clotrimazol; 4, experimentos para o Miconazol; 5, para o Tiabendazol e 9, para 5-Fluorocitosina.

Para cada experimento, a droga em questão permanecia em contato com a superfície externa da córnea durante 6 horas e durante este período eram retiradas, através da abertura C da câmara de perfusão, 3 amostras de SSB\* que banhava o endotélio corneano. A primeira amostra era retirada logo após a coloração da droga na câ-

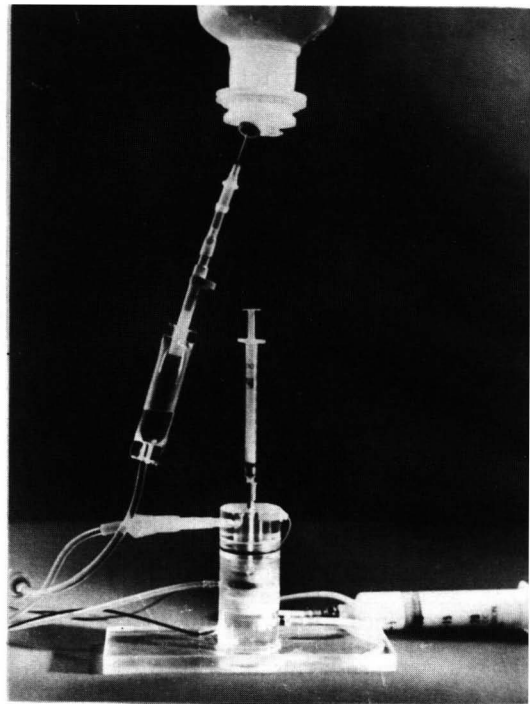


Fig. 3 — Câmara de perfusão montada.

mara (tempo zero), a segunda após 3 horas de exposição da córnea ao antimicótico e a terceira após 6 horas, quando o experimento era concluído.

#### 2.2.3 Preparação da córnea para determinação da concentração intraestromal de antimicótico

Ao se concluir o experimento, os 2 blocos de acrílico que continham a câmara de perfusão eram desconectados e a superfície externa da córnea lavada com SSB por 1 minuto quando se removia a droga aderida à superfície externa da córnea.

Do total de 30 córneas, em 15 foram determinadas as concentrações do antimicótico na córnea como um todo e, em outras 15 a concentração na sua parte anterior e posterior do estroma, isoladamente. A separação do estroma anterior e posterior foi feita por ceratectomia lamelar, usando-se queratômetro elétrico regulado a 0,4 mm de profundidade.

Nos 15 experimentos em que se utilizou a córnea total, procedia-se a pesagem da mesma, numa balança Metler H51AR, e a sua colocação num frasco de vidro estéril contendo 1 ml de SSB. A trituração da córnea era então realizada em homogeneizador de

tecido "Polytron" (Brinkman Institute). Em seguida, este material era centrifugado a 3000 rotações por minuto, durante 3 minutos. Uma amostra de 0,3 ml era retirada do sobrenadante. Foram utilizadas duas córneas para cada uma das seguintes preparações de antimicóticos: Anfotericina B, Natamicina, Natamicina & DMSO, Miconazol e 5-Fluorocitosina. Para o Clotrimazol foi utilizada uma córnea e para o Tiabendazol 4 córneas.

Dos 15 experimentos nos quais se mediu a concentração na parte superficial e profunda da córnea foram assim divididos: um, para Anfotericina B, Natamicina, Natamicina & DMSO e Tiabendazol, dois para o Miconazol e Clotrimazol e 7 para 5-Fluorocitosina. As duas metades da córnea eram então pesadas e adicionados 0,6 ml de SSB para cada uma, centrifugadas e o sobrenadante processado separadamente.

#### **2.2.4 Método biológico para avaliação da concentração de antimicótico**

##### **2.2.4.1 Microrganismos utilizados como indicadores da eficácia dos antimicóticos**

A atividade biológica de todos os antimicóticos foi avaliada utilizando-se uma cepa de *C. albicans*. Verificou-se que esta levedura apresentou resistência ao Tiabendazol e, por esta razão, utilizou-se apenas neste caso o *F. solani* como microrganismo indicador.

Na avaliação do crescimento fúngico as bandejas de microtubos eram examinadas em microscópio para dissecação com 4 aumentos, após 24, 48 e 72 h, e durante este intervalo, permaneciam em temperatura constante de 37°C.

##### **2.2.4.2 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI) dos microrganismos**

Para determinação da concentração inibitória mínima pela técnica de diluição seriada em microtubos.

As concentrações das soluções iniciais de antimicóticos usadas nas diluições seriadas foram:

NATAMICINA — 40 µg.

NATAMICINA + DMSO — concentração de 36 µg/ml.

MICONAZOL — concentração de 40 µg/ml.

CLOTRIMAZOL — concentração final de 40 µg/ml.

ANFOTERICINA B — concentração de 40 µg/ml.

5 — FLUOROCITOSINA — Concentração de 800 µg/ml de SSB

TIABENDAZOL — Concentração de 40 µg/ml

##### **2.2.4.3 Determinação da concentração dos antimicóticos nas amostras de câmara anterior simulada e da córnea**

Sabendo-se a CMI do antimicótico estudado, analisaram-se as linhas de diluição seriada para as amostras. O tubo no qual não foi detectado qualquer crescimento do fungo foi considerado o que continha a CMI. Sabendo-se quantas vezes a amostra foi diluída para chegar a esta concentração, determinou-se, aproximadamente, a concentração do antimicótico naquela amostra.

O cálculo da quantidade de antimicótico presente dentro do tecido corneano, quando se processou a córnea inteira, foi feita tomando-se como base a concentração determinada pela diluição seriada, em relação ao peso específico da córnea em questão. Desta forma, os resultados da concentração dos antimicóticos no estroma corneano foram expressos em 1 g de tecido.

Desta forma, a concentração de antimicótico intra-estromal será descrita sempre como concentração em 1 grama de tecido nos dois métodos de processamento biológico do tecido corneano.

##### **2.2.5 Método radioativo para avaliação da concentração de antimicóticos**

O método radioativo foi utilizado na avaliação da penetração intraocular e concentração intra-estromal da 5-Fluorocitosina, marcada com Carbono 14 em 7 olhos. Em 4 deles, foi apenas usado o método radioativo e nos 3 restantes empregou-se também o método biológico com a finalidade de comparação dos resultados.

Usando-se o método radioativo para a avaliação da passagem do antimicótico, os resultados foram calculados em mg/ml, baseando-se na quantidade de radioatividade presente numa concentração conhecida de antimicótico, relacionada com a radioatividade medida em cada amostra. Sabendo-se a radioatividade presente numa concentração conhecida de 5-Fluorocitosina, calculou-se a radioatividade em 1 mg da droga. Desta forma pôde-se reduzir as leituras em CPM (unidade de radioatividade) para concentração em microgramas/ml, valor este que foi comparado às concentrações encontradas para cada amostra no método biológico.

### 3. RESULTADOS

Todas as córneas permaneceram transparentes após 6 horas de exposição aos antimicóticos.

#### 3.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI)

A concentração mínima inibitória média para cada antimicótico foi obtida pela média aritmética das CMI de cada experimento: Anfotericina B 0,04 µg/ml, Natamicina 2,08 µg/ml, Natamicina & DMSO 1,6 µg/ml, Clotrimazol 2,5 µg/ml, Miconazol 0,54 µg/ml, Tiabendazol 1,62 µg/ml e 5-Fluorocitosina 8,75 µg/ml.

#### 3.2 EXPERIMENTO

##### 3.2.1 Determinação da concentração dos antimicóticos na câmara anterior simulada

Nos experimentos em que foram estudados a Natamicina em solução aquosa, Clotrimazol e Miconazol, não foram detectadas concentrações maiores que a CMI dos respectivos medicamentos.

Verificaram-se concentrações crescentes de Natamicina na câmara anterior simulada após a exposição da córnea à solução de Natamicina & DMSO. As amostras retiradas no tempo zero apresentaram concentrações inferiores a CMI nos 3 experimentos. Após 3 horas de exposição um dos experimentos apenas mostrou concentrações maiores que a CMI (5,00 µg/ml), enquanto após 6 horas de exposição, em 2 experimentos foi detectada a presença da droga na câmara anterior simulada (ambos de 5,00 µg/ml).

Para o estudo da concentração da Anfotericina-B na CAS foram efetuados 3 experimentos. Apenas em uma das amostras das 6 horas de exposição foi detectada presença da droga em concentração semelhante a da CMI (0,02 µg/ml).

Foi possível determinar a presença de Tiabendazol na CAS através das amostras retiradas após 3 horas de exposição da córnea ao antimicótico (5,00; 5,00; 5,00; 20,00; 2,50 µg/ml). Nas amostras retiradas após 6 horas de exposição da córnea, concentrações ainda maiores foram detectadas (20,00; 10,00; 5,00; 20,00; 10,00 µg/ml).

Em relação à 5-Fluorocitosina o método biológico mostrou no tempo zero concentrações inferiores a CMI. Em 3 horas obtivemos nos 5 experimentos concentrações maiores que CMI (200; 200; 800; 400; 1600). Após 6 horas de exposição da córnea foram

detectadas concentrações ainda mais altas em 4 experimentos (400; 200; 1600; 3200), e menor em 1 experimento (200).

Pelo método radioativo utilizado em 7 experimentos foram detectadas baixas concentrações de 5-Fluorocitosina na amostra retirada no tempo zero (7; 57; 65; 11; 0,01; 12; 13). Como no método biológico, o método radioativo usado no processamento das amostras detectou concentrações maiores nas amostras retiradas após 6 horas de exposição (1730; 445; 2915; 970; 1300; 470; 260), do que as retiradas após 3 horas de exposição (780; 750; 880; 230; 1050; 400; 280).

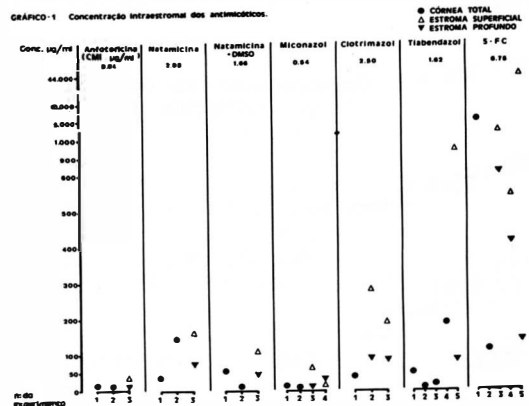
Em três dos 5 experimentos em que as amostras foram processadas pelo método biológico foram também analisados pelo método radioativo. Na comparação destes resultados, o método radioativo detectou concentrações mais altas de 5-Fluorocitosina.

#### 3.3 CONCENTRAÇÃO INTRA-ESTROMAL CORNEANA DOS ANTIMICÓTICOS

Em todas as córneas processadas inteiras obtivemos altas concentrações médias intra-estromais de todas as drogas estudadas (Natamicina, Natamicina & DMSO, Miconazol, Clotrimazol, Tiabendazol, 5-Fluorocitosina) pelos métodos biológico e radioativo.

Para todas as drogas verificou-se que a concentração do antimicótico/g de tecido no estroma corneano superficial foi maior que a do estroma profundo e que as concentrações obtidas nas córneas processadas por inteiro (GRÁFICO 1).

Gráfico 1 — Concentração intraestromal dos antimicóticos



Em relação à Anfotericina B as duas córneas processadas inteiras mostraram altas concentrações intra-estromais. A terceira córnea mostrou na parte superficial con-

centração mais elevada do que na parte profunda (GRÁFICO 1).

A concentração intra-estromal de Natamicina em córneas inteiras foi determinada em dois experimentos. Em um experimento quando se dividiu a córnea, a concentração no estroma superficial foi maior que no estroma profundo (GRÁFICO 1).

No estudo da penetração de Natamicina & DMSO duas córneas foram processadas inteiras. Noutro experimento dividiu-se a córnea, e a concentração no estroma corneano superficial foi maior que a concentração no estroma profundo (GRÁFICO 1).

No estudo do Miconazol, duas córneas foram processadas inteiras. Em uma das duas córneas que foram divididas, a concentração no estroma superficial foi maior que no estroma profundo e na outra a concentração no estroma profundo foi maior que no estroma superficial (GRÁFICO 1).

Para o estudo do Clotrimazol, uma córnea foi processada inteira e duas foram divididas. Nestas últimas a concentração no estroma superficial foi maior que no profundo (GRÁFICO 1).

No estudo do Tiabendazol, 4 córneas foram processadas inteiras e apenas uma foi dividida sendo que nesta, a concentração no estroma superficial foi maior que no profundo (GRÁFICO 1).

No estudo da 5-Fluorocitosina, duas córneas foram processadas inteiras. Em 3 córneas que foram divididas e a concentração no estroma superficial foi maior que no profundo (GRÁFICO 1).

Para se avaliar os resultados das concentrações intra-estromais de todas as drogas estudadas, foram estabelecidas relações com as respectivas concentrações mínimas inibitórias. Assim, as concentrações intra-estromais obtidas para cada antimicótico foram divididas pelas correspondentes CMI. Através deste artifício, que revela uma relação expressa por um índice numérico, observou-se que no estroma profundo o índice dentre os índices mais alto foi o da Anfotericina B e no estroma superficial o da 5-Fluorocitosina. Quando avaliado o estroma por inteiro, observou-se que a 5-Fluorocitosina e a Anfotericina B apresentaram índices mais elevados que os demais antimicóticos (GRÁFICO 2).

Em todos os 7 experimentos analisados por este método as córneas foram divididas sendo a concentração no estroma superficial maior que a concentração no estroma profundo em 6 experimentos (GRÁFICO 3).

Gráfico 2 — Índices relativos às concentrações intraestromais de antimicóticos com as respectivas CMIs.

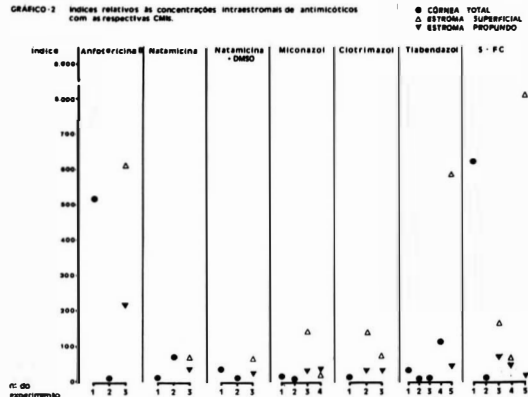
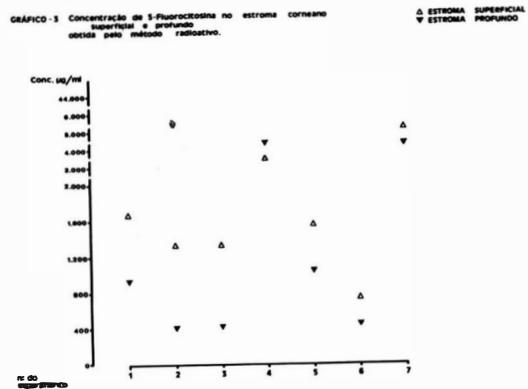


Gráfico 3 — Concentração de 5-Fluorocitosina no estroma corneano superficial e profundo obtida pelo método radioativo.



#### 4. DISCUSSÃO

O interesse pela farmacocinética das drogas antifúngicas é antigo. Não tendo sido demonstrado transporte ativo, acredita-se que os medicamentos usados topicamente penetram na córnea por difusão (MINDEL, 1982).

Levando-se em consideração que a maioria dos casos de ceratite micótica apresenta áreas de defeito epitelial corneano<sup>5</sup>, e as córneas doadas para este estudo apresentavam ao exame biomicroscópico com lâmpada de fenda grau variável de erosões epiteliais, optou-se por remover o epitélio de todas as córneas utilizadas.

Modelos experimentais em animais<sup>9,13</sup> ou aqueles resultados observados em pacientes portadores de patologia ocular cujo tratamento engloba a utilização do medicamento teste, são de extrema importância. Em contrapartida ocorrem grandes probabilidade

des de haver variação dos resultados pela própria diversidade biológica de cada indivíduo e do microrganismo.

O método utilizado neste estudo, apresenta também várias possibilidades de variação dos resultados. A utilização de córneas humanas com diferentes graus de edema no início do experimento poderia induzir a alteração da capacidade de difusão dos medicamentos. Como indicadores da presença de antimicóticos biologicamente ativos nas amostras estudadas foram utilizados fungos que também estão sujeitos a apresentar sensibilidade variável, de acordo com a alteração da atividade biológica das drogas quando em presença de oxigênio, luz e alterações de pH.

Outra técnica utilizada no estudo da penetração de drogas é a radioativa<sup>12</sup>, que não leva em consideração a forma biologicamente ativa da droga, sendo esta a grande vantagem do método.

O presente trabalho teria as seguintes vantagens em relação aos estudos anteriores: a utilização de córneas humanas recém-enucleadas, constituindo modelo experimental que mais se aproxima às condições in anima nobilis; a presença de um único pesquisador analisando a penetração de várias drogas com a mesma metodologia, e a comparação do método biológico com o método radioativo na análise de uma mesma droga.

Por outro lado, podem ser assinaladas algumas desvantagens da metodologia utilizada, tais como as dificuldades na obtenção dos bulbos oculares humanos que limitaram o número de experimentos, de tal forma que não foi possível o tratamento estatístico. Por se tratar de estudo in vitro o conhecimento das concentrações na CAS e no estroma corneano deve ser interpretado com reserva, para aplicação no homem.

As informações da literatura sobre a reduzida penetração ocular da Anfotericina B<sup>10</sup> não foram revogados, pois em apenas 1 dos 3 experimentos efetuados com esta droga, pudemos detectar sua presença na câmara anterior, após 6 horas de exposição da córnea ao antimicótico em concentração semelhante a CMI.

Embora a eficácia da Natamicina tenha comprovação na literatura<sup>5,13</sup>, sua penetração através da córnea não foi demonstrada pelo método empregado. Por outro lado, a adição de DMSO ao antibiótico parece facilitar a passagem desse componente para a câmara anterior, mas não aumenta sua concentração no estroma profundo corneano.

A demonstração da passagem do Tiabendazol através da córnea observada nos 5

experimentos deste estudo, confirma os resultados obtidos por<sup>12</sup> quando estudou a penetração corneana desta mesma droga em cobaias, e demonstrou que o Tiabendazol penetrava na câmara anterior ocular após aplicação tópica.

Ao contrário dos resultados obtidos por alguns pesquisadores<sup>11</sup> que demonstram penetração intra-ocular do Miconazol em olhos de cobaia após uso tópico e subconjuntival pelo método empregado na presente investigação, não foi possível evidenciar penetração do mesmo.

Assim, pelos experimentos apresentados, a córnea humana parece ser uma barreira importante na penetração de drogas com pouca solubilidade em água, como a Anfotericina B, Natamicina, Miconazol e Clotrimazol, na câmara anterior do olho.

Com o estudo da penetração dos antimicóticos no estroma corneano foram evidenciadas altas concentrações de todos os medicamentos, não só no estroma superficial como também no estroma profundo.

Estes dados fazem supor que no tratamento de úlceras micóticas profundas da córnea seria de extrema importância o uso das drogas antimicóticas em forma de banho contínuo conforme preconizado por RIBEIRO GONÇALVES em 1975.

A Anfotericina B, que no Brasil é comercializada com formulação para uso endovenoso, vem sendo utilizada no tratamento de úlceras micóticas de córnea em infusão contínua<sup>14</sup>. Os excelentes resultados clínicos obtidos por este autor demonstram que o contato tópico prolongado da droga antifúngica é suficiente para determinar a penetração estromal da mesma em concentrações terapêuticas.

#### RESUMO

Este estudo compara a penetração corneana de 6 antimicóticos na câmara anterior e no estroma corneano. Trinta córneas humanas desepitelizadas e recém-enucleadas foram colocadas numa câmara de perfusão e expostas as drogas a serem testadas por 6 horas. Agentes avaliados: anfotericina B 5%, natamicina 5%, natamicina 5% diluída em DMSO, miconazol 1%, clotrimazol 5%, tiabendazol 5% e 5-fluorocitosina 1%.

Dos antimicóticos avaliados a Natamicina diluída em DMSO, tiabendazol e 5-fluorocitosina apresentaram passagem através da córnea. A anfotericina B apresentou passagem em apenas 1 experimento.

Após 5 horas de imersão da córnea dos antimicóticos, foi possível detectar altas concentrações de todos os antimicóticos no estroma profundo da córnea. O maior índice de penetração foi o da anfotericina B.

#### SUMMARY

This study compares the corneal penetration of 6 different antimycotic agents into and through the human cornea. Thirty fresh de-epithelialized human corneas were placed in a perfusion chamber and exposed to the drug to be tested for 6 hours. Agents evaluated: amphotericin B 5%, natamycin 5% diluted with DMSO,

miconazole 1%, clotrimazole 5%, thiabendazole 5%, and 5-fluorocytosine 1%.

Of the antimycotics evaluated Natamycin diluted in DMSO, thiabendazole and 5-fluorocytosine showed passage through the cornea, with equivocal passage of amphotericin B. 5-fluorocytosine was also studied by a radioactive assay which detected greater concentrations than the biological assay.

After six hours of antimycotic bath we could detect significant levels of penetration of all antimycotics in the deep stroma of the cornea. The highest concentration of antimycotic in the deep cornea was obtained using amphotericin B.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LEBER, T. — Keratomykosis aspergillina als Ursache von Hypopion Keratitis. Albrecht. v. Graefes Arch. Ophthal., 25: 285-301, 1879.
- JONES, B. R. — Principles in the management of oculomycosis: XXXI Edward Jackson Memorial Lecture. Amer. J. Ophthal., 79: 15-53, 1975.
- FORSTER, R. K. & REBELL, G. — The diagnosis and management of keratomycoses. II. Medical and surgical management. Arch. Ophthal., 93: 1134-6, 1975.
- AZEVEDO, M. L. — Investigações preliminares sobre a microflora ocular. Arch. bras. Oftal., 25: 41-7, 1962.
- FORSTER, R. — Fungal diseases. In: SMOLIN, G. & THOPT, R. A. — The cornea. Boston, Little Brown, 1983. p. 188-77.
- REBOUÇAS, J. A. — Micoses oculares. Rev. bras. Oftal., 12: 107-15, 1953.
- FISCHMAN, O. & CAMARGO, Z. P. — Micologia ocular. In: BELFORT JR., R.; ALMADA, A. T.; TOMIMATSU, V. P. — Doenças externas oculares. São Paulo, Roca, 1981. p. 35-40.
- JONES, D. B. — Fungal keratitis. In: DUANE, T. D. — Clinical ophthalmology. Philadelphia, Harper & Row, 1981. v. 4, cap. 21, p. 1-13.
- O'DAY, D. M.; RAY, W. A.; HEAD, W. S. & ROBINSON, R. D. — Influence of corneal epithelium on the efficacy of topical antifungal agents. Invest. Ophthal. Visual Sci., 25: 855-9, 1984.
- GREEN, W. R.; BENNETT, J. E. & GOOS, R. D. — Ocular penetration of amphotericin-B. Arch. Ophthal., 73: 760-75, 1965.
- FOSTER, C. S. & STEFANYSZYN, M. — Intraocular penetration of miconazole in rabbits. Arch. Ophthal., 97: 1703-6, 1979.
- ROBINSON, H. J.; GRAESSELE, O. E.; LEHMAN, E. G.; KELLEY, K. L.; GEOFFROY, R. F.; ROSEMBLUM, O. — Ocular absorption of thiabendazole C14 by the rabbit. Amer. J. Ophthal., 62: 710-15, 1966.
- O'DAY, D. M.; ROBINSON, R. & HEARD, S. W. — Efficacy of antifungal agents in the cornea. Invest. Ophthal. Visual Sci., 24: 1098-102, 1983.
- RIBEIRO GONÇALVES, J. O. — A irrigação continua no tratamento das úlceras micóticas da córnea. Arq. bras. Oftal., 40: 232-44, 1977.

## SIMPÓSIO MUNDIAL EM UVEITES

HOTEL CASA GRANDE — GUARUJÁ (SÃO PAULO)  
17 A 20 DE MARÇO DE 1988

#### PATROCÍNIO:

INTERNATIONAL UVEITIS STUDY GROUP (IUSG)  
SOCIEDADE BRASILEIRA DE UVEITE  
C.E.O. MOACYR ALVARO — ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA

PRESIDENTE: DR. RUBENS BELFORT JR.  
INFORMAÇÕES: CAIXA POSTAL 4086 — SÃO PAULO  
PRINCIPAIS TÓPICOS:

- TOXOPLASMOSE OCULAR, RECENTES AVANÇOS NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO, PESQUISA BÁSICA, CIRURGIA, DISCUSSÃO DE CASOS.
- HAVERÁ DESTAQUE ESPECIAL PARA APRESENTAÇÃO DE TEMAS LIVRES EM APRESENTAÇÃO ORAL E POSTERS.

A LÍNGUA OFICIAL DO SIMPÓSIO SERÁ O INGLÊS, OBRIGATORIO EM TODAS AS APRESENTAÇÕES. TRADUÇÃO SIMULTÂNEA INGLÊS/PORTUGUÊS PARA ASSISTENTES.

#### PRESENÇA CONFIRMADA DA IUSG

ALEMANHA: BOKE, KRAUS-MACKIOW, MANTHEY

AUSTRIA: ZIRM

BELGICA: DERNOUCHAMPS

EUA: COLES, KAPLAN, LUNTZ, MARAK, NUSSENBLATT, O'CONNOR, RAO, SCHLAEGEL, SMITH

FINLÂNDIA: SAARI

FRANÇA: BEC, BLOCH-MICHEL, COLIN, VADOT

INGLATERRA: DINNING

ITALIA: SECCHI

IUGUSLAVIA: BLAGOJEVIC, STANOJEVIC-PAOVIC

JAPÃO: AOKI, OHNO

SUIÇA: MARTENET

AO LADO DE OUTROS MAIORES ESPECIALISTAS MUNDIAIS DO BRASIL, DAS AMÉRICAS E OUTROS CONTINENTES.