

Estudo experimental da eficácia clínica e microbiológica da associação do diclofenaco sódico e sulfato de gentamicina no tratamento da ceratite por *Pseudomonas aeruginosa*

Clinical and microbiological effect of sodium diclofenac on gentamicin treatment of experimental Pseudomonas aeruginosa keratitis

Belquiz A. Nassaralla ^(1, 3)
Procópio M. dos Santos ^(2, 3)
Xun W. Wang ⁽³⁾
Won R. Wee ⁽³⁾
Manoel Pinheiro Jr. ⁽³⁾
João J. Nassaralla Jr. ⁽³⁾
T. Al Reaves ⁽⁴⁾
Arthur Jauch ⁽⁴⁾
Peter McDonnell ⁽⁵⁾

RESUMO

Objetivo: Comparar o efeito da associação de diclofenaco sódico 0,1%, mais sulfato de gentamicina 0,3% em olhos de coelhos infectados por meio de injeção intra-estromal de *Pseudomonas aeruginosa*, após remoção do epitélio da região central da córnea.

Métodos: Os animais foram tratados com soluções tópicas contendo diferentes drogas. Grupo I: Associação de diclofenaco sódico 0,1%, mais sulfato de gentamicina 0,3%. Grupo II: Veículo da associação de diclofenaco sódico 0,1%, mais sulfato de gentamicina 0,3%. Grupo III: Apenas diclofenaco sódico 0,1%. Grupo IV: Sulfato de gentamicina 0,3% isoladamente. Grupo V: BSS. Grupo VI: Não recebeu nenhuma medicação. Os animais do grupo VI foram sacrificados no primeiro dia do experimento para verificar o comportamento da infecção corneal. Nos demais grupos as drogas foram usadas de uma em uma hora, no primeiro dia e sete vezes ao dia, nos seis dias restantes. A colheita de espécimes da conjuntiva foi feita 24 horas antes de se provocar a infecção, no primeiro, terceiro e oitavo dias do experimento. Após os animais terem sido sacrificados as córneas foram removidas para contagem do número de bactérias remanescentes.

Resultados: O número de coelhos com descemetócele, no terceiro dia do experimento, foi显著mente maior nos grupos tratados com BSS e apenas diclofenaco. Não houve diferença significante, quanto ao número de colônias isoladas da conjuntiva e córnea, nas diferentes fases do experimento.

Conclusão: Diclofenaco sódico 0,1% não afetou a atividade antibacteriana do sulfato de gentamicina 0,3% no tratamento da ceratite experimental, por *Pseudomonas aeruginosa*, quando comparado com o uso apenas do sulfato de gentamicina 0,3%.

Palavras-chave: Ceratite; *Pseudomonas aeruginosa*; Modelo animal; Tratamento; Drogas antiinflamatórias; Diclofenaco sódico

INTRODUÇÃO

Infecção bacteriana causada por *Pseudomonas aeruginosa* produz severa e rápida destruição da córnea. Sua incidência tem aumentado e a mesma necessita ser tratada imediata e intensivamente com terapia efetiva, para diminuir as seqüelas que produz na es-

trutura e função do bulbo ocular. Aminoglicosídeos administrados topicalmente são comumente usados para tratar esta condição ^{1, 12, 17}. O uso de esteróides ou outros agentes antiinflamatórios diminui a inflamação corneal o que resulta em menor cicatrização e consequentemente melhor visão aos olhos acometidos por infecção por

Trabalho realizado no Laboratório de Pesquisas Oculares da Universidade do Sul da Califórnia, Doheny Eye Institute, Los Angeles, CA, Estados Unidos.

⁽¹⁾ Pós-graduanda (Doutorado) do Deptº. de Oftalmologia da Fac. Med. da UFMG, Belo Horizonte, MG.

⁽²⁾ Mestre e Doutor pela Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP.

⁽³⁾ Ex-fellow do Doheny Eye Institute, Los Angeles, CA, Estados Unidos.

⁽⁴⁾ Médicos da CIBA Vision, Duluth, Georgia, Estados Unidos.

⁽⁵⁾ Professor Associado do Setor de Córnea e Doenças Externas do Doheny Eye Institute, Los Angeles, CA, Estados Unidos.

Endereço para correspondência: Dr. Procópio M. Santos - SHLS, Qd.716 - Centro Clínico Oswaldo Cruz, Cj. 208 - CEP: 70390-700 - Brasília - DF.

*Pseudomonas aeruginosa*⁵. Assim, são recomendados no tratamento desta forma de ceratite.

Diclofenaco sódico é um derivado do ácido fenilacético que interage na via do ácido araquidônico, a nível da cicloxygenase. Com a inibição desta enzima chave, o diclofenaco previne a formação de tromboxanos, prostaglandinas e prostaciclinas¹⁰. O diclofenaco sódico parece trazer efeito benéfico no controle da inflamação e cicatrização corneal após ceratectomia fotorrefrativa¹⁴. Muitas considerações são feitas no sentido de incluir agentes antiinflamatórios no tratamento de úlceras infecciosas da córnea, para diminuir sua destruição, desde que administrados adequadamente. Evidências experimentais mostram que a ceratite por *Pseudomonas* não é afetada pelo uso de corticosteróides se o antibiótico adequado for usado⁵.

Este estudo foi realizado com o objetivo de verificar se a associação do diclofenaco sódico 0,1% ao sulfato de gentamicina 0,3%, em casos de ceratite por *Pseudomonas aeruginosa*, altera a atividade antibacteriana da gentamicina e diminui a resposta inflamatória ocular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Sessenta coelhos pigmentados da raça Dutch, adultos, jovens, de ambos os sexos, com peso entre 1,4 e 2,4 kg foram envolvidos neste trabalho. Os animais foram mantidos em ambiente com controle da temperatura e umidade, registrados continuamente, usando-se um termohidrográfico. A cepa de *Pseudomonas aeruginosa* utilizada foi do tipo "American Type Culture Collection" (ATCC) que é virulenta e sensível à gentamicina em uma concentração inibitória mínima (MIC) de 4 µg/ml.

Após remoção do epitélio da área central da córnea do olho direito (OD) dos animais, sob anestesia geral e microscópio cirúrgico, foi realizada injeção corneal intra-estromal de 10 µl de

inóculo previamente preparado, contendo 800 Unidades Formadoras de Colônia (CFU) ± 10% na fase de crescimento logarítmico.

De forma aleatória e mascarada, constituíram-se seis grupos de 10 coelhos cada, para a instilação das soluções oftálmicas, após 12 horas da inoculação bacteriana quando foi constatada infecção corneal (biomicroscopia). Grupo I: Associação de diclofenaco sódico 0,1%, mais sulfato de gentamicina 0,3%. Grupo II: Veículo da associação de diclofenaco sódico 0,1%, mais sulfato de gentamicina 0,3%. Grupo III: Apenas diclofenaco sódico 0,1%. Grupo IV: Sulfato de gentamicina 0,3% isoladamente. Grupo V: Solução Salina Balanceada (BSS). Grupo VI: Não recebeu nenhuma solução. Todos os coelhos deste grupo foram sacrificados no primeiro dia do experimento, para verificar o comportamento da infecção produzida pela bactéria. Suas córneas foram removidas e a porção central foi trepanada e cortada em pequenos fragmentos que foram acondicionados em tubos, misturados com 1 ml de caldo de soja "trypticase" (TSB) e homogeneizados durante dois a três minutos. Em seguida, essa suspensão foi submetida a uma série de diluições na razão 10 até 10⁷. Os produtos oriundos de cada diluição foram semeados em ágar-chocolate e incubados a 37°C, em 5% de CO₂, por 48 horas. O número de CFU de *Pseudomonas aeruginosa* foi então determinado.

Os colírios utilizados nos diversos grupos tratados foram acondicionados em frascos também rotulados com números de 1 a 50 pela CSLU (Clinical Sample Logistic Unit) da CIBA Vision Dispersa (Switzerland). As soluções foram instiladas no fundo do saco conjuntival do OD, através de uma micropipeta de 25 µl, que era adaptada a uma ponta estéril. Para cada animal, uma ponta nova foi utilizada cada vez que a medicação era instilada. No primeiro dia, usou-se as soluções de hora em hora e nos seis dias consecutivos

restantes às 6:00, 9:00, 12:00, 15:00, 18:00, 21:00 e 24:00 horas.

O exame clínico dos olhos foi realizado com o auxílio de lâmpada de fenda portátil, 24 horas antes da inoculação da cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, no primeiro, terceiro e oitavo dias do experimento. Hiperemia da conjuntiva palpebral e bulbar; infiltrados na conjuntiva palpebral; papilas conjuntivais; edema de pálpebra e conjuntiva; lacrimejamento; secreção conjuntival; ulceração, infiltrados, abscesso, vascularização e perfuração corneana; irite e hipópio foram anotados e classificados, de acordo com a escala de McDonald-Shadduck (McDONALD & SHADDUCK, 1977)¹³ modificada.

Foram feitas colheitas de espécimes do saco conjuntival para cultura bacteriana, 24 horas antes de provocar a infecção, no primeiro, terceiro e oitavo dias de experimento. O material foi semeado em ágar-chocolate, e posteriormente, as colônias foram contadas e expressas em CFU. Após o sacrifício da cada animal, suas córneas foram removidas, processadas, semeadas e suas CFU contadas.

Para análise dos resultados, foram aplicados os testes de partição do qui-quadrado, de variância por postos de Friedman, de Wilcoxon e de variância de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

Dos 50 coelhos pertencentes aos cinco grupos tratados, 21 foram sacrificados no terceiro dia do experimento porque apresentaram iminência de perfuração corneal (descemetocèle). Dois pertenciam ao grupo Grupo I; três ao Grupo II; seis ao Grupo III e todos os dez animais do Grupo V. O número de coelhos com descemetocèle, no terceiro dia do experimento, foi显著mente maior no grupo V em relação aos demais grupos do experimento. Comparando-se os grupos I, II, III e IV, a quantidade de animais com descemetocèle no terceiro dia do experi-

TABELA 1

Freqüência de descemetocèle nos diferentes grupos de coelhos com infecção corneal experimental por *Pseudomonas aeruginosa*, no terceiro dia do experimento.

	Descemetocèle			%
	SIM	NÃO	TOTAL	
I	2	8	10	20,0
II	3	6	9	33,3
III	6	4	10	60,0
IV	0	10	10	0,0
V	10	0	10	100,0
TOTAL	21	28	49	42,8

I = Diclofenaco + Gentamicina; II = Véculo da Associação Diclofenaco + Gentamicina; III = Diclofenaco; IV = Gentamicina; V = BSS; Teste do Quiquadrado χ^2 calc = 24,50 ($P < 0,05$)

mento, foi estatisticamente maior no grupo III (Tabela 1). Um dos animais do Grupo II, teve que ser sacrificado no terceiro dia porque apresentou diarréia intensa e foi excluído do estudo.

Todos os grupos apresentaram hiperemia das conjuntivas palpebral e bulbar, significantemente mais intensa no terceiro dia do experimento. Nos grupos I e IV a hiperemia diminuiu significantemente no oitavo dia. Com exceção do grupo III, os infiltrados da conjuntiva palpebral foram significantemente mais intensos no primeiro dia quando comparados ao terceiro e oitavo dias. Não houve diferença significante entre os grupos estudados. Ne-

hum animal dos grupos estudados apresentou papilas na conjuntiva palpebral durante o experimento.

Nos grupos I, II e IV, o edema da pálpebra e conjuntiva foi estatisticamente mais intenso no primeiro dia em relação ao oitavo. Já o grupo III apresentou edema mais intenso no primeiro dia quando comparado ao terceiro (Tabela 2). Poucos animais apresentaram lacrimejamento além do habitual, nos diferentes dias analisados.

Todos os animais mostraram secreção conjuntival de intensidade semelhante no início do estudo. Para os grupos I, II e IV, a secreção conjuntival diminuiu ao longo do tratamento, porém não houve diferença significante entre os grupos estudados (Tabela 3). A intensidade das ulcerações corneais não diferiu entre os grupos, no primeiro e oitavo dias do experimento. Já no terceiro dia, o grupo III apresentou ulceração corneal significantemente mais intensa do que o grupo IV (Tabela 4). Os animais que chegaram até o oitavo dia do experimento tiveram infiltrados corneais significantemente mais intensos no oitavo dia do que no primeiro (Tabela 5).

Alguns animais do grupo I, II e III apresentaram abscesso corneal no oitavo dia do estudo (Tabela 6). Vários animais dos grupos I e II apresentaram vascularização de córnea, no oitavo dia do experimento, mas não houve diferença estatística entre os grupos. Nenhum coelho apresentou perfuração de córnea e irite durante o estudo. O aparecimento de hipópio só ocorreu no oitavo dia, principalmente no grupo III, no entanto não houve diferença significante entre os grupos.

Nenhum espécime coletado da conjuntiva, 24 horas antes da inoculação de *Pseudomonas* na córnea, apresentou crescimento de microrganismo em cultura. Doze horas após a inoculação, todas as amostras corneais apresentaram crescimento de *Pseudomonas* o que não aconteceu com o material conjuntival. No terceiro e oitavo dias do

TABELA 2

Escores para edema da pálpebra e conjuntiva nos diferentes grupos de coelhos com infecção corneal experimental por *Pseudomonas aeruginosa* no 1º, 3º e 8º dias do experimento.

	I			II			III			IV			V		
	1º	3º	8º	1º	3º	8º									
3	1	—	—	3	2	—	3	1	—	3	1	0	3	1	—
3	0	0	—	3	1	—	3	1	0	3	1	0	3	1	—
3	1	0	—	3	1	0	3	1	1	3	0	0	3	1	—
3	1	0	—	3	1	1	3	1	—	3	0	0	3	1	—
3	1	0	—	3	1	0	3	1	1	3	0	0	3	1	—
3	1	0	—	3	0	0	3	1	0	3	1	0	3	1	—
3	0	—	—	3	0	0	3	1	—	3	0	0	3	1	—
3	1	0	—	3	0	0	3	1	—	3	1	0	3	1	—
3	1	0	—	3	1	—	3	1	—	3	0	0	3	1	—
3	1	0	—	3	1	—	3	1	—	3	0	0	3	1	—
Média	3,0	0,8	0,0	3,0	0,8	0,2	3,0	1,0	0,5	3,0	0,3	0,0	3,0	1,0	—

(—) Morte do coelho; I = Diclofenaco + Gentamicina; II = Véculo da Associação Diclofenaco + Gentamicina; III = Diclofenaco; IV = Gentamicina; V = BSS; Teste de Variância de Kruskal-Wallis H calc=9,4 ($P=0,05$)

TABELA 3

Escores para secreção conjuntival nos diferentes grupos de coelhos com infecção corneal experimental por *Pseudomonas aeruginosa* no 1º, 3º e 8º dias do experimento.

	I			II			III			IV			V		
	1º	3º	8º	1º	3º	8º									
2	3	—	—	2	2	—	2	1	—	1	1	0	1	1	—
1	1	0	—	1	2	—	1	1	0	2	1	0	2	3	—
2	1	2	—	1	1	0	1	1	1	2	2	1	1	2	—
1	2	0	—	1	1	1	2	3	—	1	1	0	1	1	—
2	2	2	—	1	1	0	1	1	1	1	1	0	2	3	—
1	2	1	—	1	1	1	1	1	1	2	2	0	1	1	—
1	3	—	—	1	1	1	2	2	—	1	1	0	2	2	—
2	1	0	—	1	1	0	2	2	—	2	1	0	2	2	—
1	1	2	—	1	2	—	2	2	—	1	1	0	1	1	—
1	2	2	—	—	—	—	1	2	—	1	1	0	2	2	—
Média	1,4	1,8	1,1	1,1	1,3	0,5	1,5	1,6	0,8	1,4	1,2	0,1	1,5	1,8	—

(—) Morte do coelho; I = Diclofenaco + Gentamicina; II = Véculo da Associação Diclofenaco + Gentamicina; III = Diclofenaco; IV = Gentamicina; V = BSS; Teste de Variância de Kruskal-Wallis H calc=9,4 ($P=0,05$)

TABELA 4
Escores para úlcera corneal nos diferentes grupos de coelhos com infecção corneal experimental por *Pseudomonas aeruginosa* no 1º, 3º e 8º dias do experimento.

I			II			III			IV			V			
1º	3º	8º	1º	3º	8º	1º	3º	8º	1º	3º	8º	1º	3º	8º	
2	3	—	2	4	—	2	4	—	2	1	1	2	3	—	
2	3	2	2	4	—	2	1	1	2	1	1	2	4	—	
2	1	1	2	2	1	2	3	2	2	2	2	2	2	—	
2	2	2	2	2	2	2	4	—	2	2	2	2	3	—	
2	2	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	4	—	
2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	—	
2	2	—	2	4	2	2	4	—	2	2	2	2	1	—	
2	3	2	2	2	2	2	3	—	2	2	1	2	4	—	
2	3	2	2	4	—	2	3	—	2	1	1	2	3	—	
2	3	2				2	4	—	2	1	3	2	4	—	
Média	2,0	2,4	1,9	2,0	3,0	1,7	2,0	3,1	1,8	2,0	1,7	1,7	2,0	2,9	—

(—) Morte do coelho; I = Diclofenaco + Gentamicina; II = Véculo da Associação Diclofenaco + Gentamicina; III = Diclofenaco; IV = Gentamicina; V = BSS; Teste de Variância de Kruskal-Wallis H calc=9,4 (P=0,05)

TABELA 5
Escores para infiltrados corneais nos diferentes grupos de coelhos com infecção corneal experimental por *Pseudomonas aeruginosa* no 1º, 3º e 8º dia do experimento.

I			II			III			IV			V			
1º	3º	8º	1º	3º	8º	1º	3º	8º	1º	3º	8º	1º	3º	8º	
1	3	—	1	4	—	1	4	—	1	2	4	1	4	—	
1	2	4	3	4	—	1	4	4	1	1	2	1	4	—	
1	3	4	1	2	4	1	4	4	1	3	4	1	4	—	
1	2	3	1	3	4	1	4	—	1	2	4	1	4	—	
1	3	4	1	4	4	1	4	4	1	3	4	1	4	—	
1	2	3	1	2	4	1	1	4	1	3	4	1	3	—	
1	3	—	1	4	4	1	4	—	1	2	2	1	3	—	
1	2	3	1	3	4	1	4	—	1	3	3	1	4	—	
1	3	4	1	4	—	1	4	—	1	1	4	1	4	—	
1	2	3				1	4	—	1	3	3	1	4	—	
Média	1,0	2,5	2,8	1,1	3,2	4,0	1,0	3,7	4,0	1,0	2,3	3,4	1,0	3,8	—

(—) Morte do coelho; I = Diclofenaco + Gentamicina; II = Véculo da Associação Diclofenaco + Gentamicina; III = Diclofenaco; IV = Gentamicina; V = BSS; Teste de Variância de Kruskal-Wallis H calc=9,4 (P=0,05)

experimento, não houve diferença significante quanto ao número de bactérias isoladas nos diferentes grupos analisados.

DISCUSSÃO

No terceiro dia do experimento 42,8% dos coelhos apresentaram descemetocele, o que os levou ao sacrifício antes do término do estudo (Tabela I). Isto pode ter ocorrido devido à utilização da associação de duas técnicas para provo-

car a infecção bacteriana, ou seja, de septicilização da córnea seguida de injeção intra-estromal. Segundo HYN-DIUK (1981)⁷, abrasão do epitélio e subsequente aplicação de gotas do inóculo ou a injeção intra-estromal sem debridamento são suficientes para estabelecer a ceratite.

O tratamento da infecção por *Pseudomonas aeruginosa* com BSS, diclofenaco e apenas o veículo, provocou grande efeito destrutivo sobre a córnea, ou seja, 100% (BSS), 60,0% (diclofenaco) e 33,3% (veículo) dos animais

tiveram descemetocele no terceiro dia do experimento (Tabela 1). Segundo ASSIL et al. (1992)³, infecções corneais causadas por este microrganismo, clinicamente, progredem e se não forem tratadas com antibióticos adequados, podem envolver a esclera e evoluírem para perfuração corneal.

O edema da pálpebra e conjuntiva desapareceu completamente no oitavo dia de tratamento com antibioticoterapia, associada ou não ao antiinflamatório (Tabela 2). GRITZ et al. (1992)⁶ relataram que a média de escores para alterações clínicas de uma infecção por *Pseudomonas aeruginosa* diminui durante o curso do tratamento da mesma com antibióticos.

Clinicamente, o grupo tratado com apenas gentamicina apresentou recuperação mais rápida da intensidade da secreção conjuntival do que os demais, embora sem diferença estatística (Tabela 3). Resultados semelhantes aos de LAIBSON et al. (1981)¹¹ ocorreram, com melhora clínica da infecção ocular por *Pseudomonas*, após o tratamento tópico com tobramicina ou gentamicina.

Nos animais em que foi utilizado apenas BSS ou diclofenaco, a média de escores foi significantemente maior no terceiro dia de tratamento, com evolução menos satisfatória. Assim sugere-se que as referidas drogas não apresentaram atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*. A diminuição da média de escores para a ulceração corneal observada no oitavo dia, para o grupo em que foi utilizado apenas o diclofenaco (Tabela 4), provavelmente ocorreu devido ao curso natural de uma infecção ocular não tratada. Segundo DAVIS & CHANDLER (1975)⁵, após o sétimo dia de uma infecção por *Pseudomonas aeruginosa*, se não ocorrer perfuração do bulbo ocular, a tendência natural é de se obter melhora clínica.

A intensidade dos infiltrados e abscessos corneais relacionou-se diretamente com a duração do experimento. Todos os grupos tiveram média de es-

TABELA 6
Escores para abscesso corneal nos diferentes grupos de coelhos com infecção corneal experimental por *Pseudomonas aeruginosa* no 1º, 3º e 8º dia do experimento.

I			II			III			IV			V			
1º	3º	8º	1º	3º	8º	1º	3º	8º	1º	3º	8º	1º	3º	8º	
0	0	—	0	1	—	0	3	—	0	0	0	0	0	—	
0	0	0	0	2	—	0	0	3	0	0	0	0	0	—	
0	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0	0	0	0	—	
0	0	0	0	0	1	0	2	—	0	0	0	0	0	—	
0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	—	
0	0	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	—	
0	0	—	0	1	1	0	1	—	0	0	1	0	0	—	
0	0	0	0	0	2	0	1	—	0	0	0	0	0	—	
0	0	0	0	1	—	0	1	—	0	0	0	0	0	—	
0	0	0				0	2	—	0	0	0	0	0	—	
Média	0,0	0,0	0,2	0,0	0,5	1,0	0,0	1,0	2,5	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	—

(—) Morte do coelho; I = Diclofenaco + Gentamicina; II = Veículo da Associação Diclofenaco + Gentamicina; III = Diclofenaco; IV = Gentamicina; V = BSS; Teste de Variância de Kruskal-Wallis $H = 9,4$ ($P = 0,05$)

cores para os infiltrados e abscessos corneais maiores no terceiro (grupo 5) ou oitavo (demais grupos) dias em relação ao primeiro (Tabelas 5 e 6). Foram verificados resultados semelhantes aos de ASSIL et al. (1991)², que relataram marcados infiltrados e necrose estromal da córnea, sem óbvia diferença clínica entre os animais tratados e não tratados, no final de seu experimento.

Quanto à presença de hipópio, só foi detectado no oitavo dia e não houve diferença quanto a sua intensidade entre os grupos. Estes resultados discordam dos de HYNDIUK et al. (1983)⁸, que encontraram hipópio em todos os olhos de coelhos após 48 horas de inoculação por *Pseudomonas aeruginosa*. POLACK (1992)¹⁵ também refere aparecimento de hipópio proeminente e precoce, nos casos de úlcera de córnea causadas por este microrganismo.

NASSARALLA et al. (1995)¹⁴ relataram que o diclofenaco sódico 0,1% pode proporcionar efeitos benéficos na inflamação e cicatrização corneal, após fotoablação com excimer laser. Assim, supunha-se que o uso do referido antiinflamatório pudesse melhorar a evolução da ceratite por *Pseudomonas aeruginosa*, em relação aos casos não tratados com a referida droga. O tamanho da amostra deve ter sido mui-

to pequeno para detectar diferença significante entre o grupo que usou a associação do diclofenaco sódico 0,1%, mais sulfato de gentamicina 0,3% e o grupo que usou somente sulfato de gentamicina 0,3%.

Nesta investigação, o número de microrganismos isolados da córnea e conjuntiva, ao final do tratamento com as diferentes drogas utilizadas, não foi diferente. GRITZ et al. (1992)⁶ relataram que o risco de recorrência de ceratite por *Pseudomonas*, após a interrupção do antibiótico, é bem menor se agentes antiinflamatórios não esteróides, ao invés de esteróides, forem usados associados à antibioticoterapia.

A variação observada nos resultados da contagem das CFU das córneas foi bastante alta, tanto no terceiro como no oitavo dias de tratamento, mesmo para os grupos em que foi empregada antibioticoterapia. Segundo PRIMBS, SAND, STRAATSMA (1961)¹⁶, a infecção corneal produzida por injeção intraestromal é difícil de ser controlada precisamente e variações na técnica podem influenciar a intensidade da infecção produzida experimentalmente.

A terapia antiinflamatória não esteróide na presente investigação, não mostrou efeito adicional benéfico à ação da gentamicina, no sentido de diminuir

a reação inflamatória da conjuntiva e córnea, quando comparada ao grupo que foi tratado somente com sulfato de gentamicina 0,3% (Tabelas de 2 a 6). Estes resultados estão em concordância com estudos realizados por BOHIGIAN & FOSTER (1977)⁴ que, embora tenham utilizado associação de um antiinflamatório esteróide (dexametasona), mais gentamicina 0,3% para tratar ceratite por *Pseudomonas* em coelhos, concluíram que a associação do esteróide à gentamicina não alterou significantemente o curso da ceratite, tanto por avaliação microbiológica quanto clínica. Não encontraram correlação entre a severidade da ceratite e o número de microrganismos isolados no período do tratamento, bem como conseguiram isolar *Pseudomonas* mesmo em olhos clinicamente curados após uma semana de terapia.

Estudos mais prolongados são necessários para determinar se o uso da associação de antiinflamatório não esteróide, mais antibióticos é capaz de atenuar a cicatrização da córnea e promover melhores resultados visuais em pacientes com úlcera corneal por *Pseudomonas aeruginosa*.

SUMMARY

Purpose: Comparing the effect of the combination of sodium diclofenac-gentamicin sulfate to 0.3% gentamicin alone and diclofenac alone in an animal model of *Pseudomonas* keratitis.

Methods: Sixty rabbits were randomized into six masked groups of 10 rabbits. Animals were randomly assigned to one of the six coded treatment groups as follow: Group I (0.1% sodium diclofenac - 0.3% gentamicin sulfate); Group II (vehicle of 0.1% sodium diclofenac 0.1% - 0.3% gentamicin sulfate); Group III (0.1% sodium diclofenac); Group IV (0.3% gentamicin sulfate); Group V (BSS); Group VI (was

sacrificed to establish the baseline of bacterial corneal growth). Drugs were administered hourly in the first day, and seven times a day for the next six days. Conjunctival swabs and clinical evaluations were performed before infection and on days 1, 3 and 8. Rabbits were sacrificed 8 days after infection, and the number of bacteria was quantified.

Results: The number of rabbits with descemetocèle at day 3 was highest in groups V and III, with statistically significant difference between them. None of the animals in the gentamicin group needed to be sacrificed. By days 3 and 8, conjunctival and corneal clinical signs in all groups were similar. Groups I and IV had the lowest scores and groups II and III had the highest scores, but there was no significant difference among them. There was no significant difference between the number of colonies of *Pseudomonas* counted from specimens of conjunctiva and cornea during the experiment.

Conclusion: 0.1% sodium diclofenac therapy does not adversely affect the

results of antibiotic therapy with 0.3% gentamicin sulfate in the treatment of experimental *Pseudomonas* keratitis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBOTT, R. L. & ABRAMS, M. A. - Bacterial corneal ulcers. In: TASMAN, W & JAEGER, E. A. *Duane's clinical ophthalmology*. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1992. p.1-34.
2. ASSIL, K. K.; FRUCHT-PERRY, J.; ZIEGLER, E.; SCHANZLIN, D. J.; SCHNEIDERMAN, T.; WEINREB, R. N. - Tobramycin liposomes: single subconjunctival therapy of *Pseudomonas* keratitis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **32**: 3216-20, 1991.
3. ASSIL, K. K.; ZARNEGAR, S. R.; FOURAKER, B. D.; SCHANZLIN, D. J. - Efficacy of tobramycin-soaked collagen shields vs tobramycin eyedrop loading dose for sustained treatment of experimental *Pseudomonas aeruginosa*-induced keratitis in rabbits. *Am. J. Ophthalmol.*, **113**: 418-23, 1992.
4. BOHIGIAN, G. M. & FOSTER, C. S. - Treatment of *Pseudomonas* keratitis in the rabbit with antibiotic-steroid combinations. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **16**: 553-6, 1977.
5. DAVIS, S. D. & CHAMDLER, J. W. - Experimental keratitis due to *Pseudomonas aeruginosa*: model for evaluation of antimicrobial drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **8**: 350-5, 1975
6. GRITZ, D. C.; KWITKO, S.; TROUSDALE, M. D.; GONZALEZ, V. H.; McDONNELL, P. J. - Recurrence of microbial keratitis concomitant with antiinflammatory treatment in an animal model. *Cornea*, **11**: 404-8, 1992.
7. HYNDIUK, R. A. - Experimental *Pseudomonas* keratitis. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.*, **79**: 541-624, 1981.
8. HYNDIUK, R. A.; DAVIS, S. D.; HATCHELL, D. L.; BURD, E. M. - Experimental *Pseudomonas* keratitis: clinical and pathological observations. *Cornea*, **2**: 103-14, 1983.
9. HYNDIUK, R. A.; SKORICH, D. N.; DAVIS, S. D.; SARFF, L. D.; DIVINE, K.; BURD, E. - Fortified antibiotic ointment in bacterial keratitis. *Am. J. Ophthalmol.*, **105**: 239- 43, 1988.
10. KANTOR, T. G. - Current modalities in arthritic diseases. *Am. J. Med.*, **83**(suppl. 4B): 2-5, 1987.
11. LAIBSON, P.; MICHAUD, R.; SMOLIN, G.; OKUMOTO, M.; ROSENTHAL, A.; CAGLE, G. - A clinical comparison of tobramycin and gentamicin sulfate in the treatment of ocular infections. *Am. J. Ophthalmol.*, **92**: 836-41, 1981.
12. LIMA, A. L. H.; GUIDUGLI, T.; ALMADA, A. T.; BELFORT Jr., R.; FERRARI, J. A. - Avaliação in vitro da atividade da tobramicina em infecções oculares. *Rev. Bras. Oftalmol.*, **44** (suppl. 4): 141-5, 1985.
13. McDONALD, T. O. & SHADDUCK, J. A. - Eye irritation. In: MARZULLI, F. N. & MAIBACH, H. I. ed - *Advances modern toxicology*. New York, Wiley, 1977. p. 139.
14. NASSARALLA, B. A.; SZERENYI, K.; WANG, X. W.; REAVES, T. A.; McDONNELL, P. J. - Effect of diclofenac on corneal haze after photorefractive keratectomy in rabbits. *Ophthalmology*, **102**: 469-74, 1995.
15. POLACK, F. M. - Ceratite bacteriana. In: *Enfermedades oculares externas*. Barcelona, Ediciones Scriba, 1992. p.130.
16. PRIMBS, G. B.; SAND, B. J.; STRAATSMA, B. R. - Observations on experimental corneal ulcers. *Arch. Ophthalmol.*, **66**: 564-9, 1961.
17. SANTOS, P. M.; NISHI, M.; GÜNTZEL; LIMA, A. L. H. - Princípios básicos do diagnóstico das infecções oculares. In: LIMA, A. L. H.; MELAMED, J.; CALIXTO, N. ed - *Terapêutica clínica ocular*. São Paulo, Roca, 1995. p. 331-51

MAIO/98

03 a 06 - XI Congresso Norte-Nordeste de Oftalmologia

Centro de Convenções de Fortaleza - CE

Informações: Fone/fax (085) 254-7700

04 a 06 - Simpósio Internacional de Ultra-som e Radiodiagnóstico em Oftalmologia

São Paulo - SP

Informações: C. E. O. Moacyr Álvaro - Fone/fax: (011) 575-4243