



PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA



ANÁLISE DO EFEITO BIOCIDA DAS SOLUÇÕES MULTIUSO NOS
ESTOJOS DE ARMAZENAMENTO DE LENTES DE CONTATO
GELATINOSAS

FABIANO BRANDÃO MELQUIADES DE ARAÚJO

JOÃO PESSOA - PB

2020



PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA



**ANÁLISE DO EFEITO BIOCIDA DAS SOLUÇÕES MULTIUSO NOS
ESTOJOS DE ARMAZENAMENTO DE LENTES DE CONTATO
GELATINOSAS**

FABIANO BRANDÃO MELQUIADES DE ARAÚJO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Celular e Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes

JOÃO PESSOA - PB

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A663a Araújo, Fabiano Brandão Melquiades de.
ANÁLISE DO EFEITO BIOCIDA DAS SOLUÇÕES MULTIUSO NOS
ESTOJOS DE ARMAZENAMENTO DE LENTES DE CONTATO
GELATINOSAS / Fabiano Brandão Melquiades de Araújo. -
João Pessoa, 2020.
46 f. : il.

Orientação: ULRICH VASCONCELOS DA ROCHA GOMES.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. BIOFILMES, LENTES DE CONTATO, SOLUÇÕES MULTIUSO. I.
GOMES, ULRICH VASCONCELOS DA ROCHA. II. Título.

UFPB/BC



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR



Ata da Sessão Pública para avaliar o Trabalho de Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Mestrando **Fabiano Brandão Melquíades de Araújo**, submetido para obtenção do grau de Mestre em Biologia Molecular – Área de Concentração em Biologia Celular e Molecular.

Aos vinte e nove do mês fevereiro do ano de dois mil e vinte, às nove horas e trinta minutos, na sala 10 do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba – Campus I, em João Pessoa-PB, reuniram-se em cerimônia pública, os membros da banca examinadora, composta pelos Professores Doutores: **Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes (Orientador/Presidente)**, **Ian Porto Gurgel do Amaral (examinador externo)**, **Elisangela Afonso de Moura Kretzschmar (Examinador interno)** a fim de examinarem o candidato **Fabiano Brandão Melquíades de Araújo** ao grau de Mestre em Biologia Celular e Molecular, área de concentração em Biologia Celular e Molecular. Além dos examinadores e do examinado, compareceram, também, representantes do corpo discente. Iniciando a sessão, o Professor Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes, na qualidade de Presidente da banca, comunicou aos presentes qual o fim da reunião e os procedimentos de encaminhamentos da mesma. A seguir, concedeu a palavra ao candidato para que o mesmo fizesse, oralmente, a exposição do trabalho intitulado “**Análise do efeito biocida das soluções multiuso nos estojos de armazenamento de lentes de contato gelatinosas**”. Concluída a exposição, o Senhor Presidente solicitou que fosse feita a arguição por cada um dos examinadores. Após o candidato ser arguido por cada membro examinador, lhe foi concedido a palavra para que respondesse e esclarecesse as questões levantadas. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora passou a proceder a avaliação e julgamento do mestrando. Em seguida, o Senhor Presidente declarou que a Banca Examinadora considerou, segundo o artigo 65 do Regulamento Geral dos Programas de Pós-Graduação Stricto Sensu da Universidade Federal da Paraíba, **APROVADO** a dissertação apresentada e defendida pelo mestrando **Fabiano Brandão Melquíades de Araújo** concedendo-lhe, assim, o grau de Mestre em Biologia Celular e Molecular, área de concentração em Biologia Celular Molecular. Logo após a avaliação da comissão julgadora, o orientador preencherá um formulário, juntamente com o relatório final de dissertação de mestrado, a fim de que o mesmo seja homologado pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. E, para constar, eu, Regina Emy Sales de Miranda, secretária da reunião, lavrei a presente ata, que assino junto com os membros da banca examinadora. João Pessoa, 29 de fevereiro de 2020.

Regina Emy Sales de Miranda
Secretária

Professor Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes
Presidente

Professora Dra. Elisangela Afonso de Moura Kretzschmar
Membro titular Interno

Prof. Dr. Ian Porto Gurgel do Amaral
Membro Titular Externo

Assinatura do Mestrando:

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho de investigação científica aos meus pais, Normando Melquíades de Araújo e Sônia Maria Brandão Melquíades de Araújo, que sempre foram minha maior fonte de inspiração e exemplo de respeito, caráter, ética e honestidade.

Sem eles essa apaixonante jornada chamada vida não seria tão exitosa e gratificante.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela certeza da Sua proteção durante toda minha vida.

Ao meu filho Lucas de Toledo Brandão pelo tempo roubado nas horas dedicadas ao trabalho.

A minha esposa Janine Rolim Machado Brandão pela paciência e compreensão.

Aos meus irmãos, Rodrigo e Marina, pela união e apoio em todas as batalhas.

Ao meu orientador Ulrich Vasconcelos pelos ensinamentos e amizade.

Aos pacientes voluntários que participaram do ensaio clínico.

A Clínica Oftalmo Premium e suas colaboradoras

Ao Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMA) e seus integrantes pela ajuda nos estudos laboratoriais.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular (PPGBCM) pela oportunidade que me foi concedida para evoluir cientificamente.

Aos amigos e colegas do PPGBCM.

E a Universidade Federal da Paraíba por, mais uma vez, ser pilar fundamental para minha formação profissional.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	09
Lista de Tabelas	10
Resumo	11
Abstract	12
1. Introdução	13
2. Objetivos	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos	15
3. Referencial teórico	16
3.1. O olho humano	16
3.2. Biofilmes	17
3.3. Lentes de contato gelatinosas	18
3.4. Soluções multiuso de desinfecção	19
4. Material e Métodos	20
4.1. Comitê de ética	20
4.2. Local de desenvolvimento da pesquisa	20
4.3. Soluções multiuso	20
4.4. Ensaio <i>in vitro</i>	21
4.4.1. Efeito do ultrassom sobre a adesão microbiana e maturação biofilme	22
4.4.2. Critérios de interpretação	22
4.5. Ensaio <i>in vivo</i>	22
4.5.1. Seleção dos pacientes	23
4.5.2. Exames oftalmológicos	23
4.5.2.1. Altura do menisco lacrimal	24
4.5.2.2. Grau de hiperemia da superfície ocular	25
4.5.2.3. NIKBUT (<i>No Invasive Keratograph Break Up Time</i>)	25
4.5.2.4. Teste de Schirmer	25
4.6. Avaliação da formação de biofilme nos estojos de armazenamento das lentes de contato	26
4.7. Análise estatística	26
5. Resultados	27
5.1. Ensaio <i>in vitro</i>	27
5.2. Ensaio <i>in vivo</i>	28
5.3. Avaliação da função lacrimal	30
6. Discussão	31
7. Conclusões	37
Referências	38
APÊNDICE A	44
APÊNDICE B	45
APÊNDICE C	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Anatomia do globo ocular humano	16
Figura 2	Processo de formação do biofilme	18
Figura 3	Keratograph® durante exame da superfície ocular de um paciente	24
Figura 4	Teste da altura do menisco lacrimal no Keratograph®. Os marcos em forma de letra H na parte inferior indicam as leituras do menisco lacrimal	24
Figura 5	Teste do grau de hiperemia no Keratograph®	25
Figura 6	Teste de Schirmer	26
Figura 7	Média da formação de biofilme nos estojos para lentes de contato após 7 dias de uso pelos pacientes (média harmônica = 27,697)	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Inibição da adesão do patógeno ocular em 48h	27
Tabela 2	Média da densidade óptica após 7 dias de uso das lentes de contato*	29
Tabela 3	Média da formação de biofilme nos estojos para lentes de contato após 7 dias de uso pelos pacientes (média harmônica = 27,697)	30

Araújo, F. B. M. Análise do efeito das soluções multiuso nos estojos de armazenamento de lentes de contato gelatinosas. João Pessoa, 2020 – Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal da Paraíba, 2020.

RESUMO

Alguns microrganismos da superfície ocular, residentes ou patógenos, podem permanecer viáveis na presença das soluções multiuso usadas para desinfecção de lentes de contato, desenvolvendo, posteriormente, biofilmes nos estojos de armazenamento das lentes e representando risco de infecções para os usuários. Este estudo avaliou a ação biocida de três marcas comerciais de soluções multiuso (SM) utilizadas no Nordeste do Brasil e a formação de biofilmes em estojos de armazenamento de lentes de contato gelatinosas. Para a verificação da formação do biofilme utilizou-se o teste do cristal violeta. Os ensaios *in vitro*, para análise do efeito biocida das soluções multiuso, avaliaram a exposição por 48h de *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416 e *Staphylococcus aureus* UFPEDA 02 às três SM, como também a ação de ultrassom a 40 KHz no início e após 24h de imersão nas SM. Posteriormente, ensaios *in vivo* avaliaram a formação de biofilmes microbianos nas paredes dos estojos de armazenamento, contendo lentes de contato gelatinosas (LCG) de silicone-hidrogel imersas em soluções multiuso, de 15 pacientes voluntários sadios que as usaram LCG durante sete dias. Também foram realizados exames para avaliação clínica da função e produção lacrimal em todos os voluntários. Em mais de um terço dos ensaios o biofilme não foi inibido, tão pouco perturbado, especialmente nos tratamentos com ultrassom. Nos testes *in vivo*, as médias obtidas das densidades ópticas a 590nm foram entre 0.6-0.8. Os resultados foram similares entre os poços direito e esquerdo dos estojos de armazenamento das LCG. Houve correlação entre a formação de biofilme microbiano e o tipo de SM testada, com diferença estatística entre os três tratamentos. Nos ensaios *in vitro* os biofilmes foram inibidos entre 26-98%, com diferença estatisticamente significativa apenas com *P. aeruginosa* UFPEDA 416 quando exposta às SM diluídas. Adicionalmente, células aderentes foram detectadas em mais de 90% dos testes. A avaliação da função e produção lacrimal não demonstrou alterações significativas. Embora as SM tenham promovido uma inibição parcial da formação dos biofilmes microbianos nos ensaios *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chaves: Biofilmes, Lentes de Contato gelatinosas, Soluções multiuso.

Araújo, F. B. M. Evaluation of biocide action of Multi-Purpose Disinfection Solutions in contact lens storage cases. João Pessoa, 2020 – Thesis (Molecular and Cellular Biology) – Paraíba Federal University, 2020.

ABSTRACT

Certain ocular resident or pathogenic microbes may remain viable in the presence of multi-purpose disinfectant solutions (MPDS), subsequently developing biofilms inside contact lens storage cases (CLSC) which pose a risk of infection to wearers. This study evaluated the formation of ocular microbiota biofilms exposed to three top selling MPDS. To this, crystal violet assay was carried out for the verification of biofilm formation. The *in vitro* assays evaluated *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416 and *Staphylococcus aureus* UFPEDA 02 exposure of 48h to MPDS, as well as the use of 40 KHz ultrasound at the beginning and with 24h immersion in the MPDS. Subsequently, *in vivo* assays evaluated the formation of microbial biofilms on the CLSC walls containing silicone-hydrogel contact lenses immersed in MPDS from 15 healthy volunteer patients, who had been wearing the lenses for 7 days. Tests for clinical evaluation of function and tear production were also performed in all volunteers. Biofilms were inhibited by 26-98% in the *in vitro* assays, with a statistically significant difference only for *P. aeruginosa* UFPEDA 416 exposed to diluted MPDS. Most inhibitions occurred moderately and weakly. Additionally, adherent cells were detected in more than 90% of the tests. Biofilm was not inhibited in more than one third of the results, nor was it disturbed, especially with the ultrasound treatments. The average of obtained optical densities at 590 nm were between 0.6-0.8 in the *in vivo* assays. Results were similar between the CLSC right and left wells. There was a correlation between microbial biofilm formation and the type of MPDS tested, with statistical difference between the three treatments. The evaluation of function and tear production showed no changes and there was no relationship with the formation of biofilms. MPDS promoted a partial inhibition of microbial biofilm formation but only one MPDS proved to be more effective *in vitro* and *in vivo*. This study, however, could not distinguish the effect of possible errors in the good hygiene practices of the users.

Key-words: Biofilms, Soft contact lens, Multipurpose disinfection solutions

1 – INTRODUÇÃO

Este trabalho disserta sobre um estudo comparativo, *in vitro* e *in vivo*, entre três soluções multiuso usadas para desinfecção de lentes de contato e seu efeito biocida na prevenção da formação de biofilmes nos estojos de armazenamento de lentes de contato gelatinosas (LCG). Paralelamente, foram estudadas algumas variáveis que analisam a produção e função lacrimal para identificar possíveis alterações oculares secundárias ao uso de LCG.

As lentes de contato gelatinosas (LCG) são órteses oftalmológicas utilizadas amplamente em indivíduos amétropes e proporcionam melhor acuidade visual em portadores de miopia, hipermetropia, astigmatismo e presbiopia. Ademais, oferecem a praticidade, segurança e o benefício estético da substituição dos óculos em atividades cotidianas, tais como práticas de esportes e vida social. Em complemento, LCG podem ser utilizadas com função terapêutica para proteger a superfície corneal (MORISON, 2019; WU et al., 2010a).

Nas últimas cinco décadas, o uso de lentes de contato aumentou significativamente na população mundial (CAVANAGH et al., 2010). As primeiras lentes de contato eram de material rígido e causavam grande desconforto aos usuários durante o processo de adaptação e uso diário. Contudo, a evolução dos materiais utilizados na confecção das LCG difundiu a comercialização de lentes de contato de silicone-hidrogel que são altamente confortáveis e de fácil manutenção, limpeza e adaptação. Cerca de 50-75% das LCG prescritas no mundo são de silicone-hidrogel (LEMP e KERN, 2013). Outro benefício associado é o fato de ser um produto descartável após 30 dias de uso, fator que contribui diretamente para a prevenção de complicações infecciosas relacionadas ao uso prolongado (STAPLETON e TAN, 2017).

A superfície ocular não é um ambiente estéril. A microbiota conjuntival residente auxilia a manutenção da integridade e homeostase da superfície ocular e varia de acordo com idade e o sexo (WILLCOX, 2013). Todavia, o uso de LCG pode alterar a microbiota da superfície ocular e permitir o aumento do risco de infecções (XIOFENG et al., 2017; SHIN et al., 2016).

Paralelamente à evolução das lentes de contato, o delineamento de novas formulações garantiu a praticidade das soluções multiuso para limpeza e desinfecção, empregadas para higiene, manutenção e armazenamento das LCG (KACKAR et al., 2017). Contudo, a manipulação inadequada e hábitos incorretos de higiene por parte dos usuários, tais como dormir com as LCG, podem favorecer a contaminação e colonização das mesmas e dos seus

respectivos estojos de armazenamento (WU et al., 2010b). Ambos são importantes fômites de patógenos relacionados às infecções oculares em usuário de LCG (SZCZOTKA-FLYNN et al., 2010, WILLCOX et al., 2010, MacLAUGHLIN et al., 1998, DONDIZ et al., 1987, LARKIN et al., 1990).

As soluções multiuso (SM) são formuladas de forma a garantir limpeza e lubrificação (LEMP e KERN, 2013) e alguns de seus componentes são eficientes na redução de proteínas e sorção de lipídeos (TAM et al., 2014). As substâncias ativas que compõem as SM devem apresentar propriedades antimicrobianas que possam garantir a segurança do produto, em especial frente aos dois mais frequentes patógenos associados às infecções oculares: *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Os fabricantes recomendam um contato mínimo de 6 horas com os agentes ativos das SM para que a viabilidade celular seja afetada (BUDIMAN et al., 2017), isto é, perturbar a capacidade microbiana de levar a cabo a função celular necessária para sua manutenção em condições normais de vida (BREEUER e ABEE, 2000).

P. aeruginosa e *S. aureus* exibem diversos fatores de virulência e, em especial, destaca-se a capacidade de organização em biofilmes (ARTINI et al., 2015). Aderidos às superfícies das lentes de contato ou nas paredes dos estojos de armazenamento, os biofilmes aumentam de 10 a 1000 vezes a resistência aos agentes antimicrobianos (JOYCE et al., 2014). Assim, os pontos críticos referentes aos cuidados durante o uso de LCG incluem uso criterioso, medidas de higiene e fatores climáticos (KOBIA-ACQUAH et al., 2019).

Embora a atividade antimicrobiana das soluções multiuso seja algo esperado e desejado por oftalmologistas e usuários de lentes de contato (WALTHER et al., 2019) a eficácia destes produtos não é um consenso absoluto na comunidade científica e, por vezes, até questionada (XIN-HUI, 2017; HINOJOSA, 2017; KIM, 2017).

2 - OBJETIVOS

2.1-OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito biocida de três soluções multiuso de desinfecção de lentes de contato gelatinosas (LCG) na prevenção da formação de biofilmes nos estojos de armazenamento das LCG.

2.2-OBJETIVOS ESPECÍFICOS

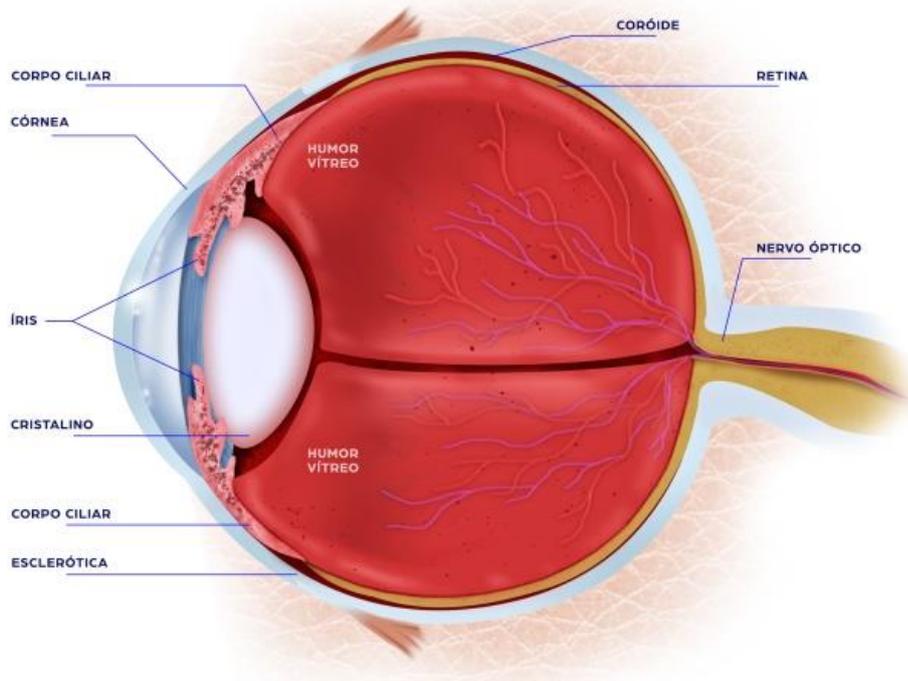
- Avaliar, *in vitro*, a inibição da formação de biofilmes empregando microrganismos padrão;
- Verificar e quantificar a formação de biofilmes microbianos nos estojos de armazenamento das LCG;
- Analisar a função e produção lagrimal dos pacientes voluntários que participaram do estudo clínico.

3 - REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. O olho humano

O globo ocular humano é didaticamente dividido em dois segmentos: anterior e posterior (Figura 1). O segmento anterior do globo ocular é representado por todas as estruturas anatômicas situadas anteriormente ao humor vítreo: cristalino, íris, pupila, câmara anterior, esclera, córnea, conjuntiva, filme lacrimal e pálpebras. As quatro últimas estruturas citadas constituem a superfície ocular, uma unidade de fisiológica de fundamental importância para o olho humano.

Figura 1 – Anatomia do globo ocular humano.



Fonte: autor (2020)

A superfície ocular é composta pela córnea, conjuntiva, filme lacrimal e pálpebras é o local utilizado para proceder à adaptação das lentes de contato, as quais estão em contato direto com essas estruturas anatômicas em um ambiente não estéril. Na superfície ocular humana identifica-se uma microbiota típica, a qual em determinadas circunstâncias pode estar associada às infecções oculares. Fatores externos como idade e sexo podem ter uma forte

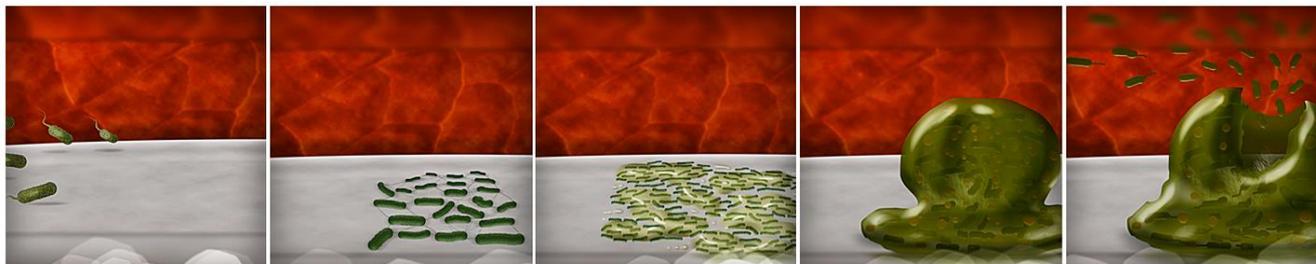
influência na caracterização da biota da superfície ocular (XIOFENG et al, 2017). O microbioma ocular é de extrema importância para manutenção da integridade da superfície ocular, varia de acordo com idade e sexo e apresenta uma homeostase que ainda é pouco conhecida (WILLCOX, 2013). O uso de lentes de contato pode alterar esse microbioma e aumentar o risco de infecções em usuários de lentes de contato (SHIN et al, 2016).

O filme lacrimal humano, além de outras funções, é uma ferramenta natural de proteção e defesa do olho. É formado por três camadas denominadas mucina, camada aquosa e camada lipídica. Em sua composição existem diversas substâncias, tais como imunoglobulinas e lisozima, além de outros componentes que conferem as características fisiológicas da película lacrimal do olho humano. Atualmente, o filme lacrimal pode ser analisado, quantitativa e qualitativamente, por meio de testes específicos (OCULUS, 2017), descritos mais adiante na sessão 5.5.2 desta dissertação.

3.2. Biofilmes

Biofilmes são comunidades de microrganismos e representam a principal forma de vida desses seres vivos. Acredita-se que existem duas formas de vida microbiana: livre (planctônica) e sésil (biofilmes). Os biofilmes representam uma complexa forma de organização da vida dos microrganismos. De acordo com o número de espécies que se organizam em um biofilme, podem ser classificados como axênicos, quando formados por uma única espécie e mistos, quando são compostos por duas ou mais, incluindo grupos distintos como fungos e bactérias num mesmo microambiente (COSTERTON; GEESEY; CHENG, 1978).

Para a formação do biofilme é necessário que o microrganismo planctônico consiga aderir-se à uma superfície na presença de um meio fluido. Após a adesão o processo continua com a colonização, maturação e desprendimento, propagando o ciclo que perpetua a proliferação microbiana (Figura 2) (COSTERTON; WILSON, 2004).

Figura 2 – Processo de formação do biofilme

Da esquerda para direita: células planctônicas migram pelo fluido até a superfície e iniciam o processo de adesão irreversível, seguido da colonização, maturação do biofilme e desprendimento, quando o microambiente está saturado de células e metabólitos. Fonte: autor (2020)

3.3. Lentes de contato gelatinosas

As lentes de contato gelatinosas (LCG) são adaptadas há aproximadamente 50 anos (CAVANAGH, 2010). São produtos muito utilizados nas clínicas oftalmológicas, proporcionam excelente visão e melhoram a qualidade visual dos pacientes. Sua principal função é refrativa, ou seja, corrigir a miopia, hipermetropia, astigmatismo e presbiopia. Além disso, também são usadas com função estética e como protetoras da superfície corneal (CORAL-GHANEM e OLIVEIRA, 2015).

As primeiras lentes de contato disponíveis para uso humano eram de uso prolongado e fabricadas em material rígido, causando desconforto na adaptação e uso, além de apresentarem dificuldades para limpeza e manutenção. Com a evolução dos materiais utilizados para confecção das lentes, dispomos, atualmente, de lentes de contato gelatinosas (LCG) altamente confortáveis e descartáveis, fatores esses que facilitam a adaptação e uso diário. Atualmente, o polímero de silicone-hidrogel é o material mais usado para fabricação de LCG (CORAL-GHANEM e OLIVEIRA, 2015).

As LCG são as mais adaptadas por oferecerem uma excelente acuidade visual, associada ao conforto e à praticidade na manutenção, limpeza e manipulação (STAPLETON, TAN, 2017). Elas podem ser classificadas como: esféricas, corrigindo a miopia ou hipermetropia; tóricas, utilizadas na correção do astigmatismo, associado ou não a hipermetropia ou miopia e multifocais para correção da miopia ou hipermetropia associada à presbiopia. Apresentam um desenho simples e são de fácil adaptação e manuseio. Além disso, são descartáveis após 30 dias de uso o que representa um importante fator para prevenção de complicações infecciosas relacionadas ao uso prolongado.

A conservação das LCG é realizada em estojos preenchidos com soluções multiuso de desinfecção. A manipulação inadequada pode facilitar a contaminação e colonização das lentes e estojos de armazenamento (WU et al, 2010b). Ademais, a superfície ocular não é um ambiente estéril e microrganismos conjuntivais podem aderir-se e colonizar as lentes de contato e seus recipientes de armazenagem.

3.4 – Soluções multiuso de desinfecção

O surgimento de soluções multiuso (SM) facilitou muito a manutenção das lentes de contato gelatinosas (LCG). Estas soluções são utilizadas para desinfecção e limpeza e também servem como meio para manutenção das LCG nos seus respectivos estojos de armazenamento. A susceptibilidade dos biofilmes as soluções multiuso está descrita na literatura (KACKAR, 2017), porém a eficácia dessas substâncias não é absoluta (XIN-HUI, 2017; HINOJOSA, 2017; KIM 2017).

As soluções multiuso são formuladas de forma a garantir limpeza e lubrificação (TAN et al., 2014; LEMP e KERN, 2013). As substâncias ativas que compõem as SM devem apresentar propriedades antimicrobianas que possam garantir a segurança do produto. Os fabricantes recomendam um contato mínimo de 6 horas com a SM para que a viabilidade celular seja afetada (BUDIMAN et al., 2017; BREEUER e ABEE, 2000). Têm por função desinfetar as lentes e estojos para que o usuário possa ter a segurança diária de que está adaptando nos seus olhos um produto limpo e apto para uso ocular (KACKAR; SUMAN; KOTIAN, 2017).

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Comitê de ética

O projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba e devidamente aprovado (APÊNDICE A). Todos os pacientes receberam esclarecimentos detalhados sobre a participação no estudo e assinaram um termo de consentimento informado de adesão à pesquisa autorizando a utilização dos dados obtidos no projeto de investigação.

4.2. Local de desenvolvimento da pesquisa

O ensaio clínico com pacientes foi desenvolvido na clínica oftalmológica OFTALMO PREMIUM situada na Avenida Professora Maria Sales, 700 – Tambaú, João Pessoa e as análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMA) do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba.

4.3. Soluções multiuso

As soluções multiuso utilizadas foram codificadas como SM-A, SM-B e SM-C. A composição e função de cada ingrediente (CIR, 2019) são apresentadas, a saber: SM-A: ácido bórico (conservante), aminometilpropanol (emulsificante), edetato dissódico (quelante), poliquaternário 1 0,001% (conservante) e miristaminodopropil dimetilamina 0,0006% (conservante); SM-B: ácido bórico 0,03% (conservante), edetato dissódico (quelante), poloxamina 1% (tensoativo), borato de sódio (conservante) e poliaminopropil biguanida 0,0001% (degermante/conservante); SM-C: hialuronato de sódio (lubrificante), sulfobetaína (tensoativo), poliaminopropil biguanida 0,00013% (degermante/conservante), edetato dissódico (quelante) e poliquaternário 0,0001% (tensoativo).

4.4. Ensaios *in vitro*

Foram avaliadas as três soluções multiuso mais comercializadas no Nordeste do Brasil (SNNO, 2019) quanto sua eficácia na inibição da formação de biofilmes nos estojos de armazenamento de lentes de contato gelatinosas. Todos os estojos foram previamente esterilizados em óxido de etileno e enviados ao LAMA para realização dos testes.

Foram utilizadas duas linhagens padrão, dos microrganismos patógenos oculares mais importantes: *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA416 e *Staphylococcus aureus* UFPEDA02. Para o estudo do biofilme foi empregado o teste do cristal violeta, com pequenas adaptações ao método descrito por Khare e Arora (2011). Tubos de microdiluição de poliestireno com capacidade para 1,5 mL foram preenchidos com 800 µL de caldo nutriente, 100 µL da solução multiuso (SM) e 100 µL das suspensões das linhagens padrão, *P. aeruginosa* UFPEDA 416 ou *S. aureus* UFPEDA 02, ambas preparadas com solução fisiológica a 0,85%, a partir de cultivo recente, cuja turbidez foi padronizada com o tubo nº 1 da escala de MacFarland. Para fins de comparação, as linhagens também foram inoculadas em SM 100%.

Os microtubos foram incubados estaticamente à 37°C por um período de 48h. Em seguida, o caldo era descartado e as paredes lavadas de 3-5 vezes com água destilada, com o intuito de remover qualquer célula planctônica depositada. Os tubos foram deixados para secar à temperatura ambiente por 1h. Após, transferiu-se 1,5 ml da solução de cristal violeta 1% (Newprov, Pinhais-PR, Brasil) e 20 minutos mais tarde, o corante foi descartado. O excesso do cristal violeta foi removido com água destilada, esperando-se mais uma hora de secagem à temperatura ambiente. Em seguida, transferiu-se 1,5 ml de etanol 95% (Química Moderna, Barueri- SP, Brasil) e, após repouso de 30 minutos, a densidade óptica da solução de cristal violeta-etanol foi determinada à 590 nm (Shimadzu, UV-1601-1601 PC). O controle do teste foi realizado com as linhagens inoculadas em caldo nutriente. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.4.1. Efeito do ultrassom sobre a adesão microbiana e maturação do biofilme

Foi aplicado ultrassom de 40 Khz (RM Techno Brasil, CD-3800) durante 10 minutos em duas condições: amostras no início do teste e amostras 24h após incubação à 37°C. Os microtubos foram incubados por 48h à mesma temperatura e o protocolo para determinação do percentual de inibição de adesão das células ao substrato condicionante foi conduzido pelo teste do cristal violeta.

4.4.2. Critérios de interpretação

O percentual de inibição da adesão foi calculado pela fórmula:

$$[(ODC - ODT) \div ODC] \times 100$$

Em que ODC é a média da densidade óptica do controle em caldo nutriente e ODT é a média da densidade óptica do tratamento com as SM (Pagano et al., 2004). Assumimos que, quando os valores da ODT passavam de 3ODC, indicaram presença de células aderentes (PEIXOTO et al., 2015). Neste estudo a média do *cutoff* foi da leitura da OD₅₉₀ > 0,186. A classificação da inibição da formação de biofilme seguiu os critérios propostos por Rodrigues et al. (2010), considerando como fraca se <40%; moderada, quando ≥40 e ≤80%; e forte se >80%. O percentual de inibição igual a zero indica que os valores da média de ODT eram maiores que ODC.

4.5. Ensaios *in vivo*

Quinze pacientes voluntários e sadios foram distribuídos em três grupos. Cada paciente em cada grupo recebeu um kit contendo uma lente de contato gelatinosa (LCG) (Acuvue® Oasys®, Johnson & Johnson), um estojo esterilizado de poliestireno com tampa indicadora de lados (Pack lens, Baueri, Brasil) e uma solução multiuso escolhida de forma randomizada. Todos os pacientes foram instruídos com relação às boas práticas de higiene para manipulação, limpeza, manutenção e acondicionamento das lentes. Os estojos eram mantidos à temperatura ambiente e permaneceram com os pacientes durante 7 dias, quando os estojos de armazenamento eram transportados para análise. O conteúdo dos estojos era removido, realizando subsequentemente o teste do cristal violeta.

4.5.1. Seleção de pacientes

Foram incluídos no estudo pacientes voluntários que usaram o mesmo modelo de lente de contato gelatinosa descartável de silicone-hidrogel (Acuvue® Oasys®, Johnson & Johnson) durante um período de sete dias. Os critérios de inclusão foram: pacientes voluntários, residentes em João Pessoa, uso da lente de contato por 7 dias (durante um período mínimo de 4h) e uso do mesmo modelo e dioptria de LCG para todos os participantes do estudo.

Quando o paciente voluntário cumpria todos os critérios de inclusão, ele recebia todas as informações acerca do estudo e, uma vez que decidia participar do ensaio clínico, assinava o termo de consentimento informado (APÊNDICE B) e uma ficha do paciente era preenchida (APÊNDICE C). Para cada participante foi determinada aleatoriamente uma solução multiuso, compondo um total de três grupos com 5 indivíduos (10 olhos).

Após assinado o consentimento informado e realização dos exames oftalmológicos, foi entregue a cada participante do estudo um par de lentes de contato gelatinosas novas (Acuvue® Oasys®, Johnson & Johnson), um estojo de armazenamento e uma de solução multiuso escolhida de forma randomizada. O paciente voluntário recebeu todas as instruções sobre a higiene das mãos e uso correto das lentes de contato gelatinosas e solução multiuso.

Finalizado o período de sete dias, as LCG foram recolhidas em seus respectivos estojos de armazenamento. Todo material foi encaminhado no período máximo de 24 horas, ao Laboratório de Microbiologia Ambiental, para realização das análises microbiológicas.

4.5.2. Exames oftalmológicos

Com o objetivo de avaliar a função e produção lacrimal basal antes e após o uso das LCG, foram executados quatro testes diagnósticos específicos em todos os pacientes: medida da altura do menisco lacrimal, tempo de rotura do filme lacrimal, avaliação do grau de hiperemia da superfície ocular e o teste de Schirmer.

Utilizando Keratograph® (Oculus Optikgeräte GmbH, 5M), gentilmente emprestado por OCULUS Brasil (Figura 3), foram realizados os 3 primeiros testes relatados anteriormente. Esse equipamento executa uma avaliação detalhada da superfície ocular de modo não invasivo e apresenta como resultado a média de três leituras de cada uma das variáveis analisadas.

Figura 3 – Keratograph® durante exame da superfície ocular de um paciente.

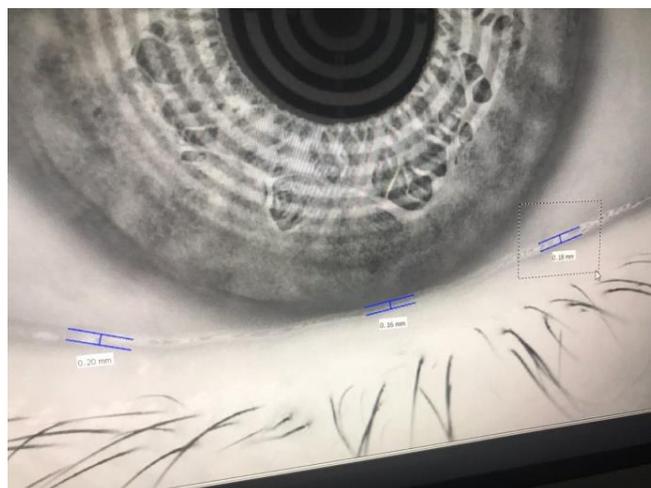


Fonte: autor (2020) com consentimento das pessoas fotografadas

4.5.2.1. Altura do menisco lacrimal

O teste mede quantitativamente a produção da lágrima pela glândula lacrimal principal, por meio da determinação da altura do menisco lacrimal (Figura 4). Quanto maior for o volume de produção de lágrima, maior será a altura do menisco lacrimal.

Figura 4 – Teste da altura do menisco lacrimal no Keratograph®. Os marcros em forma de letra H na parte inferior indicam as leituras do menisco lacrimal.



Fonte: autor (2020) com consentimento das pessoa fotografada

4.5.2.2. Grau de hiperemia da superfície ocular

O keratograph[®] utiliza uma escala própria e classifica automaticamente o grau de hiperemia da superfície ocular do olho humano (Figura 5). O uso de lentes de contato gelatinosas pode causar irritação e aumentar esta hiperemia, que varia de 0 a 10, segundo a leitura no equipamento.

Figura 5 – Teste do grau de hiperemia no Keratograph[®]



Fonte: autor (2020) com consentimento das pessoa fotografada

4.5.2.3. NIKBUT (No Invasive Keratograph Break Up Time)

A medida do tempo de ruptura do filme lacrimal é uma variável que avalia a qualidade da lágrima. O limite da normalidade é que o NIKBUT seja superior a 10 segundos. Valores inferiores são considerados anômalos e representam uma película lacrimal qualitativamente instável.

4.5.2.4. Teste de Schirmer

O teste de Schirmer avaliou quantitativamente a produção basal da lágrima (camada aquosa) pela glândula lacrimal principal do olho humano. Consiste na colocação de uma tira milimétrica de papel tornassol (papel filtro) em cada pálpebra inferior (Figura 6).

Após cinco minutos se realiza a leitura da área que foi molhada pela lágrima. A interpretação se faz de acordo com tamanho do percurso da lágrima, em milímetros: olho normal (> 10 mm), olho seco moderado (> 5 e < 10 mm) e olho seco severo (< 5 mm).

Figura 6 – Teste de Schirmer.



Fonte: autor (2020)

4.6. Avaliação da formação de biofilmes nos estojos de armazenamento das lentes de contato

Foi empregado o teste do cristal violeta, como descrito na sessão 4.4.

4.7. Análise estatística

Nos ensaios *in vitro*, os resultados foram testados para distribuição igual à normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A diferença de média entre os grupos foi avaliada pelo método ANOVA. Para os ensaios *in vivo* foi repetido o teste de Kolmogorov-Smirnov e as correlações entre as variáveis foram obtidas pelo teste de Spearman, considerando significantes quando $p < 0,05$.

5 – RESULTADOS

5.1 – Ensaios *in vitro*

Dezoito diferentes substâncias foram identificadas nas três soluções multiuso. Seis funções destes ingredientes nas formulações foram listadas: conservante, quelante, tensoativa, degermante, lubrificante e tampão. Três ingredientes se repetiram nas soluções A, B e C: ácido bórico, edatato dissódico e cloreto de sódio. Outros três ingredientes foram comuns apenas nas soluções A e B: poloxamina, borato de sódio e poliaminopropil biguanida e um ingrediente encontrado nas soluções B e C, poliquaternário 1. Do total de 5 conservantes ou degermantes listados, ácido bórico foi comum às três soluções enquanto borato de sódio e poliaminopropil biguanida foram comuns em entre duas SM.

A Tabela 1 apresenta os resultados do ensaio *in vitro*.

Tabela 1 – Inibição da adesão do patógeno ocular em 48h.

Solução multiuso	Tratamentos	Média do percentual de inibição ± desvio padrão	
		<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
		UFPEDA 416	UFPEDA 02
A	SM 10%	76,6±0,8*	35,0±0,1
	SM 100%	40,8±0,2	27,2±0,3
	40 KHz ultrassom (0h)	45,6±0,8	45,4±0,1
	40 KHz ultrassom (24h)	00,0±0,0	00,0±0,0
B	SM 10%	85,1±0,2*§	74,8±0,1
	SM 100%	48,3±0,2	98,3±0,1†§
	40 KHz ultrassom (0h)	26,0±0,1	00,0±0,0
	40 KHz ultrassom (24h)	00,0±0,0	00,0±0,0
C	SM 10%	86,1±0,3*§	58,3±0,5
	SM 100%	96,2±0,1†§	41,7±0,3
	40 KHz ultrassom (0h)	00,0±0,0	60,2±0,2
	40 KHz ultrassom (24h)	00,0±0,0	00,0±0,0

†OD_{550nm} < 0.186 indica presença de células aderentes

§ Inibição forte da formação do biofilme

* Significativamente diferente do controle (p < 0.05)

Houve inibições da formação de biofilme, mas não para todas as condições testadas. Quando ocorreram, as inibições foram classificadas como de forte à moderada para ambas as linhagens testadas. A diferença estatisticamente significativa ocorreu com a *P. aeruginosa* UFPEDA 416 no tratamento com as SM diluídas ($p < 0.01$).

Em apenas uma condição de tratamento, exposição à SM-B e SM-C, respectivamente, contra *S. aureus* UFPEDA 02 e *P. aeruginosa* UFPEDA 416, o percentual de inibição da formação do biofilme foi acima de 96% e células aderentes estavam ausentes. Nas demais condições testadas, as quais incluem resultados com cerca de 75% de inibição da formação do biofilme, estas células aderentes se faziam presentes após 48h de exposição às SM.

O tratamento com 40 KHz de ultrassom favoreceu o desenvolvimento dos biofilmes e não promoveu perturbações quando o biofilme já estava maduro. Além disso, embora o tratamento com ultrassom no início do ensaio tenha reduzido a formação do biofilme entre 26 e 60%, com as SM-A e B, esta inibição foi de moderada à fraca e células aderentes estavam presentes.

5.2. Ensaio *in vivo*

No decorrer dos testes *in vivo*, um dos pacientes declinou de sua participação. Os resultados do ensaio *in vivo* de adesão microbiana nos estojos de armazenamento indicaram uma medida similar da densidade óptica nas amostras do poço direito e do poço esquerdo. A correlação entre a formação de biofilme e o tipo de SM testada atingiu entre 62-79%. Adicionalmente, houve diferença estatística sobre a formação de biofilme microbiano nos poços dos estojos de armazenamento entre os três tratamentos, destacando SM-C como a solução que registrou as menores médias (Tabela 2).

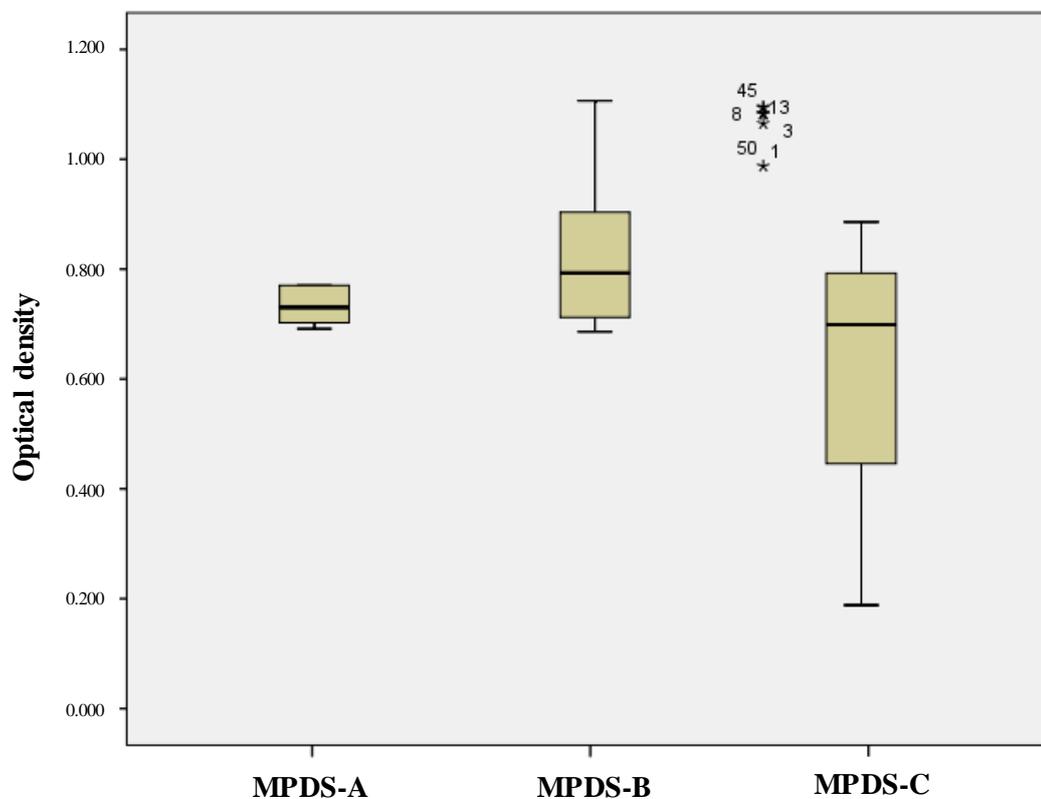
Tabela 2 – Média da densidade óptica após 7 dias de uso das lentes de contato*

Solução multiuso	Densidade óptica		Correlação
	± desvio padrão		
	Poço esquerdo	Poço direito	
SM-A	0,808±0,006	0,797±0,007	62,0% (p>0,014)
SM-B	0,797±0,009	0,890±0,005	69,8% (p>0,004)
SM-C	0,618±0,006	0,612±0,007	78,9% (p>0,002)

* tamanho dos grupos não iguais (média harmônica = 27,692)

A Figura 7 ilustra a similaridade na formação dos biofilmes nas paredes dos poços direito e esquerdo em todos os grupos (média quadrática = 0,385 and F= 11,189) e identificar que o mesmo fenômeno se repetiu dentro de cada grupo individualmente (média quadrática = 0,034), em que se destacou a SM-C.

Figura. 7 – Média da formação de biofilme nos estojos para lentes de contato após 7 dias de uso pelos pacientes (média harmônica = 27,697)



5.3. Avaliação da função lacrimal

Avaliação da função e produção lacrimal nos pacientes apresentou diferenças sutis entre o período prévio e posterior ao uso das lentes de contato. Contudo, os valores encontrados estavam dentro dos parâmetros considerados para a normalidade (Tabela 3)

Tabela 3 – Média dos resultados dos testes de função lacrimal (n = 28)

Testes	Olho esquerdo		Olho direito	
	Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia 7
Teste de Schirmer (mm)	25,78	27,21	23,85	24,71
Altura do menisco lacrimal (mm)	0,23	0,21	0,19	0,21
Tempo de rotura do filme lacrimal (s)	9,53	10,77	13,85	12,02
Grau de hiperemia (escala 0-10)	0,80	0,89	0,76	0,87

6 - DISCUSSÃO

Os biofilmes são comunidades sésseis microbianas constituídas por uma ou mais espécies, vivendo em associação e envoltos por uma matriz polimérica (COSTERTON et al., 1999). Um grande número de bactérias pode se estabelecer na forma de biofilmes e persistir em superfícies de diferentes naturezas: metais, cerâmica, vidro e plásticos. Esses materiais, dependendo da sua composição, podem suportar fortemente o crescimento microbiano por um longo período de tempo e aumentar do risco de contaminação bacteriana (NAN et al., 2015).

Alguns microrganismos permanecem aderidos de forma irreversível as superfícies e os biofilmes representam a principal forma de vida terrestre dos microrganismos (SANTOS et al. 2018). Os biofilmes oferecem diversas vantagens quando comparados às formas de vida planctônicas, em especial por garantirem maior resistência às pressões exercidas pelo ambiente, redução da susceptibilidade aos antissépticos, degermantes e outros agentes biocidas (de SOUZA et al., 2014). Esta característica pode ser atribuída ao fato de que os biofilmes formados mantêm comunidades multicelulares sésseis com complexos mecanismos de comunicação celular. Entretanto, a disponibilidade de nutrientes representa o mais importante fator dentre os eventos que culminam com a adesão e liberação de células para crescimento do biofilme (VASCONCELOS et al., 2020).

Os microrganismos residentes na superfície ocular são, na sua imensa maioria, comensais e não, necessariamente, patogênicos. Lipídios, proteínas e glicoproteínas se acumulam rapidamente na superfície das lentes de contato gelatinosas (LCG) e podem favorecer a adesão da bactéria comensal iniciando a formação do biofilme (ARTINI et al., 2015). Ademais, os estojos para armazenamento das LCG podem funcionar como um nicho ideal para proliferação de patógenos (STAPLETON e CARNT, 2012).

As complicações mais frequentemente observadas nos usuários de LCG são: infiltrados inflamatórios, úlcera de córnea, conjuntivite papilar gigante e ceratite bacteriana, que representam 25 a 60% das intercorrências em usuários de LCG em todo o mundo (KOBIA-ACQUAH et al., 2019). Em complemento, a maior prevalência de problemas entre os usuários de lentes (mais de 80%) ocorre com as LCG as quais também estão envolvidas em aproximadamente 70% dos casos de infecção ocular bacteriana (BITTON et al., 2019).

P. aeruginosa é um patógeno com relevância clínica importante e associado com ceratite microbiana grave e com prognóstico reservado (OLIVER et al, 2019). A espécie, juntamente com *S. aureus* são as bactérias mais prevalentes em infecções corneanas associadas aos usuários de LCG (KEAY et al., 2006). As doenças oculares provocadas por *S.*

aureus podem ser decorrentes da invasão direta dos tecidos ou pelos fatores de virulência exibidos pela bactéria (SANTOS et al., 2007). Por outro lado, além dos riscos relacionados ao perfil de virulência da *P. aeruginosa*, a bactéria exibe grande habilidade em rapidamente colonizar as superfícies de lentes de contato, utilizando-se de sua versatilidade fisiológica, em especial quando os olhos se encontram com algum tipo de processo inflamatório instalado. Atualmente é aceito que este fenômeno seja ocorrente a múltiplas espécies (PATEL et al., 2018).

A adesão celular na superfície é determinada pelo equilíbrio entre por forças van der Waals e forças eletrostáticas (KARUNAKARAN et al. 2011). A natureza da superfície também representa um papel fundamental. As superfícies hidrofóbicas, tais como o poliestireno, material comum aos estojos de armazenamento e microtubos empregados nos testes *in vitro* e *in vivo*, apresentam um ângulo de contato com a água superior a 65°. Isto reflete numa baixa energia livre de Gibbs, favorecendo o processo de sorção (VOGLER 1998). O ângulo de contato com a água em superfícies de poliestireno pode chegar até 90° (Biazar et al., 2011). É importante ressaltar que a adesão de alguns isolados de *P. aeruginosa* e *Staphylococcus* sp. já foi observada em superfícies de diferentes materiais igualmente considerados hidrofóbicos, além do poliestileno, por exemplo, aço inoxidável e borracha (TEIXEIRA et al., 2015).

As lentes de contato gelatinosas quando adaptadas no olho humano encontram-se em contato direto com a superfície ocular e podem causar alterações anatômicas e fisiológicas que geram sintomatologia de desconforto e irritação ocular. A alteração mais frequentemente observada nos usuários de LCG é a ceratite punctata (olho seco), secundária a um déficit da lubrificação da córnea, além de outras patologias mais severas.

A Síndrome do Olho Seco (SOS) é muito frequente aos pacientes que utilizam LCG. A SOS é causada, na maioria dos casos, por uma disfunção na produção ou função do filme lacrimal do olho humano. É mais frequente no sexo feminino e sua etiopatogenia pode ser multifatorial. O diagnóstico é complexo e exige uma abordagem completa de fatores oculares, sistêmicos, ambientais e comportamentais. O tratamento da SOS é feito mediante tratamento tópico com colírios lubrificantes (lágrimas artificiais) e, em alguns casos, medicação por via oral e terapias adjuvantes (MESSMER, 2015). Ressalta-se que nos testes de avaliação comparativa da função e produção lacrimal, antes e depois do uso das LCG foi observado que após uma semana o olho e funções lacrimais não foram comprometidos, sugestivo de que as LCG foram confortáveis nestes pacientes.

As soluções multiuso (SM) se propõem a serem eficazes nas 4 etapas do tratamento às lentes de contato: limpeza, humidificação, desinfecção e armazenamento. Por mais eficaz que seja a ação desinfetante das soluções, elas garantem de forma parcial a inibição da formação de biofilmes como foi observado neste estudo. Nos ensaios *in vitro*, os biofilmes formados por *P. aeruginosa* UFPEDA 416 foram sutilmente mais susceptíveis que aqueles formados por *S. aureus* UFPEDA 02, porém em 33% das condições testadas, a inibição do biofilme foi zero e na significativa maioria dos ensaios, células aderentes estavam presentes, o que pode garantir a formação e manutenção dos biofilmes.

Em um estudo prévio, as mesmas espécies obtiveram comportamento semelhante ao serem expostas às SM nas concentrações 75 e 100%, sob condições estáticas de incubação, simulando a forma como os estojos são deixados enquanto acondicionam as lentes de contato fora dos olhos. Nós observamos uma redução moderada da formação do biofilme *P. aeruginosa* e um resultado menos animador contra *S. aureus*, possivelmente em razão da diferença entre as taxas de formação de biofilmes por ambas bactérias, com maior atraso para *P. aeruginosa* (ZELLMER e HEUERTZ, 2015).

Cabe ressaltar que a formação de um biofilme é multifatorial e que diferentes linhagens de uma mesma espécie podem assumir comportamentos distintos. Um estudo recente identificou ausência de Gram-positivos e prevalência de biofilmes de bactérias Gram-negativas, resistentes às SM, sobre a superfície de lentes de contato após exposição por 14 dias, incluindo as lentes de contato deixadas em poços vazios pelo mesmo período de tempo (BITTON et al., 2019).

Outro importante ponto com relação às SM diz respeito à não atividade contra alguns importantes microrganismos patógenos oculares, como *Acanthamoeba*, cujas soluções são mais ativas aos trofozoítos do que aos cistos. Um estudo prévio observou uma redução de 1 unidade logarítmica do número de cistos para 3 unidades logarítmicas de trofozoítos (ÜSTÜNTÜRK e ZEYBEK, 2014). De acordo com os protocolos vigentes, considera-se como comprovação de eficácia de uma SM, a redução de no mínimo 3 unidades logarítmicas das células bacterianas planctônicas (KILVINGTON et al., 2013). No entanto, não há padrões de eficiência para outros microrganismos bem como para avaliação de biofilmes. Ressalta-se ainda que a estas estruturas são mais importantes do ponto de vista clínico, uma vez que são mais persistentes e em razão disto, representarem maior risco.

Deve-se considerar também o que diz respeito à multirresistência microbiana a diferentes classes de agentes desinfetantes e preservadores das formulações. Embora não exista correlação entre resistência a preservantes com a resistência a antimicrobianos, algumas

bactérias, especialmente Gram-negativas, exibem um perfil multirresistente para as duas classes de agentes antimicrobianos (MARTINS et al., 2018). Adicionalmente, a literatura identifica a prevalência de genes de resistência aos compostos de quarternário de amônio (SUBEDI et al., 2018). O ácido bórico foi o composto comum encontrado nas três SM. Na literatura consultada não foram identificados relatos de resistência microbiana da microbiota da superfície ocular à substância. Em apenas um estudo foi avaliada a eficácia do ácido bórico 4% sobre a redução da formação do biofilme, identificando-o como o menos eficiente dentre 5 antimicrobianos testados. O ácido bórico é considerado eficiente como agente antimicrobiano, entretanto para garantir segurança, requer concentrações altas, que não representam benefícios em razão dos efeitos indesejáveis (YOUN et al., 2016).

Supondo que o tratamento com ultrassom poderia contribuir para potencializar o efeito das SM o resultado que encontramos no nosso estudo foi oposto ao esperado. O ultrassom é empregado na remoção de células microbianas agregadas em diferentes superfícies, permitindo uma redução de 35-90% dos biofilmes. O ultrassom age por cavitação acústica, a qual interage com a bactéria, resultando no enfraquecimento e quebra da parede celular.

A intensidade do ultrassom promove a formação de bolhas, as quais quando se colapsam, produzem ondas de choque de muita energia, com compressão adiabática do gás, temperaturas na ordem de 4500 °C e rotação em função do torque, contudo, a sensibilidade da bactéria à sonicação também é alterada por aspectos do meio, tais como viscosidade, transferência do som e poder de distribuição. Além disso, se as células planctônicas são mais densas do que o líquido ao redor, há um a pressão de radiação que pode impulsioná-las (ERRIU et al., 2013).

A aplicação de 40KHz em *E. coli* e *K. pneumoniae* pode reduzir 1 unidade logarítmica das células planctônicas após 10 minutos (Joyce et al., 2014), revelando com isto que há uma distorção do conceito do seu uso do ultrassom na prevenção de adesão microbiana em superfícies. Isto pôde ser confirmado neste estudo ao verificar que a aplicação de ultrassom de baixa frequência resultou maior susceptibilidade de *S. aureus* UFPEDA 02 e quando o biofilme estava maduro o tratamento não surtiu efeito para ambas *S. aureus* e *P. aeruginosa* UFPEDA 416.

Embora o ultrassom crie forças de cisalhamento no biofilme entre a interface com o substrato condicionante, a baixa frequência não demonstra força suficiente para perturbar as células agregadas (PITT e ROSS, 2006). Isto ocorre porque ao oferecer ultrassom de baixa frequência (20 a 100 KHz) e baixa intensidade (até 3 W/cm³), a célula recebe apenas energia

mecânica, resultando num grau mínimo de destruição e desprendimento. Assim, é postulado que os efeitos biocida e estimulante de crescimento celular coexistam com o uso do ultrassom, uma vez que estes efeitos dependem da frequência, intensidade, material em que o ultrassom é aplicado, bem como dos efeitos de cavitação e presença de células com capacidade aderente (ERRIU et al., 2013).

A maior vantagem da formação de biofilme para *P. aeruginosa* UFPEDA 416 no teste com o ultrassom pode ser justificada pelo fato de que o tratamento em baixa frequência pode aumentar o transporte de moléculas pequenas de nutrientes, formando gradientes de concentração e favorecendo o crescimento celular. Além disso, *P. aeruginosa* exibe uma brilhante capacidade de se desenvolver em ambientes oligotróficos (LEGANI et al., 1999). Em complemento, quanto maior for a taxa de crescimento celular, menos o biofilme será afetado pelo tratamento com ultrassom. *P. aeruginosa* e *S. aureus* apresentam um tempo de duplicação cerca de 30-40 minutos (KEREN et al., 2004). Neste contexto, acredita-se que este comportamento seja similar para demais bactérias (PIT e ROSS, 2006).

Finalmente, a elevada concentração celular nos estojos de armazenamento pode sinalizar dois temas de importância sanitária. O primeiro, diz respeito ao fato das SM serem eficazes contra micróbios oculares na sua forma planctônica, mas não agirem de forma eficiente como inibidores da formação de biofilmes. A presença de células aderentes no meio é um bom indicativo deste problema. O segundo tema concerne à condução de boas práticas de higiene das mãos, regiões das pálpebras, das lentes de contato e seus estojos de armazenamento, as quais incluem o uso correto das soluções desinfetantes, fundamentais para diminuir os riscos de infecção. Ainda que novas tecnologias busquem produtos com maior eficiência, visando a segurança e o conforto aos usuários de LCG, o maior risco ainda é relacionado às práticas de higiene e ao fato de não as retirar para dormir (KOBIA-ACQUAH et al., 2019).

Embora sejam sempre orientados sobre os cuidados básicos que devem ser seguidos durante o uso das LCG, nossos resultados sugerem que os pacientes podem não ter seguido corretamente as boas práticas de higiene e manuseio das lentes de contato, prática essa que deve ser compartilhada e examinada por meio de pequenas avaliações de verificação de aprendizado por parte dos profissionais envolvidos no processo de indicação e adaptação de lentes de contato gelatinosas.

A superfície ocular do olho humano é, atualmente, entendida pela comunidade científica oftalmológica como uma entidade independente e de complexa fisiologia. Todas as estruturas que compõem a superfície ocular (pálpebras / conjuntiva / filme lacrimal e córnea)

apresentam, individualmente, características anatômicas e funções específicas de extrema importância para o funcionamento do olho humano ao mesmo tempo em que se unem para formar a superfície ocular e trabalham em conjunto.

7 – CONCLUSÕES

Nas condições experimentais testadas foram detectadas células aderentes dos dois mais importantes patógenos oculares quando expostos a todas SM avaliadas. Isto implicou na maioria dos casos, em uma inibição de moderada à fraca da formação do biofilme, bem como resultados em que nenhum efeito inibitório sobre a adesão foi observado. Das três marcas avaliadas a SM-C obteve os melhores resultados nos ensaios *in vitro* e *in vivo*.

O tratamento com ultrassom de baixa frequência não deve aplicado como método complementar de desinfecção dos estojos, especialmente quando o biofilme já está estabelecido. Igualmente, as boas práticas de higiene devem ser difundidas entre usuários de lentes de contato gelatinosas e campanhas de informação populacional devem ser estimuladas para conscientização dos pacientes sobre a importância das medidas de higiene e manutenção.

A avaliação da função e produção lacrimal demonstrou que o período de uso das lentes não provocou alterações importantes na função lacrimal, porém o uso de colírios lubrificantes deve ser estimulado aos utentes de LCG. Além disso, recomenda-se friccionar vigorosamente e esfregar as lentes de contato e seus respectivos estojos durante a limpeza. Como sugestão, a fricção pode facilitar a remoção do biofilme formado e estruturado, considerando que apenas a imersão em SM pode não garantir sua completa remoção e/ou eliminação. Em complemento, é endossada a ideia de que, por segurança, o tempo para troca dos estojos recomendado pelos fabricantes seja respeitado.

REFERÊNCIAS

ARTINI, M., CELLINI, A., SCOARUGHI, G.L., PAPA, R., TILOTTA, M., PALMA, S., SELAN, L. Evaluation of contact lens multipurpose solutions on bacterial biofilm development. *Eye Contact Lens*. v. 41, n. 3, p. 177-182, 2015.

BIAZAR, E., HEIDARI, M., ASEFNEZHAD, A., MONTAZERI, N. The relationship between cellular adhesion and surface roughness in polystyrene modified by microwave plasma radiation. *Int J Nanomed*. v. 6, p. 631-639, 2011.

BITTON, E., NGO, W., DUPONT, P. Eyelid hygiene products: A scoping review. *Contact Lens Anterior Eye*. v. 42, n. 6, p. 591-597, 2019.

BREEUWER, P., ABEE, T. Assessment of viability of microorganisms employing fluorescence technique. *Int J Food Microbiol*. 55: 193-200, 2000.

BUDIMAN, A., FAUZI, H.J., SULISTIYANINGSIH, Sr, SRIWIDODO, S. The antibacterial activity of contact lens solutions against microbial keratitis. *Nat J Physiol Pharm Pharmacol*. v. 7, n. 11, p. 1264-1267, 2017.

CAVANAGH, H.D., ROBERTSON, D.M., PETROLL, W.M., JESTER, J.V. Castroviejo Lecture 2009: Forty years in search of the perfect contact lens. *Cornea*. v. 29, n. 10, p. 1075–1085, 2010.

CORAL-GHANEM C, OLIVIERA PR. Lentes de Contato na Clínica Oftalmológica, 4ª ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2015, 296p.

CIR – COSMETIC INGREDIENT REVIEW. Disponível em: <http://www.cir-safety.org>. Acesso em: 11 dez 2019.

COSTERTON, J. W., GEESEY, G.G., CHENG, K.J. How bacteria stick. *Scientific Am*. v. 238, n. 1, p. 86-95, 1978.

COSTERTON, J.W., STEWARD, P.S., GREENBERG, E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. v. 284, p. 1318-1322, 1999.

COSTERTON, W. J., WILSON, M. Introducing biofilms. *Biofilms*. v. 1, n. 1, p. 1-4, 2004.

DONZIS, N.P.B., MONDINO, B.J., WEISSMAN, B.A., BRUCKNER, D.A. Microbial contamination of contact lens care systems. *Am J Ophthalmol.* v. 104, p. 325-333, 1987.

ERRIU, M., BLUS, C., SZMUKLER-MONCLER, S., BUOGO, S., LEVI, R., BARBATO, G., MADONNARIPA, D., DENOTTI, G., PIRAS, V., ORRU, G. Microbial biofilms modulation by ultrasound: current concepts and controversies. *Ultrasonic Sonochem.* v. 21, p. 15-22, 2014.

HINOJOSA, J.A, PATEL, N.B., ZHU, M., ROBERTSON, D.M. Antimicrobial efficacy of contact lens care solutions against neutrophil-enhanced bacterial biofilms. *Translat Vis Sci Technol.* v. 6, n. 2, p. 11, 2017.

KACKAR, S., SUMAN, E., KOTIAN, M.S. Bacterial and fungal biofilm formation on contact lenses and their susceptibility to lenses care solutions. *Indian J Med Microbiol.* v. 35, p. 80-84, 2017.

KARUNAKARAN, E., MUKHERJEE, J., RAMALINGAM, B., BIGSS, C.A. "Biofilmology": a multidisciplinary review of the study of microbial biofilms. *Appl Microbiol Biotechnol.* v. 90, p. 1869-1881, 2011.

KEAY, L., EDWARDS, K., NADUVILATH, T., FORDE, K., STAPLETON, F. Factors affecting the morbidity of contact lens-related microbial keratitis: a population study. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* v. 47, p. 4302-4308, 2006.

KEREN, I., KALDALU, N., SPOERING, A., WANG, Y., LEWIS, K. Persister cells and tolerance to antimicrobials. *FEMS Microbiol Lett.* v. 230, n. 1, p. 13-18, 2004.

KILVINGTON, S., SHOVLIN, J., NIKOLIC, M. Identification and susceptibility to multipurpose disinfectant solutions of bacteria isolated from contact lens storage cases of patients with corneal infiltrative events. *Contact Lens Anterior Eye.* v. 36, p. 294-298, 2013.

KIM, D.J., PARK, J.H., KIM, M., PARK, C.Y. The antibiofilm efficacy of nitric oxide on soft contact lenses. *BMC Ophthalmol.* v. 17, p. 206. doi:10.1186/s12886-017-0604-2, 2017.

KOBIA-ACQUAH, E., AKOWUAH, P.K., ANTWI-ADJEI, E.K., FORKUO, P.M., KOOMSON, N.Y., ODOTEI, S.O., ALABI, E., DONKOR, R. Contact lens complications among wearers in Ghana. *Contact Lens Anterior Eye.* v. 19, p. 30265-6. doi: 10.1016/j.clae.2019.11.003, 2019.

JOYCE, E., AL-HASHIMI, A., MASON, T.J. Assessing the effect of different ultrasonic frequencies on bacterial viability using flow cytometry. *J Appl Microbiol.* v. 110, p. 862-870, 2011.

LARKIN, D.F., KILVINGTON, S., EASTY, D.L. Contamination of contact lens storage cases by *Acanthamoeba* and bacteria. *Br J Ophthalmol.* v. 74, p. 133-135, 1990.

LEGANI, P., LEONI, E., RAPUANO, S., TURIN, D., VALENTI, C. Survival and growth of *Pseudomonas aeruginosa* in natural mineral water: A 5-year study. *Int J Food Microbiol.* v. 53, p. 153-158, 1999.

LEMP, J., KERN, J.R. Results from a global survey of contact lens-wearer satisfaction with OPTI-FREE® PureMoist® Multi-Purpose Disinfecting Solution. *Clin Optometry.* v. 5, n. 1, p. 39-46, 2013.

MARTINS, R.X., VIANA, A.A.G., FERREIRA, G.F., CAVALCANTI, T.G., AMARAL, I.P.G., TRAVASSOS, R.A., VASCONCELOS, U. Preservative and antimicrobial susceptibility of non-fermenting bacilli recovered from solid waste of beauty salons in Brazil. *J Appl Pharm Sci.* v. 8, n. 6, p. 169-174, 2018.

McLAUGHLIN-BURLACE, L., STAPLETON, F., MATRHESON, M., DARK, J.K. Bacterial biofilm on contact lenses and lens storage cases in wearers with microbial keratitis. *J Appl Microbiol.* v. 84, p. 827-838, 1998.

MESSMER, EM. The pathophysiology, diagnosis, and treatment of dry eye disease. *Dtsch Arztebl Int.* 30;112(5):71-81; 2015.

MORINSON, R. The eyes have it: Contact lens care in pharmacy. *Aust J Pharm.* v. 100, n. 1-2, p. 67-71, 2019.

NAN, L., YANG, K., REN, G. Anti-biofilm formation of a novel stainless steel against *Staphylococcus aureus*. *Mat Sci Eng C.* v. 51, p. 356-361, 2015.

OCULUS. Guia do olho seco, 2ª ed. São Paulo: Ocellus Brasil, 2017, 64p.

OLIVIER, J.C., BREDARIOLLI, P.A.P., LEANDRO, F.B., FERREIRA, C.B.R.J., VEIGA, S.M.A.M., DIAS, A.L.T. Ozone against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in contact lenses

storage cases. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. v. 61, p. e23, <http://dx.doi.org/10.1590/s1678-9946201961023>, 2019.

PAGANO, P.J., BUCHANAN, L.V., DAILEY, C.H., HAAS, J.H., van ENK, R.A, GIBSON, J.K. Effects of linezolid on staphylococcal adherence versus time of treatment. *Int J Antimicrob Agents*. v. 23, p. 226-234, 2004.

PATEL, N.B., HINOJOSA, H.A., ZHU, M., ROBERTSON, D.M. Acceleration of the formation of biofilms on contact lens surfaces in the presence of neutrophil-derived cellular debris is conserved across multiple genera. *Molec Vis*. v. 24, p. 94-104, 2018.

PEIXOTO, M.M.R., GRESSLER, L.T., SUTILI, F.J., COSTA, M.M., VARGAS, A.C. Ação dos desinfetantes sobre a adesão e biofilme consolidado de *Staphylococcus* spp. *Pesq Vet Bras*. v. 35, n. 2, p. 105-109, 2015.

PITT, W.G, ROSS, A. Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth. *Biotechnol Progress*. v. 19, n. 3, p. 1038-1044, 2003.

RODRIGUES, L.B., SANTOS, L.R., TAGLIARI, V.Z., RIZZO, N.N., TRENHAGO, G., OLIVEIRA, A.P., GOETZ, F., NASCIMENTO, V.P. Quantification of biofilm production on polystyrene by *Listeria*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from a poultry slaughterhouse. *Braz J Microbiol*. v. 41, p. 1082-1085, 2010.

SANTOS, A. L. S., GALDINO, A. C. M., MELLO, T. P., RAMOS, L. S., BRANQUINHA, M. H., BOLOGNESE, A. M., COLUMBANO NETO, J., AND ROUDBARY, M. What are the advantages of living in a community? A microbial biofilm perspective! *Mem Inst Oswaldo Cruz*. v. 113, p. 1-7. <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760180212>, 2018.

SZCZOTKA-FLYNN, L.B., PEARLMAN, E., GHANNOUNM, M. Microbial contamination of contact lenses, lens care solutions, and their accessories: a literature review. *Eye Contact Lens*. v. 36, p. 116-129, 2010.

SHIN, H., PRICE, K., ALBERT, L., DODICK, J., PARK, L., DOMINGUEZ-BELLO, M.G. Changes in the eye microbiota associated with contact lens wearing. *M Bio*. v. 7, n. 2, p. e00198. doi: 10.1128/mBio.00198-16, 2016.

SOUZA, E.L., MEIRA, Q.G.S., BARBOSA, I.M., ATHAYDE, A.J.A.A., CONCEIÇÃO, M.L., SIQUEIRA-JUNIOR, J.P. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* from food contact surfaces in a meat-based broth and sensitivity to sanitizers. *Braz J Microbiol*. v. 45, n. 1, p. 67-75, 2014.

STAPLETON, F., CARNT, N. Contact lens-related microbial keratitis: how have epidemiology and genetics helped us with pathogenesis and prophylaxis. *Eye*. v. 26, p. 185-193, 2012.

STAPLETON, F., TAN, J. Impact of contact lens material, design, and fitting on discomfort. *Eye Contact Lens*. v. 43, n. 1, p. 32-39, 2017.

SUBEDI, D., VIJAI, A.K., WILCOX, M. Study of disinfectant resistance genes in ocular isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics*. v. 7, p. 88, doi:10.3390/antibiotics7040088, 2018.

TAN, N.K., PITT, W.G., PEREZ, K.X., HANDLY, E., GLENN, A.A., HICKEY, J.W., LARSEN, B.G. The role of multi-purpose solutions in prevention and removal of lipid depositions on contact lenses. *Contact Lens Anterior Eye*. v. 37, n. 6, p. 405-414, 2014.

TEIXEIRA, P., LOPEZ, Z., AZEREDO, J., OLIVEIRA, R., VIEIRA, M.J. Physicochemical surface characterization of a bacteria population isolated from a milking machine. *Food Microbiol*. v. 22, p. 247-251, 2005.

ÜSTÜNTÜRK, M., ZEYBEK, Z. Amoebicidal efficacy of a novel multi-purpose disinfecting solution: First findings. *Exp Parasitol*. v. 145, p. S93-S97, 2014.

VASCONCELOS, U., DAS, P., DIAS, D.S.B., BONIFACIO, T.T.C., ARRUDA, R.R.A., OLIVEIRA, B.T.M., CAVALCANTI, T.G. Mechanism of biofilm formation in Gram-negative bacteria. In: Mitra A (Ed.). *Microbial biofilms current research and practical implications*. 1st ed. Wymondham: Caister Academic Press. DOI: <https://doi.org/10.21775/9781912530328.02>, 2020.

VOGLER, E.A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Adv Colloid Interface Sci.* v. 74, n. 1, p. 69-117, 1998.

WALTHER, H., SUBBARAMAN, N., JONES, L. Efficacy of contact lens care solutions in removing cholesterol deposits from silicone hydrogel contact lenses. *Eye Contact Lens.* v. 45, p. 105-111, 2019.

WEN, X., MIAO, L., DENG, Y., BIBLE, P.W., HU, X., ZOU, Y., LIU, Y., GUO, S., LIANG, J., CHEN, T., PENG, G.H., CHEN, W., LIANG, L., WEI, L. The influence of age and sex on ocular surface microbiota in healthy adults. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* v. 58, p. 6030-6037, 2017.

WILCOX, M.D. Characterization of the normal microbiota of the ocular surface. *Exp Eye Res* v. 117, n. 1, p. 99-105, 2013.

WILLCOX, M.D., CARNT, N., DIEC, J., NADUVILATH, T., EVANS, V., STAPLETON, F., ISKANDAR, S., HARMIS, N., de la JARA, P.L., HOLDEN, B.A. Contact lens case contamination during daily wear of silicone hydrogels. *Opt Vis Sci.* v. 87, p. 456-464, 2010.

WU, Y., CARNT, N., STAPLETON, F. Contact lens user profile, attitudes and level of compliance to lens care. *Contact Lens Anterior Eye.* v. 33, n. 4, p. 183-188, 2010a.

WU, Y., CARNT, N., WILLCOX, M., STAPLETON, F. Contact lenses and lenses storage cases cleaning instructions: who advice should we follow? *Eye Contact Lens.* v. 36, n. 2, p. 68-72, 2010b.

XI-HUI, L.I., JOON-HEE, L.E.E. Antibiofilm agents: A new perspective for antimicrobial strategy. *J Microbiol.* v. 55, p. 753-766, 2017.

YOUN, C.K., JANG, S-J., JO, E-R., CHOI, J.A., SIM, J-H., CHO, S.I. Comparative antibacterial activity of topical antiseptic eardrops against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and quinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Pediatric Otorhinolaryngol.* v. 85, p. 80-83, 2016.

ZELLMER, T., HEUERTZ, R. Kinetics of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *FASEB J.* v. 29, p. 1. DOI: 10.1096/fasebj.29.1_supplement.575.2, 2015.

APÊNDICE A – APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE IN VITRO DO EFEITO BIOCIDA DAS SOLUÇÕES DE DESINFECÇÃO MULTIUSO NAS LENTES DE CONTATO GELATINOSAS E ESTOJOS DE ARMAZENAMENTO

Pesquisador: FABIANO BRANDAO MELQUIADES DE ARAUJO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 03761018.2.0000.5188

Instituição Proponente: Universidade Federal da Paraíba

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.062.732

Apresentação do Projeto:

Projeto de Pesquisa:

ANÁLISE IN VITRO DO EFEITO BIOCIDA DAS SOLUÇÕES DE DESINFECÇÃO MULTIUSO NAS LENTES DE CONTATO GELATINOSAS E ESTOJOS DE ARMAZENAMENTO/FABIANO BRANDAO MELQUIADES DE ARAUJO/ULRICH VASCONCELOS DA ROCHA GOMES/Dissertação de Mestrado/CBIOTEC/UFPB.

Desenho:

ESTUDO PROSPECTIVO, COMPARATIVO, RANDOMIZADO DO EFEITO BIOCIDA DAS SOLUÇÕES DE DESINFECÇÃO MULTIUSO NAS LENTES DE CONTATO GELATINOSAS E ESTOJOS DE ARMAZENAMENTO.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a eficácia do efeito biocida de três soluções multiuso de desinfecção de lentes de contato gelatinosas na prevenção da formação de biofilmes na superfície das lentes e nos respectivos estojos de armazenamento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900
UF: PB Município: JOAO PESSOA
Telefone: (83)3218-7791 Fax: (83)3218-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular - UFPB
Estudo Comparativo do Efeito Biocida das Soluções de Desinfecção Multiuso nas Lentes de Contato Gelatinosas e Estojos de Armazenamento

1. Condições Gerais:

Por meio deste documento, eu _____, RG nº _____, declaro que autorizo o meu médico oftalmologista Dr. Fabiano Brandão Melquíades de Araújo e a sua equipe, a utilizar as lentes de contato e estojo de armazenamento, por mim descartados, para realização do seu trabalho de investigação científica de mestrado. Eu entendo que, de acordo com as explicações do oftalmologista, esse material será exclusivamente para fins científicos na Universidade Federal da Paraíba/PGBCM.

2. Decisão do Paciente:

Declaro ter sido suficientemente esclarecido pelo meu oftalmologista a respeito do estudo e que minha participação voluntária está vinculada apenas ao fato de doar para análises laboratoriais as lentes de contato e estojo de armazenamento que devem ser descartados por todo usuário após 30 dias de uso. Meu diagnóstico de ametropia (miopia, hipermetropia e/ou astigmatismo) inclui entre suas modalidades de tratamento o uso de óculos, lente de contato ou cirurgia refrativa. Recebi, detalhadamente, todas essas informações do meu oftalmologista e, de maneira espontânea decidi, livremente, usar lentes de contato gelatinosas como opção terapêutica.

3. Fundamento Legal:

Declaro ainda, livre de qualquer coação e constrangimento, para não restar nenhuma dúvida quanto ao tratamento proposto e a minha autorização em questão, que sou conhecedor dos seus princípios, indicações, riscos, complicações e resultados, bem como o médico e sua equipe forneceram-me as informações referentes a cada um desses itens, de conformidade com o disposto no artigo 59 do Código de Ética Médica e nos artigos 9º e 39 da Lei 8.078/90, abaixo transcritos: É vedado ao médico deixar de informar ao paciente o diagnóstico, o prognóstico, os riscos e objetivos do tratamento, salvo quando a comunicação direta ao mesmo possa provocar-lhe dano, devendo, nesse caso, a comunicação ser feita ao seu responsável legal. Lei 8.078 de 11.09.90 - Código de Defesa do Consumidor: Artigo 9º - fornecedor de produtos e serviços potencialmente nocivos ou perigosos à saúde ou segurança deverá informar, de maneira ostensiva e adequada, a respeito da sua nocividade ou periculosidade, sem prejuízo da adoção de outras medidas cabíveis em cada caso concreto. Artigo 39 - É vedado ao fornecedor de produtos ou serviços dentre outras práticas abusivas: VI - Executar serviços sem a prévia elaboração de orçamento e autorização expressa do consumidor, ressalvadas as decorrentes de práticas anteriores entre as partes.

4. Princípios e Indicações:

Entendo que o uso de lentes de contato é realizado com vistas à melhora total ou parcial da acuidade visual durante o uso das mesmas. A extensão da recuperação visual vai depender da existência ou não de doenças ou alterações de outras estruturas oculares associadas (doenças da córnea, doenças da retina e do nervo óptico, principalmente) e, igualmente, da magnitude dos riscos e complicações que podem ocorrer durante e após o uso das lentes de contato. Afirmando estar plenamente consciente de que o uso de lentes de contato visa melhorar minha visão, mas que o resultado esperado pode não ser alcançado devido à existência de outras alterações oculares associadas (da córnea, da retina ou do nervo óptico) e igualmente à possibilidade da ocorrência de complicações.

5. Riscos e Complicações

Declaro estar plenamente ciente face à possibilidade da ocorrência de riscos e complicações o que não permite ao médico e sua equipe assegurar-me garantia expressa do tratamento proposto. Além dos riscos possíveis associados a qualquer procedimento médico, clínico ou cirúrgico, tais como infecção, reação alérgica etc., eu também fui esclarecido sobre possíveis complicações associadas especificamente ao uso de lentes de contato incluindo, entre outras: astigmatismo irregular, necessitando uso posterior de óculos, cirurgia complementar, permanência de grau de óculos, perda de visão ou perda do olho. Compreendo que não me pode ser dada garantia com relação a resultados, cura ou segurança do uso de lentes de contato. Compreendo, também, que durante a sua utilização podem surgir ocorrências imprevistas ou inesperadas, exigindo a realização de procedimentos adicionais que, desde já, autorizo que os mesmos sejam executados. Entendo que há riscos para minha visão e que compreendi a possibilidade da ocorrência de complicações.

6. Dúvidas e Esclarecimentos

Por fim, declaro a minha plena satisfação quanto ao atendimento às minhas dúvidas e questões, o que me foi feito em linguagem clara, acessível e precisa pelo médico oftalmologista e sua equipe, e que todos os espaços em branco foram preenchidos antes da minha assinatura.

7. Conclusão

Declaro que estou de acordo com a utilização da documentação científica obtida através de imagens, resultados de exames, dados clínicos desde que minha identidade seja preservada e, que tal documentação seja utilizada para propósitos científicos e educacionais. Tendo ouvido, lido e aceito as explicações sobre os RISCOS E COMPLICAÇÕES, mais comuns desta opção terapêutica e das chances do seu INSUCESSO, declaro, através da minha assinatura aposta neste instrumento particular, o meu pleno e irrestrito CONSENTIMENTO para a sua realização, tudo isto na presença de testemunha (s).

João Pessoa, ____ de _____ de 2018.

Assinatura do paciente ou responsável legal / RG

Prestei todas as informações necessárias ao paciente ou seu representante legal, conforme o termo acima.

João Pessoa, ____ de _____ de 2019.

Assinatura do Médico:

Dr. Fabiano Brandão – CRM/PB - 4954

APÊNDICE C - FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

1. Nome:

2. Data Nascimento: / /

5. Sexo: M F

3. Endereço:

4. Telefone: (83).

5. Solução Multiuso de Desinfecção Utilizada:

8.1. Optifree

8.2. Renu

8.3. Biotrue

6. Data de entrada no estudo: / /

7. Data de recolhida das lentes e estojo: / /