

INVESTIGAÇÕES SOBRE A ESTERILIDADE DE PREPARAÇÕES OFTÁLMICAS (*)

por

ARIOSTO BÜLLER SOUTO
Diretor do Instituto Adolfo Lutz

MOACYR E. ÁLVARO
Professor Catedrático da Escola de Medicina

e

NIZA PENTEADO
Químico do Instituto Adolfo Lutz

As preparações oftálmicas, não estéreis, eventualmente empregadas no tratamento de afecções oculares, poderão causar infecções, reinfecções ou contaminações maciças.

A fim de comprovar o estado de esterilidade das preparações oftálmicas, foram realizadas, em colaboração com o dr. Newton Luis Andreucci, diretor do Serviço de Fiscalização do Exercício Profissional e o dr. Vasco Freitas Barcelos, diretor do Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina, extensas investigações no Instituto Adolfo Lutz.

Tais investigações são parte dos contrôles planejados de medicamentos e de drogas estabelecidos entre o Instituto Adolfo Lutz e o Serviço de Fiscalização do Exercício Profissional, órgãos integrantes do Departamento de Saúde do Estado de São Paulo, visando à defesa e à proteção da saúde pública.

No Brasil, as normas e os padrões para os colírios estatuidos no Terceiro Suplemento da Farmacopéia Brasileira (aprovados pela Portaria n.º n.º 39, de 13-6-1950), estabelecem, entre outras condições, que os colírios líquidos devem ser : perfeitamente límpidos ; isentos de quaisquer partículas em suspensão ; preparados assépticamente ; conservados em recipientes ou ampolas que facilitem o seu uso, diminuindo as possibilidades de poluição, sendo exigida a sua absoluta esterilidade.

The British Pharmaceutical Codex (pag. 1.142/49) exige, também, absoluta esterilidade para as soluções oftálmicas.

A legislação norte-americana pertinente ao assunto data de apenas um ano. Foi somente depois de terem sido publicados numerosos casos de infecções oculares as mais graves, chegando mesmo ao extremo da perda da visão, devidas a soluções oftálmicas não estéreis, que "Food and Drug Ad-

(*) — Trabalho apresentado ao III Congresso Interim Associação Panamericana de Oftalmologia em 12 de junho de 1954.

ministration" publicou, a 15 de janeiro de 1953, em "Federal Register". (Sec. 3.28 Administrative Procedure Act 60 Stat. 273.238 ; 5 U.S.C. 1002), a regulamentação norte-americana que tornou obrigatória a esterilidade dos colírios.

Nessa regulamentação federal norte-americana, "Food and Drug Administration" incriminava as preparações oftálmicas contaminadas como produtoras das mais sérias infecções oculares, tendo "Federal Security Agency" passado a considerar, como de uso perigoso, os colírios não estéreis ficando os fabricantes sujeitos a tôdas penalidades cominadas aos responsáveis por produtos adulterados e fraudados.

De acôrdo, ainda, com essas exigências federais norte-americanas, as preparações oftálmicas, em frascos com doses múltiplas, deverão conter uma ou mais substâncias conservadoras, inócuas, destinadas a prevenir o crescimento dos microrganismos, e terão embalagem capaz de reduzir, ao mínimo, o perigo da poluição do colírio depois de aberto e durante o seu uso.

Embora, em relação a outros requisitos básicos, possam haver opiniões divergentes, a esterilidade das soluções oftálmicas não admite divergência de pareceres, devendo ser rigorosamente isentas de microrganismos, mesmo não patogênicos, pois, conforme afirma GOLDSTEIN (1953) :

"Even when the contaminating microorganism is non-pathogenic, it might alter the medicinal agent or produce irritant substances".

A presença de certos microrganismos, nas soluções oftálmicas, pode assumir aspecto de suma gravidade. Referindo-se, especialmente ao b. piociânico (*P. aeruginosa*) THEODORE (1951), escreve :

"Within the past few months eyedrops were withdraw on two occasions because of contamination with *P. aeruginosa* (*B. pyocyaneus*), an organism which is apt to produce one of most virulent types of corneal ulcer encountered".

Das soluções oftálmicas nas quais Theodore isolou o bacilo piociânico, em uma, substância básica era a sulfanilamida, e, em outra, cortisona. Ambas preparações foram interdidas, tendo sido a sua venda imediatamente proibida. Posteriormente, com MINSKI, êsse autor refere ter encontrado outros colírios, à base de sulfanilâmídicos, contaminados pelo bacilo piociânico, insistindo sôbre as conseqüências da infecção por êsse germe :

"The corneal ulcer resulting from pyocyaneus infections perhaps the most serious we encountered in practice ; even if the eye saved serious loss of vision may occur".

THEODORE e FEINSTEIN (1953), investigaram a esterilidade de numerosas soluções oftálmicas, assinalando a presença do bacilo piociânico em colírios de fluoresceína, eserina, pilocarpina, atropina, cloreto de etilmorfina, cocaína, nupercaína, pantocaína, metilcelulose, cloreto de sódio e até em em água de torneira, colocada em frascos, para lavagens oculares. Assim aquêles autores evidenciaram que êsse germe pode crescer, praticamente, em qualquer espécie de preparação oftálmica, inclusive naquelas contendo antibióticos. Examinando 26 colírios já abertos e em uso em um hospital,

THEODORE (1951) verificou que todos estavam contaminados com o bacilo piociânico, e, examinando 15 que estavam sendo empregados, diariamente, em consultórios de oftalmologistas, verificou que 10 estavam contaminados. MAC CULLOCH observou que, em 18 casos de úlcera córnea originadas por soluções oftálmicas contaminadas, cinco eram devidos ao bacilo piociânico.

As percentagens referidas por Vaughan, nos exames de colírios norte-americanos, antes da legislação atual, revelam que 54% dos mesmos estavam contaminados e, em 12% desses, foi possível comprovar a presença do b. piociânico, de acôrdo com os informes publicados por HIND e SZEKELY (1953).

Na preservação dos colírios, KOSTENBAUDER, GRABLE e MARTIN (1953), aconselham, entre outros preservativos eficazes e inócuos, o clorobutanol, aliás em concordância com Information Service do Journ. Am. Pharm. Ass. (1954) e PARROT, WURTER e BUSSE (1953), recomendam que os colírios sejam distribuídos e expostos à venda em quantidades tão pequenas quanto possível, evitando sejam usados durante muito tempo depois de abertos :

“Thus, the use of sterile preserved ophthalmic solutions which are dispensed in small volume should result in greater safety for the patient”.

A questão do agente antibacteriano foi bem estudada por Hind e Szekely os quais, entre outras condições, acentuam que o preservativo não deverá causar irritação aos tecidos do olho na concentração requerida, deve reter sua atividade em presença dos ingredientes específicos da fórmula, deve esterilizar a solução dentro de 30 a 60 minutos, deve ser antibacteriano e antimicótico, deve ser quimicamente estável e não sujeito à descoloração. Esses autores, com tal finalidade, aconselham o nitrato de fenilmercúrio e o cloreto de benzalcônio.

Tendo em vista a ação preservativa do álcool feniletílico, bem estudada por LILLEY e BREWER (1953), e sua atividade seletiva, BREWER, GOLDSTEIN e MAC LAUGHLIN aconselham a adição desse preservativo, na proporção de 0,5 g por cento, na conservação das soluções oftálmicas, sobretudo para preservá-las contra a poluição pelo bacilo piociânico.

TÉCNICA

Em tôdas as amostras examinadas foi feita semeadura prévia de 1 cm³ em balão (30 cm³), contendo caldo comum a fim de diluir não só o preservativo (bacteriostático ou bactericida), como os compostos químicos que entram na fórmula do colírio. Após agitação para misturar bem, foram semeadas 10 gotas em cada um dos meios de cultura seguintes : agar inclinado ; meio semi-sólido de Hitchens ; meio semi-sólido de Hitchens, com cobertura de vaspar (para anaeróbios) ; meio de Sabouraud sólido ; meio de Sabouraud líquido.

A incubação, feita durante 10 dias em estufa a 37.° C, para os meios de Hitchens e agar inclinado ; incubação à temperatura ambiente, durante 10 dias para os meios de Sabouraud, a fim de comprovar o crescimento de microrganismos aeróbios, anaeróbios e de cogumelos respectivamente.

Na determinação do pH foi empregado o potenciômetro “Cambridge”, tendo sido usados microelctrodos de vidro e de calomelano.

RESULTADOS

Foi investigada a presença de microrganismos aeróbios, anaeróbios e de cogumelos em 290 diferentes espécies de colírios, apreendidos, especialmente, para êsse fim pelos serviços federal e estadual de controle de medicamentos.

Em uma elevada percentagem, 82,75% dos colírios examinados estavam estéreis, pois 240 não demonstraram o crescimento de germes aeróbios, anaeróbios ou cogumelos quando semeados nos meios de cultivo adequados.

O número de colírios não estéreis foi de 50, com uma percentagem de 17,24% de amostras contaminadas.

No quadro abaixo são referidos, com detalhes, os resultados obtidos.

PREPARAÇÕES OFTÁLMICAS EXAMINADAS

BASE PRINCIPAL	Estéreis	Contaminadas	Total
Ácido Bórico e Boratos	13	3	16
Ácido Pírico	3	0	3
Adrenalina	5	1	6
Antibióticos	10	2	12
Atropina	6	5	11
Azul de Metileno	4	2	6
Cortisona	11	1	12
Dionina	8	0	8
Eserina	2	0	2
Homatropina	3	5	8
Iodofórmio	4	0	4
Parafenol	5	0	5
Pilocarpina	8	5	13
Propionatos	8	0	8
Sais de Cobre	3	0	3
Sais de Mercúrio	22	0	22
Sais de Prata	39	5	44
Sais de Zinco	43	14	57
Sulfas	24	3	27
Vitamina A	3	0	3
Diversos	16	4	20
	240	50	290

Nos colírios examinados 82,75% estéreis e 17,24% contaminados.

Com referência aos microrganismos de contaminação trinta e sete colírios estavam contaminados com germes aeróbios; dezessete demonstravam a presença de cogumelos e, em seis, foi possível comprovar a presença concomitante de germes aeróbios e de cogumelos.

Embora vá constituir motivo de outros estudos, devemos referir que a determinação da concentração iônica de 135 preparações oftálmicas revelou que 99 tinham um pH entre 5 e 8, portanto, dentro dos limites prescritos pela Farmacopéia Brasileira; 7 tinham pH abaixo de 5, e 29 pH acima de 8.

O menor pH foi de 2,5 em colírio de sulfato de zinco a 0,5% e o pH mais elevado foi de 9,1 em dois colírios de sulfatiazol sódico e de bacitracina, respectivamente.

DISCUSSÃO

Os regulamentos federais do Brasil exigem esterilidade absoluta para os colírios líquidos.

A Farmacopéia Brasileira estabelece que a esterilidade dos colírios líquidos deverá ser obtida da mesma forma que para os líquidos injetáveis, sendo tolerada a adição de agentes conservadores, tais como o para-oxibenzoato de metilo (0,15 g por cento) ou o clorobutanol até 0,8 g por cento; aconselha não sejam excedidos os limites do pH entre 5,0 e 8,5; informando que são melhor tolerados os colírios de reação iônica aproximada à da lágrima (pH entre 7,8 e 8,2) e tensão osmótica idêntica à da secreção lacrimal, com ponto crioscópico entre 80.°C e 90.° C.

As investigações do presente trabalho se relacionam, exclusivamente, com a esterilidade das soluções oftálmicas. Os vários outros requisitos exigidos para as preparações oftálmicas líquidas tais como: limpidez; ausência de micropartículas, em suspensão, nos solutos oftálmicos; isotonia com a secreção lacrimal; equilíbrio das bases livres; estabilidade química dos componentes; concentração iônica, isoédrica com a secreção lacrimal e com pH ótimo para efeito fisiológico do produto e perfeita identificação dos microrganismos de contaminação, foram motivo de outros trabalhos, já tendo sido referidos alguns resultados no II Congresso Sul Americano Meridional de Oftalmologia (Souto, Alvaro, Viegas — 1954).

Os colírios à base de homatropina apresentaram maior porcentagem de contaminação, pois, dos 8 examinados, 5 não estavam estéreis. As preparações oftálmicas à base de atropina ou de pilocarpina também apresentaram porcentagem elevada de crescimento de germes, enquanto que os compostos de sais de zinco, de prata, de ácido bórico ou de boratos revelaram porcentagens maiores ou menores de contaminação. Em 10 colírios contendo antibióticos estavam contaminados 2: um de bacitracina, outro de penicilina. Com relação aos preparados com sulfas, entre os 24 examinados, 3 demonstraram a presença de microrganismos vivos. Entre 11 à base de cortisona, um estava contaminado. Perfeitamente estéreis 22 preparados oftálmicos com sais de mercúrio; 3 com sais de cobre; 8 com propionatos; 3 com ácido pícrico, e 4 com iodofórmio.

CONCLUSÕES E RESUMO

I — Foram feitas investigações sobre numerosas preparações oftálmicas sendo relatados os resultados obtidos na comprovação no presente trabalho só os da esterilidade de apenas 290 preparações oftálmicas líquidas.

II — Em 290 colírios líquidos, 240 estavam estéreis, seja a porcentagem de 82,75% das amostras examinadas.

III — Dos 50 colírios não estéreis, ou 17,24% dos produtos controlados, havia contaminação, com bactérias aeróbias em 37; com cogumelos em 17; e com bactérias aeróbias e cogumelos em 6.

IV — Alguns colírios contendo sais de prata ou de zinco, antibióticos e sulfanilamídicos demonstraram a presença de microrganismos de contaminação.

V — A determinação de concentração iônica revelou, em 7 colírios, pH abaixo de 5; em 99 entre 5 e 8 (limites da Farmacopéia Brasileira), e em 29 acima de 8. Valores encontrados de pH mínimo: 2,5 (colírio de sulfato de zinco a 0,5%) e máximo 9,1 (colírio de sulfatiazol sódico).

SUMMARY

Investigations were made to prove the sterility of 290 ophthalmic preparations.

240 collyria were sterile, thus representing 82.75% of the examined samples.

In the 50 contaminated collyria, there were present aerobic microorganisms in 37; fungi in 17 and aerobic microorganisms and fungi in 6 samples.

Some of the collyria, containing silver or zinc salts, antibiotics and sulfanilamides, revealed the presence of contaminated microorganisms.

The determination of ionic concentration presented in 7 collyria a pH under 5; in 99 between 5 and 8 (limit of the Brazilian Pharmacopoeia) and in 29 above 8. Values of the minimum pH observed: 2.5 (0.5% zinc sulfate collyrium) and maximum 9.1 (sodium sulfathiazole collyrium).

BIBLIOGRAFIA

- BREWER, J. H., GOLDSTEIN, S. W. e MAC LAUGHLIN, C. B. — 1953 — Phenylethyl alcohol as a bacteriostatic agent in ophthalmic solutions. *Jl. Am. Pharm. Assn. (Scient. Edit.)* 42: 584.
- GOLDSTEIN, S. W. — 1953 — Antibacterial agents in compounded ophthalmic solutions. *Jl. Am. Pharm. Assn. (Pract. Ed.)* 14: 498.
- HIND, H. W. e SZEKELY, I. J. — 1953 — Self sterilizing ophthalmic solutions. *Jl. Am. Pharm. Assn. (Pract. Sec.)* 14: 644.
- HITCHENS, A. P. — 1922 — The advantages of small percentages of agar. *Abst. Bact.* 6: 36.
- KOSTENBAUDER, H. B., GABLE, F. B. e MARTIN, A. N. — 1953 — A buffer system for ophthalmic solutions of sodium sulfonamides. *Jl. Am. Pharm. Assn. (Sc. Ed.)* 42: 210.
- LILLEY, B. B. e BREWER, J. H. — 1953 — The selective antibacterial action of phenylethyl alcohol. *J. Am. Pharm. Assn. (Scient. Edit.)* 42: 6.
- MC CULLOCH, J. C. — 1943 — Origin and pathogenicity of *Pseudomonas pyocynea* in conjunctival sac. *Arch. Ophth.* 29: 924-934.
- PARROT, E. L., WURTER, D. E. e BUSSE, L. W. — 1953 — The preparations of sterile ophthalmic solutions. *Jl. Am. Pharm. Assn. (Sc. Sec.)* 14: 645.

- SOUTO, A. B., ÁLVARO, M. E. e VIEGAS, J. A. — 1954 — Investigações microfluidoscópicas sobre preparações oftálmicas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **14** :
- THEODORE, F. H. — 1951 — Contamination of eye solutions. *Am. Jl. of Ophthalmol.* **34** : 1764.
- THEODORE, F. H. e FEINSTEIN, R. R. — 1953 — Practical suggestion for the preparation and maintenance of sterile ophthalmic solutions. *Am. Jl. Ophthalmol.* **35** : 656.
- THEODORE, F. H. e MINSKY, H. — 1951 — Lack of sterility of eye medicaments. *Jl. Am. Med. Assn.* **147** : 1381.
- VAUGHAN. Cit. por Hind e Szekely.
- — 1914 — Information Service. *Jl. Am. Pharm. Assn.* **15** : 134.

