



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**EFICÁCIA DAS SOLUÇÕES MULTIUSO PARA LENTES DE CONTATO, UM
ESTUDO *IN VITRO* SOBRE A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS
SOLUÇÕES SOB A FORMA PLANCTÔNICA DE MICRORGANISMOS E EM
MODELOS DE BIOFILME.**

ALUNA: JAMILE REIMANN MENDONÇA

ORIENTADOR: PROF. DR. FELIPE FRANCISCO BONDAN TUON

CURITIBA
JANEIRO 2024



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Dissertação de mestrado acadêmico
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde como
requisito parcial para obtenção do título
de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Francisco
Bondan Tuon

CURITIBA
JANEIRO 2024

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central
Sônia Maria Magalhães da Silva – CRB 9/1191

M539e
2024

Mendonça, Jamile Reimann
Eficácia das soluções multiuso para lentes de contato, um estudo in vitro sobre a atividade antimicrobiana das soluções sob a forma planctônica de microrganismos e em modelos de biofilme / Jamile Reimann Mendonça ; orientador: Felipe Francisco Bondan Tuon. – 2024.
62 f. ; il. : 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2024
Bibliografia: f. 58-61

1. Ceratite microbiana. 2. Úlcera da córnea. 3. Lentes de contato. 4. Soluções para lentes de contato. 5. Ciências médicas. I. Tuon, Felipe Francisco Bondan. II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD. 20. ed. – 610



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Escola de Medicina e Ciências da Vida
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE MESTRADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.

Aos 07 dias do mês de dezembro de 2023 às 15:00, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação "EFICÁCIA DAS SOLUÇÕES MULTIUSO PARA LENTES DE CONTATO, UM ESTUDO IN VITRO SOBRE A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS SOLUÇÕES SOB A FORMA PLANCTÔNICA DE MICRORGANISMOS E EM MODELOS DE BIOFILME" apresentado por **Jamile Reimann Mendonça** para obtenção do título de mestre; Área de concentração: Pesquisa Médica Translacional.

A banca examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Prof. Dr. Felipe Francisco Bondan Tuon - Presidente	<i>Felipe Tuon</i>
Profa. Dra. Andrea Novais Moreno Amaral - PUCPR	<i>[Assinatura]</i>
Profa. Dra. Luciane Bugmann Moreira de Oliveira - UFPR	<i>Luciane Moreira</i>

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. Dr. Felipe Francisco Bondan Tuon
Profa. Dra. Andrea Novais Moreno Amaral
Profa. Dra. Luciane Bugmann Moreira de Oliveira

Conceito: *Aprovada*
Conceito: *Aprovada*
Conceito: *aprovado*

Parecer Final: *Aprovada.*

Observações da Banca Examinadora:

Felipe Tuon
Prof. Dr. Felipe Francisco Bondan Tuon
Presidente da Banca Examinadora

[Assinatura]
Profa. Dra. Cristina Pellegrino Baena
Coordenadora do PPGCS-PUCPR

Identificação da Banca

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Saúde Mestrado

Área de Concentração: Pesquisa Médica Translacional

Linha de Pesquisa: Biofilmes

Composição da Banca:

Presidente: Prof. Dr. Felipe Francisco Bondan Tuon

Membro: Prof. Dra Luciane Bugmann Moreira

Membro: Prof. Dra. Andrea Moreno

Suplente: Prof. Dr. Paulo Kotze

Folha Informativa

A dissertação foi elaborada seguindo a normatização estabelecida pela ABNT. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Doenças Infecciosas Emergentes (Laboratory of Emerging Infectious Diseases LEID), do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da PUCPR em colaboração com o Prof. Dr. Felipe Francisco Bordan Tuon e sua equipe. Declaramos que não há conflito de interesse na realização da presente dissertação.

Agradecimentos

Agradeço a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho direta e indiretamente. Tivemos a ajuda de várias pessoas, compondo as peças de grande um “quebra-cabeça”.

Agradeço em especial ao meu orientador Prof. Dr. Felipe Francisco B. Tuon pela orientação e empenho, pela sua praticidade em resolver as coisas, fazendo coisas difíceis parecerem fáceis...Agradeço também a Letícia Dantas, sempre muito prestativa, pela sua colaboração com o trabalho.

Agradeço a Prof. Cristina Baena, sempre muito acessível e prestativa.

Agradeço as secretárias da PUC Paula e Vanessa, sempre muito solícitas. Prontamente esclarecendo as dúvidas que surgiam....

Agradeço também ao meu esposo Celso Junio Aguiar Mendonça, pelo seu carinho e amor, e pelo incentivo de sempre seguir adiante....

Agradeço a Divindade...

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais João Carlos Reimann e Zélia Moreira Reimann, que transmitiram os ensinamentos necessários para que eu me tornasse a pessoa que hoje sou...

Comece fazendo o necessário,
depois o que é possível,
e de repente você fará o impossível.

(São Francisco de Assis)

Resumo

Introdução: O uso das lentes de contato tem aumentado progressivamente em todo o mundo, com o surgimento de novas tecnologias e novos desenhos ampliaram-se as indicações para correção visual tanto para córneas regulares como em córneas irregulares (como no caso de portadores de ceratocone, pós-transplante de córnea, pós-trauma corneano). Com o uso das lentes de contato tanto rígidas gás-permeáveis como lentes gelatinosas podem surgir complicações, sendo a mais grave a ceratite microbiana (infecção na córnea) que pode evoluir para úlcera de córnea. Apesar do uso de soluções multiuso específicas para lentes de contato, e orientações dadas aos pacientes, estas infecções permanecem sendo uma realidade em nosso meio.

Objetivo: Avaliar a eficácia antimicrobiana de algumas soluções multiuso para lentes de contato disponíveis no mercado brasileiro, sobre as células planctônicas e sésseis em modelos de biofilme dos microrganismos mais frequentemente relacionados a ceratite microbiana associada ao uso de lentes de contato. **Método:** Os microrganismos utilizados foram *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans* e foram testados individualmente de duas formas: pela análise quantitativa de células viáveis por contato direto (avaliação da atividade antimicrobiana sobre as células planctônicas) e pela análise de atividade antimicrobiana sobre biofilme já formado. Foram testadas quatorze soluções multiuso para lentes de contato, utilizando como orientação para o tempo de contato o tempo mínimo de desinfecção recomendado pelo fabricante (Manufacturer's Minimum Recommended Disinfecting Time ou MMRDT). Foi atribuída numeração de 1 a 14 as soluções, para realização dos testes. **Resultados:** Considerando os critérios para aprovação das soluções de lentes de contato utilizados pelo FDA/ISO, como a redução de 3 log para contagem de bactérias e redução de 1 log para fungos obteve-se os seguintes resultados: na avaliação da ação antimicrobiana sobre a forma direta (forma planctônica) obteve-se como resultado principal que as soluções que tiveram melhor resultado considerando a abrangência simultânea aos 4 microrganismos foram: solução 3 (Limp Lent®), 4 (Bio True®), 7 (Opti Free Replenish®), 8 (Opti Free Pure Moist®), 13 (Clear Lentes Solução Limpadora®) e 14 (Boston Simplus®). Em relação a ação das soluções sobre o biofilme formado, com exceção das soluções 05 (Opto Care®), 06 (Única Sensitive), 07 (Opti Free Replenish®), 08 (Opti Free Pure Moist®), 11 (Renu Fresh®) e 14 (Boston Simplus®), as quais conseguiram uma redução significativa no biofilme da *S. marcescens*, as demais soluções foram ineficazes para reduzir o biofilme formado em todos os demais microrganismos. **Conclusão:** As soluções multiuso para lentes de contato forneceram maior atividade bactericida e/ou fungicida em células planctônicas do que em biofilmes. A concentração mínima de erradicação do biofilme foi alcançada apenas no biofilme da *S. marcescens*.

Palavras-chaves: ceratite microbiana, úlcera de córnea, soluções multiuso para lentes de contato, lentes de contato, desinfecção.

Abstract

Introduction: The use of contact lenses has progressively increased all over the world, with the emergence of new technologies and new designs, the indications for visual correction have expanded both for regular and irregular corneas (as in the case of keratoconus patients, after corneal keratoplasty, after corneal trauma). Complications can arise with the use of both rigid gas permeable contact lenses and soft lenses, the most serious being microbial keratitis (corneal infection) that can progress to corneal ulcer. Despite the use of specific multipurpose solutions for contact lenses, and guidance given to patients, these infections remain a reality in our country. **Objective:** To evaluate the antimicrobial effectiveness of some multipurpose solutions available in the Brazilian market, on planktonic and sessile cells in the biofilm models of the microorganisms most frequently related to microbial keratitis associated with the use of contact lenses. **Method:** The microorganisms used were *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans* and were tested individually in two ways: by quantitative analysis of viable cells by direct contact (assessment of antimicrobial activity on planktonic cells) and by analysis of antimicrobial activity on already formed biofilm. Fourteen multipurpose solutions for contact lenses were tested, using as guideline for contact time the minimum disinfecting time recommended by the manufacturer (Manufacturer's Minimum Recommended Disinfecting Time or MMRDT). **Results:** Considering the criteria for evaluating lens solutions used by the FDA, such as a 3 log reduction for bacterial counts and a 1 log reduction for fungi, the following results were obtained: in the form of direct antimicrobial action the main result was that the solutions that had the best simultaneous coverage to the 4 microorganisms were: solution 3 (Limp Lent®), 4 (Bio True®), 7 (Opti Free Replenish®), 8 (Opti Free Pure Moist®), 13 (Clear Lens Cleaning Solution®) and 14 (Boston Simplus®). In relation to the action of the solutions on the biofilm, except for solutions 5 (Opto Care®), 06 (Única Sensitive), 07 (Opti Free Replenish®), 08 (Opti Free Pure Moist®), 11 (Renu Fresh®) e 14 (Boston Simplus®) that achieved a significant reduction in the biofilm of *S. marcescens*, the other solutions were ineffective to reduce the biofilm formed in all other microorganisms. **Conclusion:** Multipurpose contact lens solutions provided greater bactericidal and/or fungicidal activity on planktonic cells than on biofilms. The minimal eradication biofilm concentration was only achieved for the *S. marcescens* biofilm.

Keywords: microbial keratitis, corneal ulcer, multipurpose solutions for contact lenses, contact lenses, disinfection.

Resumo Popular

Atualmente sabe-se que o uso das lentes de contato rígidas gás-permeáveis (também conhecidas como “lentes dura”) e lentes gelatinosas tem aumentado em todo o mundo, e com isto aumenta também o risco de complicações relacionadas a este uso, sendo a principal e mais temida a infecção da córnea também conhecida como ceratite microbiana ou úlcera de córnea.

A úlcera de córnea muitas vezes pode levar a um transplante de córnea, baixa de visão ou mesmo cegueira.

Um grupo de pesquisadores quis saber quão bem várias soluções de limpeza para lentes de contato, que estavam disponíveis em farmácias em maio de 2021, funcionavam contra bactérias e fungos. Eles fizeram testes em laboratório.

Eles testaram essas soluções de duas maneiras diferentes: uma vez para ver como elas lidavam com bactérias e fungos soltos (chamados de células planctônicas), e outra vez para ver como funcionavam contra esses microrganismos que já estavam grudados uns nos outros e em superfícies (chamado de biofilme). Eles usaram quatro tipos de microrganismos que geralmente estão relacionados a problemas de córnea causados pelo uso de lentes de contato.

Os resultados mostraram que as soluções de limpeza foram melhores em matar os microrganismos soltos do que aqueles que estavam agrupados no biofilme.

Os pesquisadores sugerem que os médicos devem orientar os pacientes sobre como cuidar bem de suas lentes de contato, estojos e ventosas para evitar que esses microrganismos formem o biofilme.

Nestas orientações estão incluídas algumas medidas como lavar e secar as mãos antes de manusear as lentes, descartar as lentes no tempo correto determinado pelo fabricante, trocar as ventosas e estojos a cada 03 meses. Realizar a fricção das lentes de contato com a solução multiuso após a retirada dos olhos e enxaguá-las, antes de fazer a desinfecção (passo em que se deixa a lente mergulhada na solução). Não dormir com as lentes, e não ter contato com água.

Isso reduziria o risco de desenvolver o biofilme e consequentemente o risco de ter uma úlcera na córnea.

Lista de Siglas e Abreviaturas

ALDOX:	Miristamidopropil Dimetilamina
ATCC:	American Type Culture Collection
B&L:	Bausch & Lomb
DP:	Desvio padrão
DYMED:	Poliaminopropil Biguanida
EC:	Comissão Européia, do inglês European Commission
EUA:	Estado Unidos da América do inglês United States of America
FDA:	Administração de alimentos e medicamentos, do inglês Food Drug Administration
IIQ:	Intervalo Inter Quartil
ISO:	Organização Internacional de Padronização, do inglês International Organization for Standardization
LC:	Lente de Contato
LEID:	Laboratório de Doenças Infecciosas Emergentes, do inglês Laboratory of Emerging Infectious Diseases
MRSA:	Estafilococcus aureus resistente a meticilina, do inglês methicillin-resistant Staphylococcus aureus
MMRDT:	Tempo mínimo de desinfecção recomendado pelo fabricante, do inglês Manufacturer's Minimum Recommended Disinfecting Time
POLQUAD:	Poliquaternarium
PVP:	Povinilpirrolidona
RGP:	Rígida Gás-Permeável
US:	Estados Unidos, do inglês United States

Lista de Figuras

FIGURA 1: Modelo Sistemático da formação do biofilme.....	22
FIGURA 2: Fluxograma da análise quantitativa de células viáveis por contato direto	29
FIGURA 3: Fluxograma da análise da ação antimicrobiana sobre o biofilme.....	31
FIGURA 4: Exemplo de estojo padronizado com corante cristal violet	32

Lista de Gráficos

GRÁFICO 1: Atividade antimicrobiana sobre as células planctônicas do <i>S. aureu</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>P. aeurginosa</i> , <i>C. albicans</i>	34
GRÁFICO 2: Atividade antimicrobiana sobre o biofilme do <i>S. aureus</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i>	40

Lista de Tabelas

TABELA 1: Soluções Multiuso e MMRDT	27
TABELA 2: Correspondência entre número utilizado e as respectivas soluções multiuso e seu laboratório fabricante.....	28
TABELA 3: Atividade antimicrobiana das soluções sobre a forma planctônica do <i>S. aureus</i>	35
TABELA 4: Atividade antimicrobiana das soluções sobre a forma planctônica da <i>S. marcescens</i>	36
TABELA 5: Atividade antimicrobiana das soluções sobre a forma planctônica da <i>P. aeruginosa</i>	37
TABELA 6: Atividade antimicrobiana das soluções sobre a forma planctônica da <i>C. albicans</i>	38
TABELA 7: atividade antimicrobiana das soluções sobre o Biofilme do <i>S. aureus</i>	41
TABELA 8: Atividade antimicrobiana das soluções sobre o Biofilme da <i>S. marcescens</i>	42
TABELA 09: Atividade antimicrobiana das soluções sobre o Biofilme da <i>P. aeruginosa</i>	43
TABELA 10: Atividade antimicrobiana das soluções sobre o Biofilme da <i>C. albicans</i>	44
TABELA 11: Efetividade antimicrobiana das soluções.....	45

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. ESTADO DA ARTE	
2.1 O uso das lentes de contato e o risco de ceratite microbiana.....	16
2.2 Formação do Biofilme.....	19
2.2.1 Formação do Biofilme: Fase 1.....	20
2.2.2 Formação do Biofilme: Fase 2.....	21
3. JUSTIFICATIVA.....	24
4. OBJETIVOS	
4.1 Objetivo Geral.....	25
4.2 Objetivos Específicos.....	25
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
5.1 Análise da atividade antimicrobiana direta.....	28
5.2 Análise da atividade antimicrobiana sobre o biofilme.....	30
5.3 Análise Estatística.....	32
6. RESULTADOS	33
6.1 Análise da atividade antimicrobiana direta.....	33
6.2 Análise da atividade antimicrobiana sobre o biofilme.....	38
7. DISCUSSÃO.....	46
7.1 Limitações do estudo.....	55
8. CONCLUSÃO.....	56

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
11. APÊNDICES OU ANEXOS.....	62
11.1 Primeira página do artigo publicado.....	62

1.Introdução

Hoje em dia sabe-se que o uso das lentes de contato constitui um dos principais fatores de risco para ceratites e úlceras corneanas (infecções na córnea) (KACKAR; SUMAN; KOTIAN, 2017). As úlceras corneanas são um defeito do epitelial que cursam com infecção e inflamação, e podem levar a necrose estromal. Hoje sabemos que infecções e úlceras de córnea podem levar a cegueira, a baixa de visão residual, ou mesmo a necessidade de tratamentos prolongados e onerosos que podem culminar em um transplante de córnea (FARAHANI; PATEL; DWARAKANATHAN, 2017).

De acordo com um estudo realizado em Taiwan em 2018, a ceratite microbiana é a complicação mais séria dos usuários de lentes de contato, com uma taxa de infecção de 4 a 6 a cada 10.000 usuários de lentes. O risco de perda de visual devido a ceratite microbiana relacionada ao uso de lentes de contato está entre 0.3 e 0.9 a cada 10.000 usuários se considerarmos todos os tipos de lentes de contato. E cerca de 3.6 a cada 10.000 usuários se forem usadas lentes de silicone hidrogel de uso contínuo por 30 dias seguidos (incluindo uso noturno) (HSIAO *et al.*, 2018).

Segundo um estudo realizado em São Paulo, dependendo do desenho do estudo e de sua localização, os usuários de lentes de contato podem alcançar taxas de 12% a 66% de todos os eventos de ceratites microbianas (AGI *et al.*, 2021).

A formação do biofilme sobre lentes de contato e sobre os estojos pode ser um fator de risco ao desenvolvimento de infecções corneanas relacionadas ao uso de lentes de contato (KACKAR; SUMAN; KOTIAN, 2017).

O biofilme constitui-se de uma camada de matriz extracelular que age protegendo microcolônias de bactérias aderidas sobre superfícies sólidas (MORAES *et al.*, 2013).

O estudo realizado por Retuerto *et al.* acessou o microbioma aderido as lentes de contato usadas e definiu as comunidades bacterianas associadas com o uso de soluções para lentes. Embora a maioria das lentes testadas abrigavam DNA bacteriano, se compararmos com o peróxido, as lentes guardadas em soluções preservadas com polihexametilbiguanida apresentavam comunidades bacterianas mais quantificáveis, abundantes e com maior diversidade, aderidas as lentes de contato. Dentro das lentes que apresentavam DNA bacteriano negativo, a maioria (80%), eram de lentes usadas em participantes que estavam usando soluções com peróxido. Isto é, havia mais DNA bacteriano presente nas lentes de participantes usando as soluções multiuso para lentes de contato (RETUERTO *et al.*, 2019).

Atualmente no Brasil não existe mais a comercialização de soluções que tem em sua composição o peróxido de hidrogênio, existem outras soluções para lentes de contato formuladas com composições variadas, algumas com polihexametilbiguanida como principal agente, e outras com associações de componentes, variando bastante segundo cada fabricante. A partir deste contexto, faz-se necessário um conhecimento mais profundo sobre a real eficácia da ação antimicrobiana de algumas das soluções para lentes de contato disponíveis hoje no mercado brasileiro.

O presente estudo buscou avaliar da ação antimicrobiana de algumas soluções para lentes de contato disponíveis no mercado brasileiro, sobre a forma planctônica de microrganismos e sobre o biofilme.

2. Estado da Arte

2.1 O Uso das lentes de contato e a ceratite microbiana

Segundo um estudo realizado na Alemanha em 2020, o uso de lentes de contato vem aumentando progressivamente em todo o mundo, estima-se que este número esteja entre 125 e 140 milhões de usuários em todo o mundo (HOENES; SPELLERBERG; HESSLING, 2020). Nos países desenvolvidos este número pode chegar a 10% da população (ZAKIROVA; SAMOYLOV; RASCHEKOV, 2021).

O aumento do número de usuários deve-se não somente pelo uso estético com lentes de contato gelatinosas quando se tem o objetivo de não usar óculos, mas também com a finalidade de reabilitação visual nos casos em que os óculos não conseguem dar uma boa visão aos pacientes. Nesta situação faz-se necessário o uso de lentes rígidas gás-permeáveis, como ocorre em casos de portadores de ceratocone e pacientes pós-transplante de córnea (OZKURT *et al.*, 2012). Pacientes com história de trauma ocular (lacerações, perfurações corneanas) frequentemente permanecem com cicatrizes e irregularidades corneanas que resultam em astigmatismo irregular e assimétrico. Nestes casos existe a necessidade da adaptação de lentes rígidas gás-permeáveis corneanas para obterem uma melhora da acuidade visual, e em casos mais severos com maiores irregularidades, pode existir a necessidade de adaptação de lentes esclerais (lentes rígidas gás-permeáveis de grande diâmetro e apoio escleral) (ERDINEST *et al.*, 2021).

De acordo com estudo de revisão bibliográfica realizado por esta pesquisadora, muitos pacientes submetidos ao transplante de córnea com a finalidade de melhorar a transparência corneana não obtêm uma visão satisfatória após o procedimento. Isto ocorre porque em muitos casos os pacientes permanecem com astigmatismo irregular e assimétrico, sendo que a visão com óculos frequentemente não é satisfatória. Esses casos

necessitam do uso de lentes de contato rígidas gás-permeáveis, muitas vezes com desenhos especiais, para obterem uma visão satisfatória ou que lhes permita exercer uma atividade laborativa (MENDONÇA J; FORMENTIN L, 2020).

Além disso, o uso da ortoceratologia (lentes rígidas gás-permeáveis de uso noturno com finalidade de correção reversível do grau) tem se propagado bastante mundialmente, tanto para correção de graus já estabelecidos como também para uso no controle da progressão da miopia (BULLIMORE; JOHNSON, 2020). Além da ortoceratologia, também existe o recurso do uso de lentes de contato gelatinosas especiais para retardar a progressão da miopia em crianças e adolescentes (WALLINE *et al.*, 2013).

Mohammadinia *et al.*, descreveu em seu estudo que a limpeza e o enxague das lentes de contato prévio a desinfecção pode remover 90% dos microrganismos, a não aderência a este passo entre os usuários de lentes de contato é alta. Ou seja, nem sempre os usuários limpam as lentes antes da desinfecção e cerca de 44% deles não lavam as mãos antes de manusear as lentes, isto indica a importância de uma boa desinfecção (MOHAMMADINIA *et al.*, 2012).

Em um estudo realizado na Croácia publicado em 2014, a percentagem de pacientes que não seguem as orientações médicas no sentido de ter um bom cuidado com as lentes de contato está entre 40 e 91%, sendo a falta de cuidado com os estojos o mais comum. Os estojos das lentes de contato é o item mais frequentemente contaminado do sistema de uso das lentes de contato, sendo a contaminação encontrada em até 80% dos estojos. Consequentemente, a contaminação dos estojos tem sido identificada como o principal fator de risco para a ceratite (KUZMAN *et al.*, 2014).

Segundo Hsiao, Yu Ting *et al.* a maioria dos pacientes são alertados para a necessidade de cuidados com a limpeza das lentes, mas a atitude deles em relação aos acessórios

usados está muito aquém do satisfatório. Mais de 60% dos pacientes apresentaram pelo menos um dos seguintes itens contaminados: lentes, estojo das lentes ou ventosa. Sendo os estojos das lentes o item mais frequentemente contaminado (cerca de 39%) (HSIAO *et al.*, 2018).

Hoje sabemos que a complicação mais temida para os usuários de lentes de contato são as infecções corneanas, que se iniciam com infiltrados corneanos provocando uma ceratite microbiana que podem evoluir para úlcera do córnea, trazendo prejuízo não somente ao paciente com a perda visual parcial ou total, mas também trazendo gastos financeiros ao paciente e ao sistema que muitas vezes precisa arcar com os custos de tratamentos prolongado e oneroso, que em muitos casos pode incluir internações hospitalares para o tratamento de úlceras mais graves ou para a realização de um transplante de córnea (FARAHANI; PATEL; DWARAKANATHAN, 2017).

Em um estudo realizado nos Estados Unidos sobre úlceras corneanas, foi relatado que o uso de lentes de contato e o uso abusivo delas, é o principal fator de risco para ceratite bacteriana. Dentre os pacientes com ceratite bacteriana comprovada, 19 a 42% são usuários de lentes de contato. Dormir com as lentes de contato e higiene pobre delas aumentam o risco de ceratite. As ceratites e úlceras corneanas relacionadas ao uso de lentes de contato são mais frequentemente causadas por bactérias, sendo a *Pseudomonas aeruginosa* o patógeno mais frequente. Outras causas atípicas incluem fungos e *Acanthamoeba*, que também são mais comuns em usuários de lentes de contato (FARAHANI; PATEL; DWARAKANATHAN, 2017). Embora a *Acanthamoeba* e os fungos representem uma porção pequena do número total das ceratites microbianas, eles geram proporcionalmente casos mais severos (CARNT *et al.*, 2017).

De acordo com Kal Ali *et al.* entre as ceratites microbianas causadas pelo uso de lentes de contato, o patógeno mais frequentemente encontrado é a *Pseudomonas aeruginosa*, seguida do *Staphylococcus aureus*. A *P. aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa oportunista, distribuída em muitos ambientes, inclusive na água. A ceratite microbiana relacionada ao uso de lentes de contato causada por *P. aeruginosa*, é muitas vezes de difícil tratamento, o que pode estar relacionado a resistência a drogas e antibióticos. A bactéria gram-positiva *S. aureus* pode facilmente ser transmitida da pele das mãos, pele do rosto e mucosa nasal para os olhos. É uma das causas mais frequentes de úlceras corneanas periféricas associada ao uso de lentes de contato (KAL; TOKER; KAYA, 2017).

Em um estudo retrospectivo brasileiro de três décadas, sobre ceratite microbiana relacionada ao uso de lentes de contato, houve maior prevalência de ceratite microbiana associada à lente de contato em mulheres e adultos jovens entre 19 e 40 anos. *Staphylococcus spp.* e *Fusarium spp* foram as bactérias e fungos predominantes isolados nas amostras de córnea. *Pseudomonas spp* e *Acanthamoeba spp* foram significativamente correlacionados a ceratite microbiana associada à lente de contato neste estudo (AGI *et al.*, 2021).

2.2 Formação do Biofilme

Atualmente sabe-se que a adesão e colonização por microrganismos, particularmente por bactérias e fungos, tanto sobre as lentes de contato como também sobre os estojos de armazenamento, ou mesmo sobre as ventosas utilizadas para retirada de lentes rígidas gás- permeáveis, todos são passíveis de colonização e potenciais fontes de infecção ocular (HSIAO *et al.*, 2018). Frequentemente estes microrganismos tendem a formar biofilme

sobre uma superfície colonizada, ou seja, o que caracteriza a formação do biofilme é justamente a adesão à superfície e/ou adesão entre os próprios microrganismos. Sendo que a formação deste biofilme implica em um aumento da resistência aos antibióticos quando comparado a forma planctônica (forma livre de crescimento) (KACKAR; SUMAN; KOTIAN, 2017).

De acordo com Dosler *et al.* quando as bactérias na forma planctônica (forma livre) encontram a superfície das lentes de contato, primeiramente elas estabelecem micro colônias que corresponde a um estágio inicial da formação do biofilme. Biofilme é uma comunidade de microrganismos que adere a superfícies bióticas ou abióticas e produz polissacarídeos extracelulares. As células dos microrganismos que crescem no biofilme (forma sésil) são fisiologicamente diferentes das células planctônicas deste mesmo microrganismo. As bactérias sésseis dos biofilmes são mais resistentes aos antibióticos, desinfetantes e aos mecanismos de defesa do hospedeiro. O desenvolvimento do biofilme maduro em superfícies de lentes de contato tem sido associado a ceratite em humanos e em modelo animal (DOSLER *et al.*, 2020).

A adesão dos microrganismos aos diversos biomateriais e a formação do biofilme na superfície dos mesmos são passos fundamentais para a patogênese das infecções. A adesão, após contato, ocorre em duas fases distintas inicialmente, pela atração física do germe ao implante (fase reversível); e tardiamente, caracterizada pela interação celular e molecular com a superfície do biomaterial (fase irreversível) (MORAES *et al.*, 2013).

2.2.1 Formação do Biofilme: Fase 1

A adesão bacteriana a superfícies ocorre inicialmente pela atração de células a esta superfície, seguida de adsorção e aderência. As bactérias se movem ou são movidas para

a superfície de um material através do efeito de forças físicas, como o movimento browniano, força de atração de Van der Waals, força gravitacional, efeito de carga eletrostática da superfície e interações hidrofóbicas. A quimiotaxia e haptotaxia podem contribuir para este processo (KATSIKOIANNI *et al.*, 2004).

Nesta fase ainda não houve interação molecular entre o microrganismo e o biomaterial e não há formação de biofilme, é considerada uma fase reversível, sendo que medidas físicas como a lavagem, defesas do hospedeiro e antimicrobianos são capazes de evitar a evolução da infecção (MORAES *et al.*, 2013).

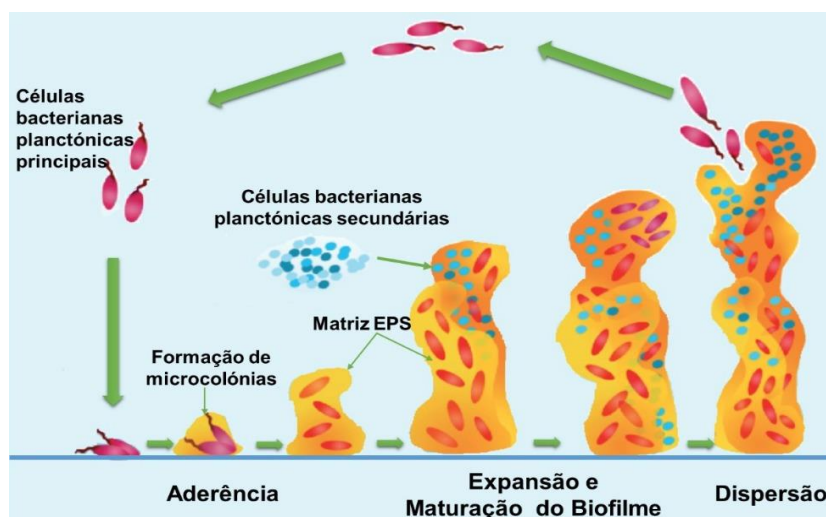
2.2.2 Formação do Biofilme: Fase 2

Nesta segunda fase de adesão, reações moleculares específicas entre as estruturas da superfície bacteriana e o substrato de uma superfície são predominantes. Isto implica em firme adesão da bactéria a uma superfície através de estruturas poliméricas que ficam em sua superfície como cápsulas e fímbrias. De fato, a parte funcional destas estruturas são as adesinas, especialmente quando o substrato é o tecido hospedeiro (KATSIKOIANNI *et al.*, 2004).

Durante as várias fases da infecção, diferentes genes são expressos, o que possibilita:

1. O tropismo do microrganismo a localidades anatômicas específicas;
2. A capacidade das células de se organizarem em biofilmes com matrizes extracelulares;
3. O rompimento do biofilme, uma vez que a densidade celular adequada é obtida permitindo-se a disseminação da infecção a sítios adjacentes (MORAES *et al.*, 2013)(Figura 1).

Figura 1: Modelo sistemático da formação do biofilme



Fonte : <https://farmaceuticodigital.com/2021/09/biofilmes.html>
Disponível em 19/06/2022

Os organismos no biofilme mudam suas taxas metabólicas e reprodutivas, tornando-se mais resistentes a desinfecção, sendo que muitos produtos utilizados para a desinfecção das lentes de contato focam apenas nas células em crescimento. Sendo assim as células planctônicas, que são usadas pelo guia da Administração de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos (US FDA), para testar as soluções de desinfecção de lentes de contato, são muito mais fáceis de serem mortas do que as células do biofilme (CHO; BOOST, 2019).

Atualmente o FDA preconiza que para uma solução de lentes de contato ser aprovada é necessário ser comprovada uma redução de 3 log de concentração para bactérias e 1 log de concentração para fungos, sob as formas planctônicas somente (BOOST; CHO; LAI, 2006).

Tanto o FDA nos Estados Unidos como a Comissão Europeia (EC) na Europa, ambos são responsáveis pela administração das regulamentações em estudos pré-clínicos e

estudos clínicos anterior ao registro e aprovação das lentes de contato e das soluções para lentes de contato, em suas respectivas localizações. As regulamentações das diretrizes da Organização Internacional de Padronização (ISO) são reconhecidas e seguidas por ambos (ZAKI; PARDO; CARRACEDO, 2019).

As diretrizes do ISO 14729 são o padrão usado na indústria para demonstrar a atividade de desinfecção das soluções de lentes de contato contra os microrganismos. De acordo com estas diretrizes, como critério primário padrão, uma solução de lentes de contato que tenha atividade antimicrobiana deve ser capaz de reduzir a viabilidade da concentração de espécies de bactérias (*S. aureus*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*) em 3 log e espécies de fungos (*C. albicans* e *Fusarium solani*) em 1 log, de acordo com o tempo mínimo de desinfecção recomendado pelo fabricante (MMRDT) (MOHAMMADINIA *et al.*, 2012).

Poucos estudos tem determinado a efetividade das soluções de lentes de contato sobre o biofilme (CHO; SHI; BOOST, 2015). Não existe uma regulamentação internacional sobre a habilidade e/ou capacidade das soluções de lentes de contato prevenirem ou desfazerem a formação do biofilme (CHO; BOOST, 2019).

3. Justificativa

Atualmente sabe-se que o uso das lentes de contato constitui um dos principais fatores de risco para ceratites e úlceras corneanas (infecções na córnea). Hoje sabemos que infecções e úlceras de córnea podem levar a cegueira, a baixa de visão residual, ou mesmo a necessidade de tratamentos prolongados e onerosos que podem culminar em um transplante de córnea.

Existe atualmente na literatura comprovação da associação da formação do biofilme com o risco de uma ceratite microbiana. Tendo em vista que muitos pacientes não seguem as orientações médicas relacionadas a higiene e cuidados com as lentes e acessórios, o risco de contaminação e desenvolvimento do biofilme se torna maior.

A partir deste contexto, faz-se necessário um conhecimento mais profundo sobre a real eficácia da ação antimicrobiana de algumas das soluções para lentes de contato hoje disponíveis no mercado brasileiro. Esta ação antimicrobiana será verificada tanto sobre a forma planctônica dos microrganismos como também sobre o biofilme formado.

4. Objetivos

4.1 Objetivo Geral

Este estudo tem por objetivo principal avaliar a eficácia antimicrobiana de algumas soluções para lentes de contato hoje disponíveis no mercado brasileiro, sejam elas específicas para lentes de contato rígidas gás-permeáveis ou para lentes de contato gelatinosas. Utilizaremos quatro patógenos que estão entre os mais frequentemente relacionados a ceratite microbiana relacionada ao uso das lentes de contato: (*S. aureus*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*).

4.2 Objetivos Específicos

Avaliar a ação das soluções para lentes de contato de duas formas, sobre a forma direta (concentrado de microrganismos) e sobre o biofilme formado.

Na ação antimicrobiana sobre forma direta (células planctônicas):

Avaliar se houve redução na concentração de 3 log para bactérias.

Avaliar se houve redução na concentração de 1 log para fungos.

Sob o biofilme formado: utilizaremos os mesmos critérios da análise antimicrobiana direta, por não existir critério internacional estabelecido para avaliação do biofilme.

5. Material e Métodos

Para a realização deste estudo *in vitro* foram realizados testes em laboratório divididos em duas fases:

1. análise da atividade antimicrobiana direta;
2. análise da atividade antimicrobiana das soluções para lentes de contato sobre o biofilme já formado.

Em todos os testes, o tempo de exposição das células bacterianas ou fúngicas e do biofilme com as soluções para lentes de contato foi definido de acordo com fabricante, que varia entre 4 e 6 h (Tabela 1).

Para a realização deste estudo foram utilizadas soluções multiuso que estavam disponíveis em farmácia na data de maio de 2021, um total de quatorze soluções (Tabela 1), tanto para lentes de contato rígidas gás-permeáveis como para lentes gelatinosas.

A tabela 2 apresenta o número que designamos para cada solução para realizarmos o nosso estudo.

Tabela 1: Soluções Multiuso e o MMRDT

LABORATÓRIO	SOLUÇÃO	FINALIDADE	COMPOSIÇÃO DESINFECÇÃO	MMRDT
ALCON	OPTI FREE PURE MOIST®	LCG	EDTA, DESINFECÇÃO DUPLA POLIQUAD (POLIQUATERNARIUM-1) 0,001% E ALDOX (MIRISTAMIDOPROPIL DIMETILAMINA) 0,0006%	06 h
	OPTI FREE REPLENISH®	LCG	EDTA, POLIQUAD 0,001% (POLIQUATERNARIUM-1) e ALDOX (MIRISTAMIDOPROPIL DIMETILAMINA) 0,0005%	06 h
BAUSCH & LOMB	RENU FRESH®	LCG	EDTA, DYMED™ (POLIAMINOPROPIL BIGUANIDA) 0,0001%.	04 h
	RENU SENSITIVE®	LCG	EDTA, DYMED (POLIAMINOPROPIL BIGUANIDA) 0,00005%	04 h
	BIO TRUE®	LCG	EDTA, SISTEMA DUPLO DE DESINFECÇÃO: POLIAMINOPROPIL BIGUANIDA 0,00013% e POLIQUATERNÁRIO 0,0001%	04 h
	BOSTON SIMPLUS®	LCRGP	GLUCONATO DE CLOREXIDINA 0,003% e POLIAMINOPROPILBIGUANIDA 0,0005%, POLOXAMINA	04 h
KLEY HERTZ	ULTRA SEPT®	LCRGP e LCG	EDTA, CLORIDRATO DE POLIHEXAMETILBIGUANIDA (não informa a concentração)	04 h
	OPTO CARE®	LCG	EDTA, CLORIDRATO DE POLIHEXAMETILBIGUANIDA (não informa a concentração)	04 h
AVIZOR	ÚNICA SENSITIVE®	LCG	EDTA, POLIHEXAMIDA 0,0001%, POLOXAMER	04 h
TEUTO	BIO SOAK®	LCG	EDTA, BIGUANIDA 0,0025 mg/ml, BORATO DE SÓDIO E CLORETO DE SÓDIO	04 h
VITA MEDIC	LIMP LENT®	LCG	EDTA, PVP(POVINILPIRROLIDONA), POLIHEXANIDA 0,0002%, POLOXAMER	04 h
OPTO LENTES	CLEAR LENTES SOLUÇÃO LIMPADORA®	LCRGP e LCG	EDTA, POLOXAMINA, POLISSORBATO, PHMB 0,0005% E CLOREXIDINA 0,0003%	04 h
	CLEAR LENTES SOLUÇÃO CONSERVADO RA®	LCRGP e LCG	EDTA, PHMB (não informa a concentração)	04 h
	CLEAR LENTES SOLUÇÃO MULTIUSO®	LCG	EDTA, POLOXAMINA, PHMB 0,00013%	04 h

Fonte: Autoria Própria (2023)

Tabela 2: Correspondência entre número utilizado e as respectivas soluções multiuso e seu laboratório fabricante

Número usado para a solução	Solução multiuso para lentes de contato	
	Nome comercial	Fabricante
1	Bio Soak	Teuto
2	Ultra Sept	Kley Hertz
3	Limp Lent	Vita Medic
4	Bio True	Baush & Lomb
5	Opto Care	Kley Hertz
6	Única Sensitive	Avizor
7	Opti Free Replenish	Alcon
8	Opti Free Pure Moist	Alcon
9	Clear Lentes Solução Multiuso	Opto Lentes
10	Renu Sensitive	Baush & Lomb
11	Renu Fresh	Baush & Lomb
12	Clear Lentes Solução Conservadora	Opto Lentes
13	Clear Lentes Solução Limpadora	Opto Lentes
14	Boston Simplus	Baush & Lomb

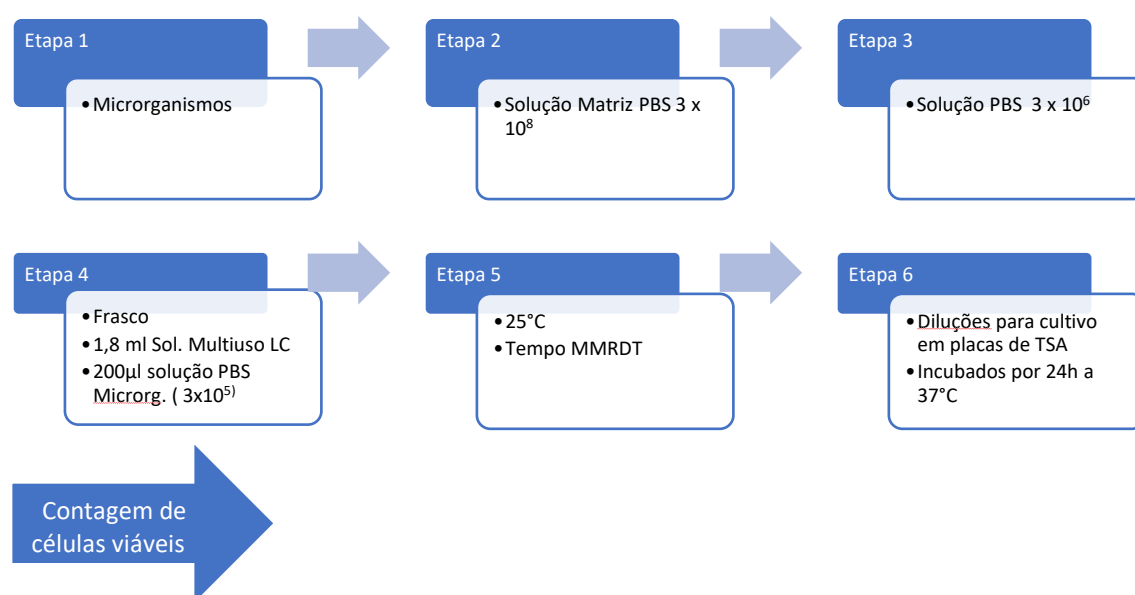
Fonte: Autoria Própria (2023)

5.1 Análise da atividade antimicrobiana direta

Foram realizados testes de viabilidade bacteriana e fúngica por contato direto das soluções multiuso para lentes de contato sobre células bacterianas e fúngicas suspensas em solução tampão PBS (Phosphate-Buffered Saline) de pH 7,2. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923TM, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853TM, *Serratia marcescens* (amostra clínica), *Candida albicans* ATCC 10231TM foram testados individualmente numa concentração final de 3×10^6 . Para realização deste teste foi utilizada solução de 0.5 McFarland (aproximadamente 3×10^8 ufc/mL) com auxílio de nefelômetro (Alfakit, Florianópolis, Brasil), da qual foram diluídos 100 µL em 9,9 mL de PBS. Em frascos de vidro foram alicotados individualmente 1,8 mL de cada solução multiuso para lentes de contato, seguido do acréscimo de 200 µL da solução PBS de microrganismo (concentração final de microrganismos será 3×10^5 ufc/mL). Foi utilizado um controle para cada microrganismo nesta mesma concentração 3×10^5 ufc/mL. Os frascos foram

agitados em vórtex por 30 segundos, posteriormente permaneceram estáticos em temperatura de 25°C pelo período recomendado pelo fabricante de cada marca comercial. Após os determinados períodos, foram alicotados 1 mL de cada frasco em outro frasco de vidro contendo 1 mL de solução agar neutralizante D/E (NEOGEN® Culture Media, Lansing, MI) e agitado por 30 segundos em vórtex. Ao final da agitação foram plaqueados 100 µL em placas TSA (Ágar Triptona de Soja) em triplicada para contagem de células viáveis (Figura 2).

Figura 2: Fluxograma da análise quantitativa de células viáveis (avaliação antimicrobiana direta)



Fonte: Autoria Própria (2023)

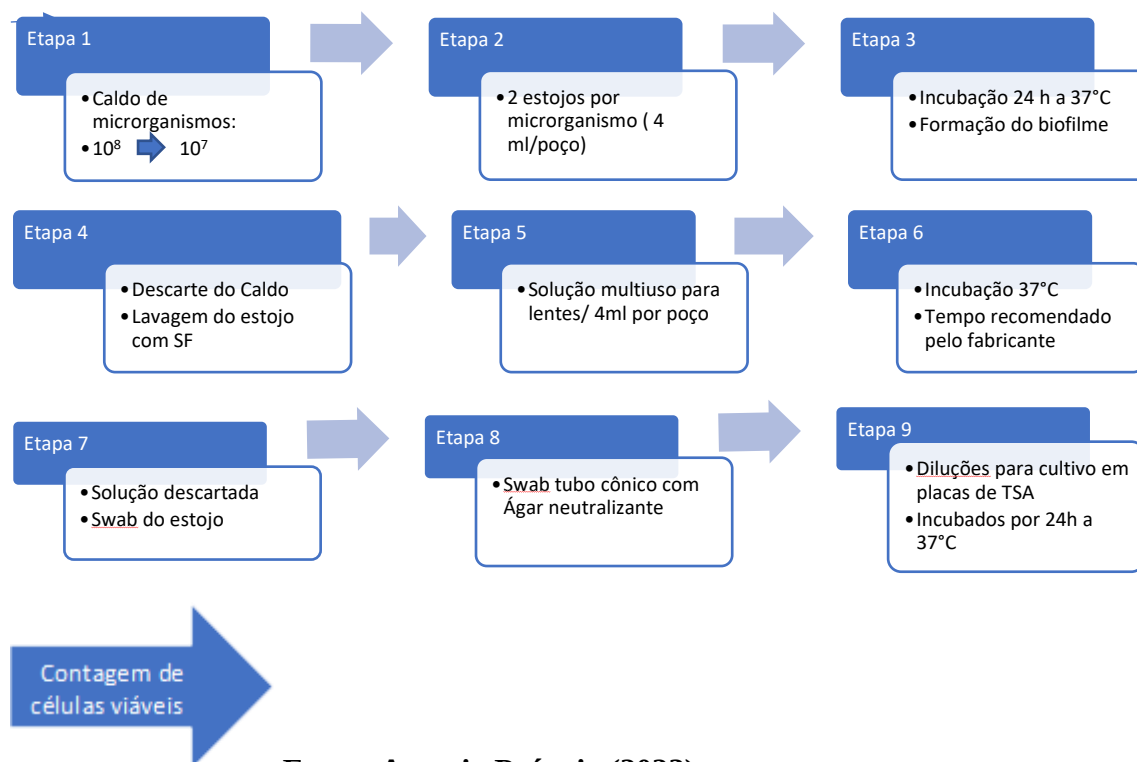
5.2 Análise de atividade antimicrobiana sobre biofilme

A formação do biofilme dos microrganismos citados anteriormente foi induzida em estojos padronizados de armazenamento de lentes, e os microrganismos foram testados individualmente. Todos os estojos que foram utilizados são da marca Look Vision®. Cada estojó é composto por dois compartimentos separados, foram utilizados dois estojos para cada microrganismo para realizar a indução da formação do biofilme, ou seja, o teste foi realizado em quadruplicata (dois estojos e quatro compartimentos para cada microrganismo). A comprovação da formação do biofilme foi realizada a partir do corante cristal violet (figura 4). Foi utilizado um controle de cada microrganismo, para comparação dos resultados.

Para realizar a indução do biofilme nos estojos, iniciou-se a partir de uma solução de 0,5 McFarland de turbidez (aproximadamente 10^8 ufc/mL) foram diluídos 1 mL deste caldo em 9 mL de TSB (Tryptic Soy Broth) para concentração final de 10^7 ufc/mL. Foram alicotados 4 mL deste caldo por poço de cada estojó, totalizando 8 mL por estojó. Para cada solução foram utilizados 2 estojos por microrganismo (teste em quadruplicata). Após período de 24 horas de incubação em estufa a 37° C os caldos foram descartados, os poços foram lavados com 1mL de soro fisiológico para remoção de células planctônicas, seguidos do acréscimo de 4 mL de cada solução multiuso para lentes de contato por poço e novamente incubados em estufa a 37° C pelo tempo recomendado por cada fabricante. Após o período de ação as soluções multiuso para lentes foram descartadas e swabs (Global Trade®, SP, Brasil) foram realizados para remoção mecânica de biofilme. Os swabs foram colocados individualmente em tubos cônicos estéreis (falcon) de 15mL contendo 10mL de ágar neutralizante D/E (NEOGEN® Culture Media, Lansing, MI) e agitados em vórtex durante 30 segundos. A partir desses tubos foram realizadas as

diluições seriadas para cultivo em placas de TSA, onde 100 µL foram plaqueados e incubados por 24 horas em estufa a 37°C (Figura 3).

Figura 3: Fluxograma mostrando a sequência que foi realizada para a análise de atividade antimicrobiana sobre biofilme



Fonte: Autoria Própria (2023)

Figura 04: exemplo de estojo padronizado com corante cristal violet utilizado para corar o biofilme



Fonte: Autoria Própria (2023)

5.3 Análise Estatística

A contagem de microrganismos nas placas foi expressa em dados quantitativos contínuos (ufc/mL) como mediana e interquartis (25-75%). Para comparar o efeito da ação das diferentes soluções para lentes de contato sobre as células planctônicas ou sobre os biofilmes, foi aplicado um teste não paramétrico devido a distribuição não normal dos dados (análise de variação one way). Foi considerada uma diferença estatisticamente significativa de contagem celular entre as soluções quando $p < 0,05$. Para a análise estatística foi usado o GraphPad Prisma 7.0 (programa GraphPad, San Diego, CA).

6. Resultados

6.1 Análise da atividade antimicrobiana direta (concentrado de microrganismos)

Na avaliação antimicrobiana direta do *S. aureus*, em relação ao controle todas as soluções obtiveram algum grau de redução de microrganismos. Com exceção das soluções 1 (Bio Soak®), 2 (Ultra Sept®), 5 (Opto Care®) e 6 (Única Sensitive®), todas as demais soluções zeraram a contagem de microrganismos (Gráfico 1 e Tabela 3).

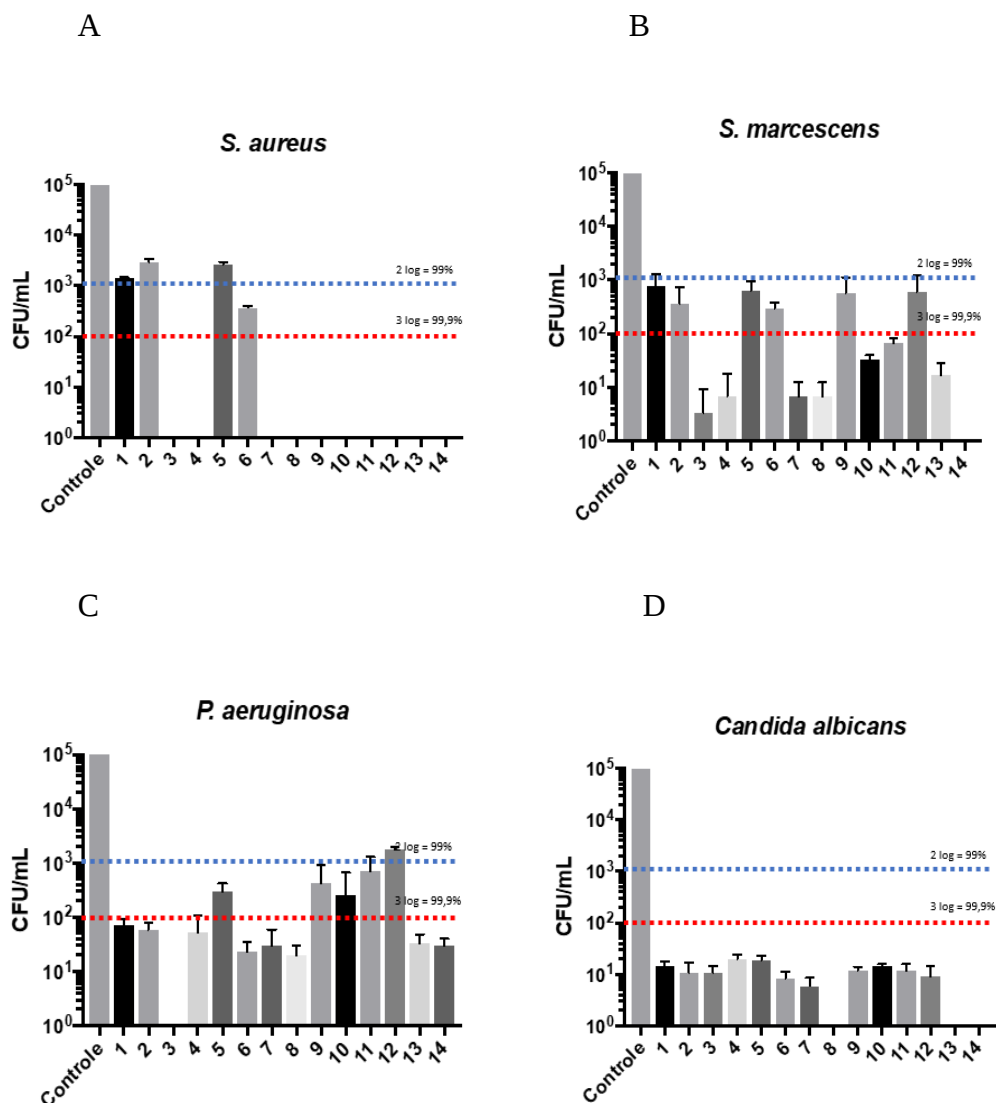
Já na ação antimicrobiana do microrganismo *S. marcescens*, em relação ao controle todas as soluções obtiveram uma redução de no mínimo 2 log. A redução de no mínimo 3log foi obtida pelas soluções 3 (Limp Lent®), 4 (Bio True®), 7 (Opti Free Replenish®), 8 (Opti Free Pure Moist®), 10 (Renu Sensitive®), 11 (Renu Fresh®), 13 (Clear Lentes Solução Limpadora®), sendo que a solução 14 (Boston Simplus®) zerou a contagem de microrganismos (Gráfico 1 e Tabela 4).

Na avaliação antimicrobiana da *P. aeruginosa*, todas as soluções obtiveram algum grau de redução na contagem. As soluções que obtiveram redução de 3 log ou mais foram: solução 1 (Bio Soak®), 2 (Ultra Sept®), 4 (Bio True®), 6 (Única Sensitive®), 7 (Opti Free Replenish®), 8 (Opti Free Pure Moist®), 13 (Clear Lentes Solução Limpadora®), 14 (Boston Simplus®). Sendo que a solução 3 (Limp Lent®) zerou a contagem (Gráfico 1 e Tabela 5).

Com relação a atividade antimicrobiana da *C. albicans*, todas as soluções multiuso conseguiram reduzir a contagem em mais de 3 log, sendo que o requerido pelo FDA para fungos é a redução de no mínimo 1 log. Três soluções conseguiram zerar as contagens:

solução 8 (Opti Free Pure Moist®), 13 (Clear Lentes Solução Limpadora®) e a solução 14 (Boston Simplus®), (Gráfico 1 e Tabela 6).

Gráfico 1: Atividade antimicrobiana direta das soluções (sob concentrado de microrganismos)



Fonte: Autoria própria 2023

Nota: Gráfico A: *S. aureus*; gráfico B: *S. marcescens*; gráfico C: *P. aeruginosa*; gráfico D: *C. albicans*.

Tabela 3: Atividade antimicrobiana direta das soluções sobre o *S. aureus*

Soluções	N	Média	Mediana	DP	IIQ	Mínimo	Máximo
Controle	3	100000.000	100000	0.000	0.000	100000	100000
1	3	1466.667	1470	15.275	15.000	1450	1480
2	3	2896.667	2940	456.545	455.000	2420	3330
3	3	0.333	0	0.577	0.500	0	1
4	3	0.000	0	0.000	0.000	0	0
5	3	2663.333	2750	299.555	290.000	2330	2910
6	3	370.000	380	26.458	25.000	340	390
7	3	0.000	0	0.000	0.000	0	0
8	3	0.000	0	0.000	0.000	0	0
9	3	0.000	0	0.000	0.000	0	0
10	3	0.000	0	0.000	0.000	0	0
11	3	0.000	0	0.000	0.000	0	0
12	3	0.000	0	0.000	0.000	0	0
13	3	0.000	0	0.000	0.000	0	0
14	3	0.000	0	0.000	0.000	0	0

Fonte: Autoria Própria (2023)

Tabela 4: Atividade antimicrobiana direta das soluções sobre a *S. marcescens*

Solução	N	Média	Mediana	DP	IIQ	Mínimo	Máximo
Controle	3	100000.00	100000	0.00	0.00	100000	100000
1	3	783.33	1010	490.95	450.00	220	1120
2	3	356.67	160	384.75	345.00	110	800
3	3	3.33	0	5.77	5.00	0	10
4	3	6.67	0	11.55	10.00	0	20
5	3	633.33	500	321.46	300.00	400	1000
6	3	296.67	300	85.05	85.00	210	380
7	3	6.67	10	5.77	5.00	0	10
8	3	6.67	10	5.77	5.00	0	10
9	3	573.33	330	547.21	505.00	190	1200
10	3	33.33	30	5.77	5.00	30	40
11	3	66.67	70	15.28	15.00	50	80
12	3	616.67	310	628.83	570.00	200	1340
13	3	16.67	10	11.55	10.00	10	30
14	3	0.00	0	0.00	0.00	0	0

Fonte: Autoria Própria (2023)

Tabela 5: Atividade antimicrobiana direta das soluções sobre a *P. aeruginosa*

Solução	N	Média	Mediana	DP	IIQ	Mínimo	Máximo
Controle	3	100000.0	100000	0.0	0.0	100000	100000
1	3	73.3	80	20.8	20.0	50	90
2	3	60.0	60	20.0	20.0	40	80
3	3	0.0	0	0.0	0.0	0	0
4	3	53.3	50	55.1	55.0	0	110
5	3	303.3	320	115.9	115.0	180	410
6	3	23.3	30	11.5	10.0	10	30
7	3	30.0	30	30.0	30.0	0	60
8	3	20.0	20	10.0	10.0	10	30
9	3	430.0	240	502.7	475.0	50	1000
10	3	256.7	30	410.0	360.0	10	730
11	3	726.7	1010	579.5	525.0	60	1110
12	3	1790.0	1880	182.5	165.0	1580	1910
13	3	33.3	30	15.3	15.0	20	50
14	3	30.0	30	10.0	10.0	20	40

Fonte: Autoria Própria (2023)

Tabela 6: Atividade antimicrobiana direta das soluções sobre a *C. albicans*

Soluções	N	Média	Mediana	DP	IIQ	Mínimo	Maximo
Controle	3	100000.00	100000	0.00	0.00	100000	100000
1	3	15.00	14	2.65	2.50	13	18
2	3	11.00	11	6.00	6.00	5	17
3	3	10.67	10	4.04	4.00	7	15
4	3	19.67	21	4.16	4.00	15	23
5	3	18.67	18	4.04	4.00	15	23
6	3	8.33	10	2.89	2.50	5	10
7	3	6.00	7	2.65	2.50	3	8
8	3	0.00	0	0.00	0.00	0	0
9	3	12.00	12	2.00	2.00	10	14
10	3	14.67	14	1.15	1.00	14	16
11	3	11.67	14	4.04	3.50	7	14
12	3	9.00	10	5.57	5.50	3	14
13	3	0.00	0	0.00	0.00	0	0
14	3	0.00	0	0.00	0.00	0	0

Fonte: Autoria Própria (2023)

6.2 Análise da atividade antimicrobiana sobre o biofilme

Na avaliação da ação das 14 soluções multiuso para lentes de contato sobre o biofilme dos microrganismos obtiveram-se os seguintes resultados:

Na avaliação da ação das soluções sobre o biofilme do *S. aureus* as soluções 5 (Opto Care®), 6 (Única Sensitive®), 7 (Opti Free Replenish®) e 8 (Opti Free Pure Moist®), obtiveram algum grau de redução nas contagens, porém apenas as soluções 7 (Opti Free Replenish®) e 8 (Opti Free Pure Moist®) obtiveram redução acima de 1 log. As demais soluções mantiveram-se com contagens semelhantes ou superiores ao controle. Ou seja, não foi alcançada a redução de 3 log requerida para bactérias em nenhuma das soluções (Gráfico 2 e Tabela 7).

Com relação a ação das soluções sobre o biofilme da *S. marcescens*, com exceção das soluções 12 (Clear lens solução conservadora®) e 13 (Clear lens solução limpadora®) as demais soluções todas tiveram uma redução de mais de 2 log. Entre as soluções que conseguiram reduzir as contagens em pelo menos 3 log estão as soluções 05 (Opto Care®), 06 (Única Sensitive), 07 (Opti Free Replenish®), 08 (Opti Free Pure Moist®), 11 (Renu Fresh®), 14 (Boston Simplus®). As soluções 5 (Opto Care®) e 8 (Opti Free Pure Moist®) obtiveram uma redução significativa com p menor que 0,05 (Gráfico 2 e Tabela 8).

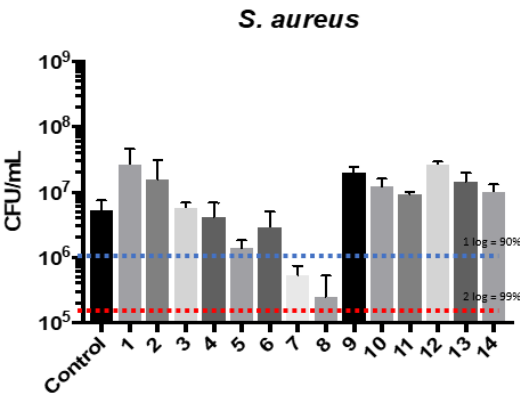
Na avaliação da ação das soluções sobre o biofilme da *P. aeruginosa* com exceção da solução 12 (Clear lens solução conservadora®) todas as soluções obtiveram algum grau de redução na contagem, embora uma redução de 1 log tenha sido obtida apenas nas soluções 1 (Bio Soak®), 2 (Ultra Sept®), 3 (Limp Lent®), 4 (Bio True®), 5 (Opto Care®) e 14 (Boston Simplus®). Nenhuma solução apresentou redução maior ou igual a 2 log. (Gráfico 2 e Tabela 9).

Em relação a ação das soluções multiuso sobre o biofilme da *C. albicans*, nenhuma solução conseguiu atingir uma redução de 1 log (Gráfico 2 e Tabela 10).

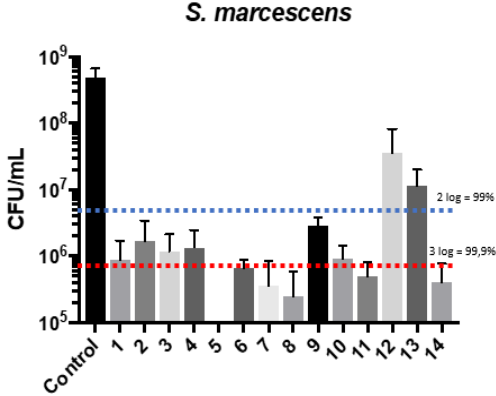
Com exceção das soluções 05 (Opto Care®), 06 (Única Sensitive), 07 (Opti Free Replenish®), 08 (Opti Free Pure Moist®), 11 (Renu Fresh®), 14 (Boston Simplus®), que conseguiram uma redução significativa no biofilme da *S. marcescens*, as demais soluções foram ineficazes para reduzir o biofilme formado em todos os demais microrganismos.

Gráfico 2: Atividade antimicrobiana sobre o Biofilme

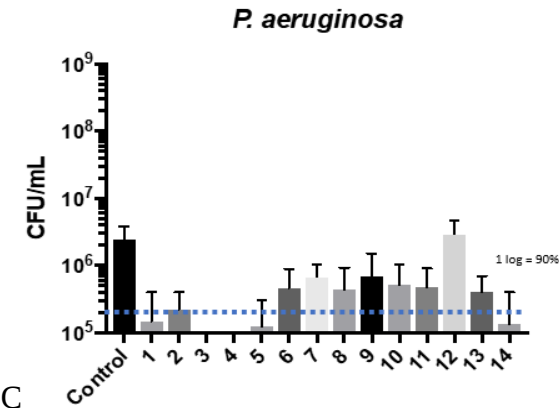
A



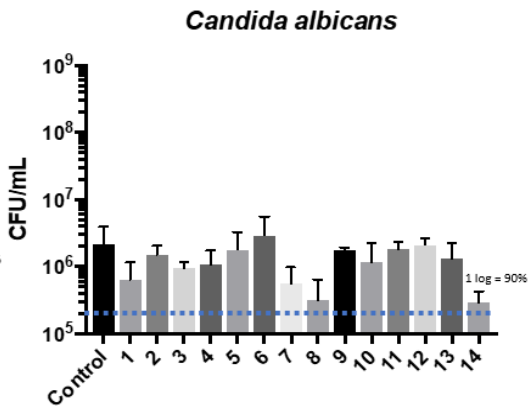
B



C



D



Fonte: Autoria própria 2023

Nota: Gráfico A: *S. aureus*; gráfico B: *S. marcescens*; gráfico C: *P. aeruginosa*; gráfico D: *C. albicans*

Tabela 7: Atividade antimicrobiana das soluções sobre o Biofilme do *S. aureus*

	soluções	N	Média	Mediana	DP	Mínimo	Máximo
<i>S. aureus</i> - Biofilme	Controle	4	5.38x10 ⁶	5.05 x10 ⁶	2.14x10 ⁶	3200000	8200000
	1	4	2.69 x10 ⁷	3.15 x10 ⁷	1.91 x10 ⁷	900000	43800000
	2	4	1.57 x10 ⁷	1.32 x10 ⁷	1.52 x10 ⁷	500000	36100000
	3	4	5.88 x10 ⁶	6.00 x10 ⁶	1.06 x10 ⁶	4500000	7000000
	4	4	4.17 x10 ⁶	4.85 x10 ⁶	2.65 x10 ⁶	400000	6600000
	5	4	1.38 x 0 ⁶	1.47 x10 ⁶	426302	790000	1790000
	6	4	2.96 x10 ⁶	3.69 x10 ⁶	2.03 x10 ⁶	0	4460000
	7	4	534250	503500	206773	322000	808000
	8	4	245750	235500	276040	1000	511000
	9	4	2.00 x10 ⁷	2.14 x10 ⁷	4.58 x10 ⁶	13280000	23680000
	10	4	1.22 x10 ⁷	1.11 x10 ⁷	4.02 x10 ⁶	8670000	17840000
	11	4	9.34 x10 ⁶	9.09 x10 ⁶	602350	8960000	10240000
	12	4	2.69 x10 ⁷	2.72 x10 ⁷	2.81 x10 ⁶	23400000	29600000
	13	4	1.44 x10 ⁷	1.43 x10 ⁷	5.50 x10 ⁶	9100000	19800000
	14	4	1.02 x 10 ⁷	9.40 x10 ⁶	2.94 x10 ⁶	7700000	14300000

Fonte: Autoria Própria (2023)

Tabela 8: Atividade antimicrobiana das soluções sobre o Biofilme da *S. marcescens*

	Soluções	N	Média	Mediana	DP	Mínimo	Máximo
<i>Serratia</i> Biofilme	Controle	4	4.80×10^8	5.40×10^8	1.77×10^8	220000000	620000000
	1	4	875000.00	650000.00	829036	140000	2060000
	2	4	1.69×10^6	1.46×10^6	1.75×10^6	150000	3680000
	3	4	1.19×10^6	890000.00	942881	410000	2560000
	4	4	1.35×10^6	1.14×10^6	1.10×10^6	240000	2870000
	5	4	1.00	1.00	0	1	1
	6	4	660000.00	695000.00	220756	370000	880000
	7	4	360000.00	140000.00	480902	80000	1080000
	8	4	252500.00	115000.00	334303	30000	750000
	9	4	2.92×10^6	2.80×10^6	888351	2100000	4000000
	10	4	920000.00	1.13×10^6	522749	150000	1270000
	11	4	492500.00	395000.00	330694	210000	970000
	12	4	3.54×10^7	2.07×10^7	4.65×10^7	370000	100000000
	13	4	1.14×10^7	7.55×10^6	8.67×10^6	6000000	24300000
	14	4	400000.00	345000.00	373898	10000	900000

Fonte: Autoria Própria (2023)

Tabela 9: Atividade antimicrobiana das soluções sobre o Biofilme da *P. aeruginosa*

		Soluções	N	Média	Mediana	DP	Mínimo	Máximo
<i>Pseudomonas</i> Biofilme	-	Controle	4	2.42x10 ⁶	2.30x10 ⁶	1.36x10 ⁶	900000	4200000
		1	4	147500	30000	255522	0	530000
		2	4	222500	145000	179141	110000	490000
		3	4	35000	25000	33166	10000	80000
		4	4	66250	80000	42696	5000	100000
		5	4	125000	45000	177106	20000	390000
		6	4	462500	375000	424058	70000	1030000
		7	4	672500	825000	365730	130000	910000
		8	4	436250	405000	492669	5000	930000
		9	4	690000	480000	806102	30000	1770000
		10	4	515000	385000	518620	50000	1240000
		11	4	482500	380000	411208	130000	1040000
		12	4	2.91x10 ⁶	2.96x10 ⁶	1.75x10 ⁶	710000	5000000
		13	4	402500	450000	298482	20000	690000
		14	4	133000	1000	264668	0	530000

Fonte: Autoria Própria (2023)

Tabela 10: Atividade antimicrobiana das soluções sobre o Biofilme da *C. albicans*

		Soluções	N	Média	Mediana	DP	Mínimo	Máximo
<i>Candida</i> Biofilme	-	Controle	4	2.13x10 ⁶	1.60x10 ⁶	1.78x10 ⁶	600000	4700000
		1	4	642500	420000	507830	330000	1400000
		2	4	1.50x10 ⁶	1.55x10 ⁶	536928	850000	2040000
		3	4	960000	900000	207846	780000	1260000
		4	4	1.09x10 ⁶	1.09x10 ⁶	624206	530000	1660000
		5	4	1.78x10 ⁶	1.59x10 ⁶	1.47x10 ⁶	220000	3720000
		6	4	2.92x10 ⁶	2.82x10 ⁶	2.68x10 ⁶	20000	6000000
		7	4	560000	380000	410041	310000	1170000
		8	4	320000	225000	325064	50000	780000
		9	4	1.78x10 ⁶	1.82x10 ⁶	149304	1560000	1900000
		10	4	1.17x10 ⁶	1.15x10 ⁶	1.05x10 ⁶	180000	2200000
		11	4	1.83x10 ⁶	1.88x10 ⁶	486792	1250000	2340000
		12	4	2.12x10 ⁶	2.00x10 ⁶	512380	1650000	2830000
		13	4	1.31x10 ⁶	1.32x10 ⁶	928489	160000	2420000
		14	4	295000	335000	132288	110000	400000

Fonte: Autoria Própria (2023)

Levando em consideração os critérios de efetividade das soluções utilizados pelo FDA para aprovação das soluções de lentes de contato (redução de 3 log para bactérias e redução de 1 log para fungos), o qual se baseia na ISO 14729, segue a tabela abaixo com os respectivos resultados (tabela 11).

Tabela 11: Efetividade antimicrobiana das soluções

Soluções	Atividade antimicrobiana direta				Biofilme			
	<i>S. aureus</i>	<i>S.marces-cens</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S.marces-cens</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
1	NE	NE	E	E	NE	NE	NE	NE
2	NE	NE	E	E	NE	NE	NE	NE
3	E	E	E	E	NE	NE	NE	NE
4	E	E	E	E	NE	NE	NE	NE
5	NE	NE	NE	E	NE	E	NE	NE
6	NE	NE	E	E	NE	NE	NE	NE
7	E	E	E	E	NE	E	NE	NE
8	E	E	E	E	NE	E	NE	NE
9	E	NE	NE	E	NE	NE	NE	NE
10	E	E	NE	E	NE	NE	NE	NE
11	E	E	NE	E	NE	E	NE	NE
12	E	NE	NE	E	NE	NE	NE	NE
13	E	E	E	E	NE	NE	NE	NE
14	E	E	E	E	NE	E	NE	NE
% efetividade	71,42%	57,14%	64,28%	100%	0%	37,71%	0%	0%

Fonte: Autoria Própria (2022)

Nota: Legenda E efetivo NE não efetivo % Percentagem

Em relação ao biofilme formado, nenhuma solução conseguiu efetividade contra os 4 patógenos simultaneamente se considerarmos como critério a mesma norma utilizada pelo FDA para avaliação das células planctônicas ou concentrado de microrganismos (uma redução de 3 log para bactérias e 1 log para fungos).

Na avaliação do biofilme algumas soluções tiveram uma efetividade inferior a 3 log variando de acordo com a solução e o patógeno em questão. Nos testes realizados com o biofilme do *S. aureus*, as soluções 7 e 8 conseguiram uma redução de 1 log (90%), todas as demais soluções não conseguiram redução acima deste patamar. No biofilme da *P. aeruginosa* obteve-se redução de 1 log (90%) nas soluções 1, 2, 3, 4, 5 e 14. Em relação ao biofilme da *S. marcescens* houve redução de 3 log (99,9%) nas contagens das soluções 5, 6, 7, 8, 11 e 14, e uma redução de 2 log (99%) em todas as soluções com exceção das soluções 9, 10, 12 e 13. Já no biofilme da *C. albicans* nenhuma solução conseguiu redução acima de 1 log (90%).

7. Discussão

Neste presente estudo, na avaliação da ação antimicrobiana sobre a forma direta (concentrado de microrganismos) obteve-se como resultado principal que as soluções que tiveram melhor resultado considerando a abrangência simultânea aos 4 microrganismos foram: solução 3 (Limp Lent®), 4 (Bio True®), 7 (Opti Free Replenish®), 8 (Opti Free Pure Moist®), 13 (Clear Lentes Solução Limpadora®) e 14 (Boston Simplus®). Em relação aos testes com o biofilme, neste presente estudo algumas soluções conseguiram ser efetivas em reduzir a contagem do biofilme formado da *S. marcescens* apenas (tiveram uma redução de 3 log), entre elas estão: solução 5 (Opto Care®), 6 (Unica Sensitive®), 7 (Opti Free Replenish®), 8 (Opti Free Pure Moist®), 11 (Renu Fresh®) e 14 (Boston Simplus®). Não foi possível utilizar a solução que contém o peróxido de hidrogênio pois ela foi retirada do mercado brasileiro.

Szczotka-Flynn *et al.* realizou um estudo da ação antimicrobiana de cinco soluções Renu Multiplus®, Renu com MoistureLoc® (Baush& Lomb), Complete MoisturePlus® (Advanced Medical Optics), AQuify® (Ciba Vision), e Opti-Free Replenish® (Alcon) sobre a forma planctônica e sobre o biofilme formado em lentes de silicone hidrogel (Lotrafilcom A). Para seu estudo utilizou como microrganismo *P. aeruginosa*, *S. marcescens* e *S. aureus*. Como principais resultados obtiveram que todas as soluções foram efetivas contra o crescimento de células planctônicas bacterianas. Em relação ao biofilme formado sobre as lentes de contato as soluções preservadas com biguanida geralmente foram inefetivas. A solução preservada com poliquaternário (Opti Free Replenish®) foi efetiva contra o biofilme da *P. aeruginosa* e *S. aureus*, mas não contra o biofilme da *S. marcescens*. Apenas a solução composta por peróxido de hidrogênio (Clear Care®) exibiu atividade contra o biofilme das 03 bactérias

simultaneamente (SZCZOTKA-FLYNN *et al.*, 2009). Em nosso estudo também foi observado um resultado superior na ação das soluções sobre a forma direta (concentrado de microrganismos), do que sobre o biofilme formado, apesar dos estudos terem sido realizados de forma diferente. Em nosso estudo realizamos a indução do biofilme em estojos padronizados e o estudo e Szczotka-Flynn *et al.* o biofilme foi induzido sobre lentes de contato, mesmo assim obtiveram-se resultados semelhantes.

No estudo realizado por Leo Lin *et al.*, foram testadas cinco soluções disponíveis comercialmente nos EUA (Boston Simplus®, Boston Advance®, Opti-free, Menicare GP® e Lobob®) contra *P. aeruginosa* e MRSA (*S. aureus* resistente a meticilina), obtiveram como resultados que a solução Boston Simplus teve a atividade anti-estafilocócica mais potente enquanto a solução Menicare GP® a atividade anti-pseudomonas mais potente, todas as demais soluções testadas foram menos efetivas contra a *P. aeruginosa* do que contra o MRSA. Segundo o seu estudo as soluções preservadas com biguanida tiveram uma atividade anti-estafilocócica maior enquanto que as soluções preservadas com EDTA tiveram uma atividade anti-pseudomonas maior (LIN *et al.*, 2016). Em nosso estudo foi encontrado que as cinco soluções que não foram efetivas contra a *P. aeruginosa* tem em sua composição a biguanida e o EDTA, portanto a presença do EDTA não foi um fator determinante de eficácia das soluções contra a *P. aeruginosa* neste presente estudo. A solução que conseguiu zerar a contagem de *P. aeruginosa* em sua forma de concentrado de microrganismos foi a solução 3, Limp Lent, composta por PVP (Povinilpirrolidona) e Polihexanida. Com relação aos testes realizados em nosso estudo com o *S. aureus*, não podemos afirmar que a biguanida foi determinante para ação anti-estafilocócica pois entre as soluções que não tiveram ação sob a forma direta do *S. aureus* estão as soluções 1 (Bio Soak®), 2 (Ultra Sept®) e 5 (Opto Care®);

compostas por biguanida e EDTA, e a solução 6 (Única Sensitive®) composta por polihexanida e EDTA.

Através deste presente estudo pode-se observar que as soluções que conseguiram ser efetivas aos 4 patógenos simultaneamente, considerando os critérios estabelecidos pelo FDA (redução de 3 log para bactérias e redução de 1 log para fungos) na forma de concentrado de microrganismos, contêm em sua composição associação de componentes para desinfecção (ver tabela 1).

Neste presente estudo pode-se observar que soluções contendo a associações simples como a associação de EDTA e biguanida, ou a associação de EDTA e Polihexanida apenas, não conseguiram ser efetivas contra os 4 patógenos simultaneamente, sob a forma de concentrado de microrganismos.

Rosenthal *et al.* realizaram um estudo em que foram simuladas condições de má aderência aos passos de higiene das lentes como: ausência de fricção, volumes variados de enxague das lentes, ou ausência total de fricção e enxague das lentes antes de submetê-las a desinfecção com as soluções para lentes de contato. Neste estudo foram testados 5 microrganismos: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *C. albicans* e *F. solani*. Como resultados obtiveram que o Opti-Free Express® solução multipropósito composta por Poliquaternário e Aldox, demonstrou uma capacidade antimicrobiana superior em reduzir os microrganismos quando comparado as soluções compostas por PHMB (ROSENTHAL *et al.*, 2003). Estes resultados são semelhantes aos resultados encontrados em nosso estudo.

Em um estudo realizado na Turquia, foi testada a ação das soluções Renu, SOLO-care e Opti-Free sobre os microrganismos *S. aureus* e *P. aeruginosa* em sua forma

planctônica. Como resultados obtiveram que SOLO-care e Renu reduziram *S. aureus* mais marcadamente, enquanto a solução Opti-Free reduziu a *Pseudomonas aeruginosa* mais marcadamente (KAL; TOKER; KAYA, 2017). Em nosso estudo, a solução SOLO-care não foi testada, mas podemos traçar um paralelo com as demais soluções utilizadas. Em relação a forma planctônica do *S. aureus*, pode-se observar em nosso estudo que as soluções 10 (Renu Sensitive), 11 (Renu Fresh), 07 (Opti-Free Replenish) e 08 (Opti-Free Pure Moist), todas conseguiram zerar a contagem deste microrganismo. Já na forma planctônica da *Pseudomonas aeruginosa* as soluções 07 (Opti-Free Replenish) e 08 (Opti-Free Pure Moist) conseguiram uma redução maior do que 3log (99,9%), enquanto as soluções 10 (Renu Sensitive) e 11 (Renu Fresh) conseguiram atingir uma redução de 2 log (90%) apenas. Ou seja, em nosso estudo considerando a cepa *S. aureus* ambas as soluções Renu (Sensitive e Fresh) e Opti-Free (Replenish e Pure Moist) tiveram a mesma ação e foram efetivas. Enquanto na ação sobre a *P. aeruginosa* apenas as soluções Opti-Free Replenish e Opti-Free Pure Moist foram efetivas pelos critérios estabelecidos pelo FDA/ISO 14729.

Em relação ao biofilme formado, como não existe critério estabelecido pelo FDA para avaliação dele, utilizamos os mesmos critérios estabelecidos para a forma direta (concentrado de microrganismos), ou seja, redução de 3 log para bactérias e 1 log para fungos. Algumas soluções conseguiram ser efetivas em reduzir a contagem do biofilme formado da *S. marcescens* apenas (tiveram uma redução de 3 log), entre elas estão: solução 5 (Opto Care®), 6 (Unica Sensitive®), 7 (Opti Free Replenish®), 8 (Opti Free Pure Moist®), 11 (Renu Fresh®) e 14 (Boston Simplus®). As demais soluções foram inefetivas em reduzir o biofilme, em todos os demais microrganismos.

Algumas soluções conseguiram redução inferior a 3 log para bactérias, no biofilme formado. Considerando os 4 microrganismos testados, pode-se observar que houve redução de pelo menos 1 log (redução de 90%) em pelo menos duas soluções testadas para cada microrganismo, com exceção do biofilme da *C. albicans* onde nenhuma solução conseguiu a redução mínima de 1 log. Se analisarmos a ação das soluções sobre a *C. albicans* isoladamente, poderemos evidenciar que a ação das soluções sobre a forma direta (concentrado de microrganismos) foi bastante efetiva, com redução acima de 1 log em todas as soluções, porém quando analisada a ação sobre o biofilme formado, nenhuma solução conseguiu redução acima de 1 log. Estes resultados indicam que o biofilme do fungo *C. albicans* é consideravelmente mais resistente a ação antimicrobiana das soluções, quando comparado a sua forma planctônica. Estes achados sugerem um risco aumentado de ceratite fúngica uma vez que o biofilme tenha sido formado.

Em um estudo retrospectivo com 84 pacientes diagnosticados com ceratite fúngica nos EUA, o fator de risco mais importante foi o uso de lentes de contato (52% dos pacientes). Sendo que a espécie mais comumente isolada foi *Fusarium* (41%) seguido pela *C. albicans* (14%)(IYER; TULI; WAGONER, 2006) (GABRIEL; MCANALLY; BARTELL, 2018). As ceratites fúngicas são causa significativa de morbidade, sendo que a maioria dos pacientes apresentam como sequela perda visual que varia de moderada a severa. Cerca de 25% dos pacientes exigem intervenções cirúrgicas caras e infrutíferas (MILLS *et al.*, 2021).

O tempo de exposição as soluções multiuso parece ser um fator importante que impacta em sua atividade. Em um estudo prévio foram testadas soluções multipropósito sobre o biofilme formado em lentes de contato. As soluções utilizadas foram All in One®

(Sauflon), Opti Free® (Alcon), Bio True® e Renu® (Bausch&Lomb), e os microrganismos usados foram *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *C. albicans*. Este estudo realizou a contagem do biofilme dos microrganismos em diferentes períodos de exposição as soluções (6h, 12h, 24h, 36h, 48h). Como resultados obtiveram que nas primeiras 6h nenhuma solução multipropósito demonstrou 3log de redução sobre o biofilme das lentes de contato, exceto Opti-Free®. Estes resultados indicam que se o tempo de contato com as soluções for de 6 h ou menos, não é suficiente para erradicar o biofilme de bactérias ou fungos das lentes de contato. A solução com maior atividade contra *P. aeruginosa* e *S. aureus* foi Opti-Free® seguida do Bio-True® e Renu® em 24h, e a solução com maior atividade contra *C. albicans* foi Renu® seguida do Opti-Free® e Bio True® em 48h (DOSLER *et al.*, 2020). É importante ressaltar que o MMRDT indicado pelo fabricante varia de 4-6h, portanto no uso cotidiano das lentes de contato será este o tempo em que uma lente de contato ficará submetida a ação de uma solução. Sendo assim, as soluções precisam ter seu efeito máximo bactericida ou fungicida neste período, e não em um período superior que muitas vezes não ocorre na prática clínica.

Yamasaki *et al* em seu estudo realizado no Japão, pesquisou as soluções compostas por Povinilpirrolidona com Iodo PVP-I (Cleadew®, Ophtecs), peróxido de hidrogênio (AOSEPT Plus®, Alcon) e solução multiuso (Renu Fresh®, Baush& Lomb) em sua atividade antimicrobiana contra a o biofilme da *P. aeruginosa* em estojos de lentes de contato. O estudo testou a efetividade destas soluções tanto em paredes dos estojos que estiveram diretamente em contato com a as soluções, como em paredes sem contato (como a parte interna da tampa e bordos superiores). Como resultado obtiveram que a solução composta por PVP-I foi mais efetiva contra a *P. aeruginosa* aderida (tanto em paredes que tiveram contato, como nas paredes que não tiveram contato direto com

as soluções) quando comparada as ações das soluções compostas por peróxido ou biguanida. A explicação para este resultado seria que a desinfecção de paredes sem contato direto com a solução, seria causada pelo gás iodo, provindo da solução composta por PVP-I. Além disso, esta mesma solução foi capaz de inibir o retorno do crescimento da *P. aeruginosa* por pelo menos 7 dias após a desinfecção (YAMASAKI *et al.*, 2021).

As soluções compostas por biguanida tem demonstrado ser menos efetivas contra o biofilme (SZCZOTKA-FLYNN *et al.*, 2009). Enquanto soluções compostas por PVP-I e peróxido tem demonstrado efetividade contra do biofilme de bactérias (SZCZOTKA-FLYNN *et al.*, 2009) (YAMASAKI *et al.*, 2018). Atualmente as soluções compostas tanto por peróxido de hidrogênio como por PVP-I não estão disponíveis para o mercado brasileiro.

De acordo com um estudo realizado na China publicado em 2019, para as lentes de contato gelatinosas existe a opção de lentes de contato de descarte diário que dispensa os passos de limpeza e desinfecção das lentes. Já as lentes de contato rígidas gás-permeáveis são usadas por um período de 1 ano ou mais, sendo assim a limpeza e desinfecção destas lentes torna-se muito importante. Em geral, as lentes têm sido relatadas como relativamente bem desinfetadas, mas problemas são frequentemente observados com os estojos das lentes. A taxa de contaminação dos estojos das lentes está entre 19 e 81%. A contaminação dos estojos das lentes tem sido associada com um aumento no risco de ceratite microbiana (CHO; BOOST, 2019).

KUSMAN *et al* realizou um estudo correlacionado a má aderência às orientações médicas oftalmológicas com a contaminação de estojos para lentes de contato. Comportamentos do paciente de má aderência as orientações incluem tomar banho com as lentes de contato, dormir com as lentes de contato, troca irregular dos estojos das lentes

de contato, bem como uso das lentes de contato acima de 12h por dia. Como resultado obtiveram que nenhum dos pacientes que aderiu as orientações de uso teve o estojo contaminado, em contraste com 50% de contaminação dos estojos naqueles que não aderiram as orientações médicas. Em particular, estão sob maior risco de contaminação dos estojos, aqueles pacientes que fazem a substituição de seus estojos em períodos superior a 3 meses (KUZMAN *et al.*, 2014).

O fato dos pacientes muitas vezes não seguirem as indicações médicas no sentido de terem uma boa higiene e um bom cuidado com a manuseio das lentes e acessórios, pode contribuir de forma importante para a formação do biofilme e de uma consequente úlcera corneana.

O estudo realizado por Zhu H *et al*, foram testados três diferentes regimes de cuidados com as lentes de contato, prévio ao passo de desinfecção (quando as lentes são deixadas de molho). Os regimes de cuidados testado foram “fricção e enxague”, “enxague somente” e “sem fricção e sem enxague”. Foram testados os 5 microrganismos que fazem parte da ISO 14729, acrescentando-se a *Acanthamoeba polyphaga* Ros. Como resultados obtiveram que o regime que obteve melhor eficácia com as soluções multiuso foi “fricção e enxague”, independentemente do tipo de lente utilizado. O regime “sem fricção e sem enxague” resultou em maior quantidade de microrganismos remanescentes sobre as lentes de contato, quando comparado a outros regimes. Quando o “enxague somente” foi realizado prévio a desinfecção, as soluções multiuso contendo poliquaternário tiveram melhor performance contra bactérias do que as soluções multiuso contendo polihexametilbiguanida. A eficácia das soluções multiuso depende também do regime de

cuidados utilizado, apenas com o regime completo de “fricção e enxague” prévio a desinfecção, pode ser efetivo para todas as soluções multiuso (ZHU *et al.*, 2011).

Dong *et al.*, levantaram a hipótese de que existe uma notável abundância e diversidade de bactérias potencialmente patogênicas, e sugerem que uma superfície ocular saudável possui mecanismos poderosos para suprimir a patogenicidade microbiana (DONG *et al.*, 2011). Esses estudos sugerem que algumas inflamações e infecções associadas as lentes de contato podem ser causada por esses patógenos; o uso de lentes de contato e/ou soluções pode alterar o equilíbrio microbiano da superfície ocular, perturbar os mecanismos de defesa e aumentar os eventos adversos de tais espécie (SZCZOTKA-FLYNN; PEARLMAN; GHANNOUM, 2010).

Este estudo foi um estudo experimental realizado “in vitro”, sendo que as condições para desencadear uma infecção corneana “in vivo” podem ser diferentes das testadas em laboratório. Existem alguns fatores, como a imunologia do paciente, anticorpos e fatores de defesa presentes na lágrima, que podem interferir na manifestação de uma infecção.

Além disso, a carga utilizada em laboratório para a indução da formação do biofilme foi bastante elevada, não se sabe exatamente qual seria a carga necessária “in vivo” para desencadear a formação do biofilme. Portanto, os resultados obtidos na prática clínica podem ser diferentes dos resultados obtidos “in vitro”.

7.1. Limitações do Estudo

Este estudo tem como limitação o fato de ter sido utilizado apenas um frasco de cada produto para os testes. Os frascos foram adquiridos em farmácia, sendo utilizados

produtos disponíveis na época da realização dos testes “in vitro” (maio de 2021). Pode-se inferir que poderia haver problemas com determinado lote, sendo que o teste com um número maior de frascos de cada solução poderia atribuir mais força aos resultados.

Outra limitação seria o fato de não ter sido possível utilizar a cepa do fungo *Fusarium solani* nos testes “in vitro”, isto ocorreu devido a questões técnicas para a manutenção deste fungo vivo em laboratório. O uso desta cepa poderia completar o quadro com todos os microrganismos requeridos pelo ISO/FDA.

8. Conclusão:

Neste estudo, as soluções multiuso testadas tiveram uma eficácia superior sobre as células planctônicas do que sobre o biofilme formado.

Considerando a ação antimicrobiana sobre forma direta (células planctônicas), algumas soluções conseguiram alcançar a redução exigida pelo FDA/ ISO 14729 de forma simultânea aos 4 patógenos. As soluções 3 (Limp Lent®), 4 (Bio True®), 7 (Opti Free Replenish®), 8 (Opti Free Pure Moist®), 13 (Clear Lentes Solução Limpadora®) e 14 (Boston Simplus®) conseguiram alcançar uma redução simultânea de 3 log para bactérias e 1 log para fungos.

Em relação a ação das soluções sobre o biofilme formado, com exceção das soluções 05 (Opto Care®), 07 (Opti Free Replenish®), 08 (Opti Free Pure Moist®), 11 (Renu Fresh®) e 14 (Boston Simplus®), as quais conseguiram uma redução significativa no biofilme da *S. marcescens*, as demais soluções foram ineficazes para reduzir o biofilme formado em todos os demais microrganismos.

Sendo o biofilme uma realidade na prática clínica, e possível causa da perpetuação de um ciclo de proliferação microbiana que pode culminar em uma ceratite microbiana (úlceras de córnea), cabe ao profissional médico orientar adequadamente o paciente a fazer o descarte e troca frequente de estojos e ventosas (a cada 3 meses), o descarte das lentes de contato no tempo correto determinado pelo fabricante, bem como a fricção da lente de contato prévia ao enxague e desinfecção. Além de orientar para não dormir com lentes de contato e não ter contato com água quando estiver em uso delas, medidas estas que tem por objetivo mitigar este risco inerente.

9. Considerações finais:

Para o futuro, está em aberto o terreno para novas pesquisas que tragam produtos inovadores que possam ter ação antimicrobiana sobre o biofilme formado.

Não existem conflitos de interesse na realização deste trabalho.

10. Referências:

- AGI, Jorge *et al.* Three Decades of Contact Lens-associated Microbial Keratitis in a Referral Hospital in São Paulo, Brazil. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, v. 84, n. 5, p. 474–480, 2021.
- BOOST, Maureen; CHO, Pauline; LAI, Sindy. Efficacy of multipurpose solutions for rigid gas permeable lenses. *Ophthalmic and Physiological Optics*, v. 26, n. 5, p. 468–475, 2006.
- BULLIMORE, Mark A.; JOHNSON, Leah A. Overnight orthokeratology. *Contact Lens and Anterior Eye*, v. 43, n. 4, p. 322–332, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.clae.2020.03.018>>.
- CARNT, Nicole *et al.* The diagnosis and management of contact lens-related microbial keratitis. *Clinical and Experimental Optometry*, v. 100, n. 5, p. 482–493, 2017.
- CHO, Pauline; BOOST, Maureen V. Evaluation of prevention and disruption of biofilm in contact lens cases. *Ophthalmic and Physiological Optics*, v. 39, n. 5, p. 337–349, 2019.
- CHO, Pauline; SHI, Guang Sen; BOOST, Maureen. Inhibitory effects of 2,2'-dipyridyl and 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-b-D-glucopyranose on biofilm formation in contact lens cases. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, v. 56, n. 12, p. 7053–7057, 2015.
- DONG, Qunfeng *et al.* Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, v. 52, n. 8, p. 5408–5413, 2011.
- DOSLER, Sibel *et al.* Biofilm modelling on the contact lenses and comparison of the in vitro activities of multipurpose lens solutions and antibiotics. *PeerJ*, v. 8, p. e 9419, 2020.
- ERDINEST, Nir *et al.* Quadrant Asymmetric Design Contact Lens for Visual Rehabilitation after Eye Trauma. *Case Reports in Ophthalmology*, v. 12, n. 2, p. 330–336, 2021.
- FARAHANI, Mina; PATEL, Ronil; DWARAKANATHAN, Surendar. Infectious corneal ulcers. *Disease-a-Month*, v. 63, n. 2, p. 33–37, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.disamonth.2016.09.003>>.
- GABRIEL, Manal M.; MCANALLY, Cindy; BARTELL, John. Antimicrobial efficacy of multipurpose disinfecting solutions in the presence of contact lenses and lens cases. *Eye and*

Contact Lens, v. 44, n. 2, p. 125–131, 2018.

HOENES, Katharina; SPELLERBERG, Barbara; HESSLING, Martin. Enhancement of contact lens disinfection by combining disinfectant with visible light irradiation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 17, p. 1–20, 2020.

HSIAO, Yu Ting *et al.* Molecular bioburden of the lens storage case for contact lens-related keratitis. *Cornea*, v. 37, n. 12, p. 1542–1550, 2018.

IYER, Sandhya A.; TULI, Sonal S.; WAGONER, Ryan C. Fungal keratitis: Emerging trends and treatment outcomes. *Eye and Contact Lens*, v. 32, n. 6, p. 267–271, 2006.

KACKAR, Siddharth; SUMAN, Ethel; KOTIAN, M. Shashidhar. Bacterial and fungal biofilm formation on contact lenses and their susceptibility to lens care solutions. *Indian Journal of Medical Microbiology*, v. 35, n. 1, p. 80–84, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_16_273>.

KAL, Ali; TOKER, Mustafa Ilker; KAYA, Serpil. The comparison of antimicrobial effectiveness of contact lens solutions. *International Ophthalmology*, v. 37, n. 5, p. 1103–1114, 2017.

KATSIKOIANNI, M. *et al.* Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *European Cells and Materials*, v. 8, p. 37–57, 2004.

KUZMAN, Tomislav *et al.* Lens wearers non-compliance-Is there an association with lens case contamination? *Contact Lens and Anterior Eye*, v. 37, n. 2, p. 99–105, 2014.

LIN, Leo *et al.* Component analysis of multipurpose contact lens solutions to enhance activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 60, n. 7, p. 4259–4263, 2016.

MENDONÇA J; FORMENTIN L. Visual Rehabilitation with contact lenses after corneal keratoplasty. *Revista Brasileira de Oftalmologia RBO*, v. 79, n. 2, p. 141–147, 2020.

MILLS, Bethany *et al.* The role of fungi in fungal keratitis. *Experimental Eye Research*, v. 202, p. 108372, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108372>>.

MOHAMMADINIA, M. *et al.* Contact lens disinfecting solutions antibacterial efficacy: Comparison between clinical isolates and the standard ISO ATCC strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Eye*, v. 26, n. 2, p. 327–330, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/eye.2011.284>>.

MORAES, Marcelo Nacif *et al.* Mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials. *Revista Médica de Minas Gerais*, v. 23, n. 1, p. 99–104, 2013.

OZKURT, Yelda *et al.* Contact lens visual rehabilitation in keratoconus and corneal keratoplasty. *Journal of Ophthalmology*, p. 1–4, 2012.

RETUERTO, Mauricio A. *et al.* Diversity of Ocular Surface Bacterial Microbiome Adherent to Worn Contact Lenses and Bacterial Communities Associated with Care Solution Use. *Eye and Contact Lens*, v. 45, n. 5, p. 331–339, 2019.

ROSENTHAL, Ruth A. *et al.* Anatomy of a regimen: Consideration of multipurpose solutions during non-compliant use. *Contact Lens and Anterior Eye*, v. 26, n. 1, p. 17–26, 2003.

SZCZOTKA-FLYNN, Loretta B. *et al.* Increased resistance of contact lens related bacterial biofilms to antimicrobial activity of soft contact lens care solutions. *Cornea*, v. 28, n. 8, p. 918–926, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>>.

SZCZOTKA-FLYNN, Loretta B.; PEARLMAN, Eric; GHANNOUM, Mahmoud A. Microbial Contamination of Contact Lenses, Lens Care Solutions, and Their Accessories: A Literature Review. *Eye and Contact Lens*, v. 36, n. 2, p. 116–119, 2010.

WALLINE, Jeffrey J *et al.* Commentary on “interventions to slow progression of myopia in children”. *Chinese Journal of Evidence-Based Medicine*, v. 13, n. 1, p. 2–4, 2013.

YAMASAKI, Katsuhide *et al.* Antimicrobial efficacy of a novel povidone iodine contact lens disinfection system. *Contact Lens and Anterior Eye*, v. 41, n. 3, p. 277–281, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.clae.2017.12.001>>.

YAMASAKI, Katsuhide *et al.* The efficacy of povidone-iodine, hydrogen peroxide and a

chemical multipurpose contact lens care system against *Pseudomonas aeruginosa* on various lens case surfaces. *Contact Lens and Anterior Eye*, v. 44, n. 1, p. 18–23, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.clae.2020.02.012>>.

ZAKI, Marina; PARDO, Jesús; CARRACEDO, Gonzalo. A review of international medical device regulations: Contact lenses and lens care solutions. *Contact Lens and Anterior Eye*, v. 42, n. 2, p. 136–146, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.clae.2018.11.001>>.

ZAKIROVA, G. Z.; SAMOYLOV, A. N.; RASCHESKOV, A. Yu. Keratitis associated with contact lens correction in children and adolescents. *Vestnik Oftalmologii*, v. 137, n. 3, p. 21–25, 2021.

ZHU, Hua *et al.* Importance of Rub and Rinse in Use of Multipurpose Contact Lens Solution. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry*, v. 88, n. 8, p. 967–972, 2011.

11. ANEXOS

11.1 PRIMEIRA PÁGINA DO ARTIGO PUBLICADO

Received: 14 February 2023 | Accepted: 6 June 2023

DOI: 10.1111/topo.12189

ORIGINAL ARTICLE

OPO THE COLLEGE OF OPTOMETRISTS

Activity of multipurpose contact lens solutions against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* and *Candida albicans* biofilms

Jamile Reimann Mendonça | Leticia Ramos Dantas | Felipe Francisco Tuon

Laboratory of Emerging Infectious Diseases,
Pontifícia Universidade Católica do Paraná,
Curitiba, Brazil

Correspondence

Felipe Francisco Tuon, Laboratory of
Emerging Infectious Diseases, Pontifícia
Universidade Católica do Paraná, Curitiba,
Brazil.
Email: felipe.tuon@pucpr.br

Abstract

Introduction: The use of contact lenses has progressively increased around the world, thereby increasing the risk of complications. The most serious complication is microbial keratitis (corneal infection) that can progress to a corneal ulcer.

Methods: Fourteen multipurpose contact lens solutions were tested on mature biofilms comprising *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* and *Candida albicans*, using the minimum disinfection times recommended by the manufacturers. The biofilm was induced in the lens case, and 24 h later, the solutions were added. Activity against planktonic and sessile cells was evaluated and quantified as colony forming units per millilitre. The minimum concentration for biofilm eradication was defined as a 99.9% reduction in viable cells.

Results: Although most solutions exhibited activity against planktonic cells, only five of the 14 solutions produced a significant reduction in the *S. marcescens* biofilm. No solution achieved the minimal biofilm eradication of *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans*.

Conclusion: Multipurpose contact lens solutions provide greater bactericidal and/or fungicidal activity on planktonic cells than biofilms. The minimal eradication biofilm concentration was only achieved for *S. marcescens*.

KEYWORDS

bacterial keratitis, contact lens, corneal ulcer, disinfection, multipurpose contact lens solution

INTRODUCTION

The use of contact lenses is progressively increasing around the world.¹ In developed countries, their use may approach 10% of the population.² This increase is due to the aesthetic use of soft contact lenses to avoid wearing glasses, as well as for visual rehabilitation when glasses do not provide an adequate improvement in vision as occurs in patients with keratoconus and post-corneal transplant.³ In such situations, rigid gas-permeable lenses are frequently required.

It has been estimated that between 40% and 91% of patients do not follow medical guidelines regarding contact lens care.⁴ The lens case is frequently the most contaminated item for contact lens wearers, with contamination being identified in up to 80% of cases.⁴ Consequently, case contamination has been identified as the main risk factor for keratitis.⁴ Microbial keratitis is the most serious complication for contact lens wearers, with an infection rate of

4–6 per 10,000 lens wearers.⁵ The risk of vision loss due to microbial keratitis related to contact lens wear is between 0.3 and 0.9 per 10,000 wearers when all types of contact lenses are included.⁵

It is well known that adhesion and colonisation by microorganisms, particularly bacteria and fungi, on contact lenses and storage cases, as well as suction cups used to remove rigid gas-permeable lenses, are potential sources of ocular contamination.⁶ These microorganisms tend to form a biofilm on a colonised surface, characterised by adhesion to the surface and/or adhesion among the microorganisms themselves. The formation of this biofilm is associated with increased antibiotic resistance compared with the planktonic (free living) form, and may pose a risk factor for the development of corneal infections associated with contact lens use.⁶

The organisms in the biofilm alter their metabolic and reproductive rates, becoming more resistant to

