

Estudo experimental da eficácia da sulfadiazina de prata a 1% no tratamento da ceratite por *Fusarium Solani*⁺

Experimental study of silver sulphadiazine 1% in the treatment of Fusarium Solani keratitis

Luciene Barbosa de Sousa ⁽¹⁾
Marinho Jorge Scarpi ⁽²⁾
Olga Fischman Gompertz ⁽³⁾
Vitor Hugo Travassos da Rosa ⁽⁴⁾
Moacyr P. Rigueiro ⁽⁵⁾

RESUMO

Foi realizado estudo experimental com 21 coelhos para avaliar a eficácia da sulfadiazina de prata a 1% no tratamento da ceratite por *Fusarium solani*. Os animais foram divididos em três grupos tratados com sulfadiazina de prata a 1% (grupo S); com veículo (grupo V) e sem tratamento (grupo C). Todos os animais apresentaram cura clínica, com tempo médio igual à 17 dias no grupo C; 17 dias no grupo V e 20 dias no grupo S. A secreção ocular esteve presente por um período médio de 8 dias no grupo C; 7 dias no grupo V e 5 dias no grupo S. A conjuntivite esteve presente em todos os animais desaparecendo em 13 dias no grupo C; 14 no "V" e 12 no "S".

Observou-se melhora da doença epitelial em 5 dias, 4 e 3 dias, respectivamente, nos grupos C, V e S. A formação de abscesso ocorreu em todos os animais, tendo desaparecido mais precocemente no grupo S. A vascularização corneana foi maior nos animais tratados com sulfadiazina de prata. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os achados. O estudo histopatológico mostrou processo inflamatório crônico, vascularização e fibrose localizada. Conclui-se que a sulfadiazina de prata a 1%, usada topicamente mostrou-se ineficaz no tratamento das ceratites por *F. solani* em coelhos.

Palavras-chave: Ceratite; Sulfadiazina de prata; Fungo.

INTRODUÇÃO

O comprometimento ocular corneano por fungo foi descrito inicialmente por LEBER em 1979 ¹.

Sendo os fungos anemófilos os principais agentes micóticos de doenças oculares externas, vários estudos têm sido realizados para determinar a microbiota fúngica da conjuntiva normal ^{2, 3, 4, 5}, sabendo-se que variações podem ocorrer em função das condições ambientais.

As ceratites micóticas aparecem com maior frequência na primavera e, apresentam sinais clínicos sugestivos, mas que podem ser confundidos como

outras causas infecciosas, tornando-se mandatória a investigação laboratorial ^{6, 7}. Patologias oculares e doenças imunossupressoras, podem predispor o acometimento corneano por fungos ^{3, 8}. Os períodos de latência variam, sendo que, usualmente, os sintomas se manifestam em 24 a 26 horas após o trauma e o curso da doença é, normalmente, lento, podendo evoluir rapidamente para perfuração e endoftalmite ⁹.

Os fungos são microrganismos eucarióticos, heterotróficos e desprovidos de clorofila ou qualquer outro pigmento que lhes possibilite utilizar a luz como fonte de energia. Vivem em estado de saprofitismo, parasitismo ou simbiose ^{9,10}. Podem se repro-

⁺ Trabalho em parte financiado pelo CNPq.

⁽¹⁾ Pós-graduando nível doutorado do Setor de Córnea e Patologia externa do Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina (EPM).

⁽²⁾ Professor Adjunto do Departamento de Oftalmologia da EPM.

⁽³⁾ Professora Adjunta da Disciplina de Biologia Celular do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da EPM.

⁽⁴⁾ Diretora da Divisão Farmacêutica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

⁽⁵⁾ Assistente do Departamento de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina.

Endereço para correspondência: Luciene B. Sousa - Rua Botucatu, 822 - CEP: 04023-062 - São Paulo, SP.

duzir sexualmente, assexuadamente ou das duas maneiras. São classificados quanto seu aspecto em cultura em leveduriformes, filamentosos produtores de hifas septadas ou não septadas, ou apresentar dimorfismo ¹¹.

O gênero *Fusarium* é o mais comumente encontrado em ceratites micóticas em regiões de clima quente. O *Fusarium solani* tem sido o agente etiológico mais freqüente em vários países, inclusive no Brasil ^{12, 13, 14, 15}.

Uma vez estabelecido o diagnóstico laboratorial, o tratamento específico deve ser iniciado. Vários estudos são realizados atualmente, em busca de um antimicótico eficaz, mas todos apresentam toxicidade ou baixa eficácia no tratamento ^{16, 17}.

Sulfadiazina de prata (AgSD) é um fármaco com ação antimicrobiana, sintetizada por Fox em 1987, incorporando a prata à molécula de sulfadiazina, sendo empregada no tratamento de infecções por *Pseudomonas spp.* em vários países ¹⁸. Estudos mostram que sua ação antimicrobiana, ocorre por alteração da molécula de DNA da bactéria e, alteração na membrana celular que cumpre papel importante no controle da síntese de DNA e RNA ¹⁹.

Foi empregada no tratamento de ceratites micóticas por *Aspergillus fumigatus* e *F. solani* em coelhos por GUPTA et al., e comparada ao uso de econazol, mostrando melhor resultado ¹⁶. Posteriormente, em um estudo prospectivo com 110 pacientes com ceratite micótica, tratados topicamente com sulfadiazina de prata a 1%, MOHAN et al. encontraram resposta efetiva em 76,3% dos casos ²⁰.

O objetivo desta investigação foi a avaliação da eficácia da sulfadiazina de prata a 1% no tratamento da ceratite por *F. Solani*, em função de sua importante participação como agente etiológico das ceratites micóticas em nosso meio.

MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e um coelhos da raça New Zealand White, fêmeas, com idade de 3 a 4 meses, pesando de 2.480-3.180 kg, foram divididos em três grupos e mantidos no biotério sob condições adequadas. Os animais foram previamente imunossuprimidos com injeções subconjuntivais diárias de 21 fosfato dissódico de dexametasona a 0,4% por 5 dias. O imóculo preparado com cepa de *F. solani*, FCF-492, cedida pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, foi inoculado utilizando-se a técnica descrita por ISHIBASHI ²¹, em uma concentração de $1,0 \times 10^6$ conídeos/ml.

Os animais foram examinados diariamente, em lâmpada de fenda, até o início do tratamento, chamado dia "0". Posteriormente, o exame ocorreu a cada dois dias durante a primeira semana (dias 2, 4 e 6) e a cada três dias até o diagnóstico clínico de cura (dias 9, 12, 15, 18, 21 e 24).

Para o exame clínico, foram levados em consideração, a presença de alteração palpebral, secreção ocular, conjuntivite, doença epitelial, doença estromal, abscesso corneano, hipópio e vascularização da córnea. A padronização dos achados clínicos foi feita com pontos, que eram dados de acordo com a intensidade de cada sinal clínico.

Os animais foram sorteados em três grupos, tratados com pomada sulfadiazina de prata a 1% (grupo S); com o veículo e agente conservador utilizados na manipulação da droga em estudo (grupo V); e o último grupo não recebeu tratamento (grupo C). As medicações foram utilizadas em uma posologia de 8 vezes ao dia, aplicadas por um técnico e, manipuladas na farmácia do Hospital das Clínicas de São Paulo. O tratamento foi iniciado no 7º dia após a inoculação, quando os animais apresentavam comprometimento corneano estromal e abs-

cesso semelhantes. Em nenhum momento, o observador sabia qual a medicação que estava sendo aplicada em cada animal.

O tratamento foi mantido até o diagnóstico clínico de ausência de atividade micótica. Os animais foram então sacrificados e seus olhos enucleados para exame histopatológico.

RESULTADOS

Todos os animais apresentaram cura clínica da ceratite micótica. O tempo médio de duração da doença a partir do início do tratamento foi de 17,57 dias no grupo C; 20,14 dias no grupo S; e 17,57 dias no grupo V.

Não houve comprometimento palpebral, em nenhuma fase da doença. A secreção ocular desapareceu com um tempo médio de 8,43 dias no grupo C; 7,57 no grupo V e 5,86 no grupo S (gráfico 1). A média de tempo em que a conjuntivite desapareceu nos grupos C, V e S. foi, respectivamente, igual a 13,23 dias; 14,57 dias; e 122,86 dias (gráfico 2).

Gráfico 1

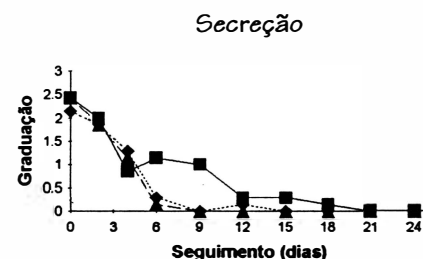


Gráfico 1 - Distribuição da graduação média da secreção ocular durante o tratamento

Gráfico 2

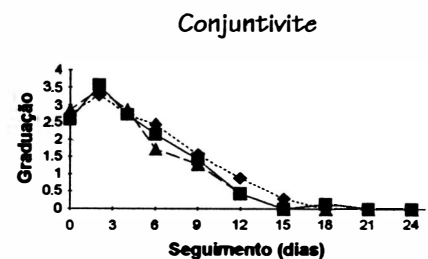


Gráfico 2 - Distribuição da graduação média da conjuntivite durante o tratamento

Em relação à doença epitelial, apenas 2 coelhos no grupo C e 2 coelhos no grupo V não apresentavam alteração epitelial quando iniciado o tratamento. O tempo médio de melhora da lesão epitelial foi de 5,14 dias no grupo C; 4,28 no grupo S e de 3,71 dias no grupo V (gráfico 3). A alteração estromal manteve-se presente até 17,57 dias no grupo C; 17,57 no grupo V e 20,14 dias no grupo S. Quanto a presença de abscesso, no grupo C, houve um aumento até o 2º dia, com posterior diminuição até o 24º dia, no grupo V, a formação de abscesso foi progressivamente menor, até o 18º dia, o grupo S apresentou diminuição até o 9º dia de tratamento (gráfico 4).

Gráfico 3

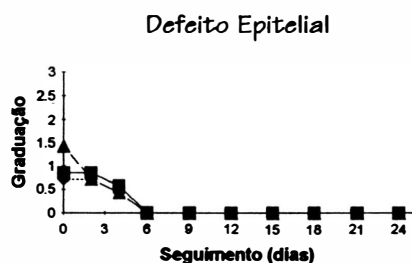


Gráfico 3 - Distribuição da graduação média da doença epitelial durante o tratamento

Gráfico 4

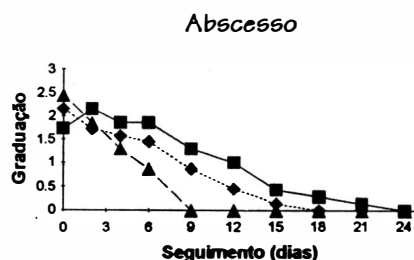


Gráfico 4 - Distribuição da graduação média do abscesso durante o tratamento

A vascularização corneana não esteve presente em apenas um animal do grupo C. Ela ocorreu progressivamente até o 4º dia no grupo C; até 12º dia no grupo S e até o 9º dia no grupo V (gráfico 5). Dividindo-se a córnea em quadrantes, a vascularização se fez em um quadrante em 5 animais do grupo C e em 4 quadrantes em um

animal. O grupo V teve 6 animais com vascularização em um quadrante e um animal com vasos em todos os quadrantes. O grupo S apresentou 4 animais com vascularização em um quadrante, um animal em 2 quadrantes e 2 animais mostraram vascularização em 4 quadrantes.

O hipópio foi semelhante em todos os grupos no início do tratamento. Seu desaparecimento se deu em média com 2,28 dias no grupo C; 2,86 dias no V e 2,57 dias no grupo S.

Em decorrência da semelhança entre os dados encontrados nos três grupos de estudo em todos os parâmetros avaliados, a análise realizada pelos métodos de "Wilcoxon Signed Rank test" e "two-sample T-test", não mostrou valores estatisticamente significantes.

O exame histopatológico pela coloração de HE, do ácido periódico de Schiff e prata-metenamina não mostrou estrutura sugestiva de fungo. Foi observado um processo inflamatório crônico, com vascularização e fibrose localizada. Em 4 animais, sendo dois do grupo C, um do grupo V e um do grupo S foi observada a presença de uma membrana fibrovascular retro-corneana, com rotura de membrana de Descemet.

DISCUSSÃO

"In vitro", estudos demonstram a eficácia da sulfadiazina de prata contra um variedade de fungos e bactérias²². Investigações experimentais e

Gráfico 5

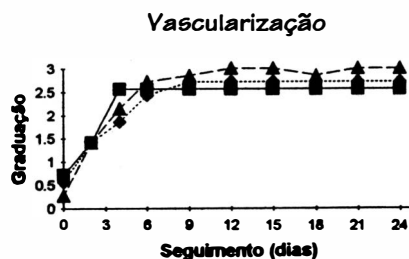


Gráfico 5 - Distribuição da graduação da vascularização corneana durante o tratamento.

em humanos, relataram boa resposta no tratamento da ceratite micótica com este fármaco^{20, 23}, despertando nosso interesse para a observação de sua eficácia em nosso meio.

Avaliando a presença e intensidade da secreção ocular, clinicamente, o grupo tratado com sulfadiazina de prata a 1% apresentou mais rápida do que os demais, com desaparecimento em 5,85 dias, mostrando uma diminuição progressiva até o 9º dia (gráfico 1). GUPTA et al., em um estudo experimental em coelhos com úlcera de córnea por *F. Solani*, utilizando para tratamento, a AgSD a 1% ou o econazol, encontraram um tempo médio de desaparecimento da secreção ocular de 5 dias, no grupo com AgSD; 8 dias no com econazol e 16 dias no grupo controle¹⁶.

A conjuntivite desapareceu com maior rapidez no grupo S, sugerindo que a AgSD diminui a intensidade da doença ocular, bem como não apresenta efeito tóxico para o epitélio corneano, concordando com os resultados de GUPTA et al.¹⁶.

Na avaliação da evolução de um processo corneano por fungo, é importante que seja feita a diferenciação entre a doença epitelial e estromal, visto que os antimicóticos disponíveis não apresentam boa penetração intra-ocular, são pouco lipossolúveis e a presença do epitélio corneano diminui a penetração dos fármacos²⁴.

Em relação à doença epitelial, apesar do desaparecimento da lesão ter ocorrido até o 6º dia em todos os grupos e, sua duração ter sido semelhante, analisando seu comportamento nos dois primeiros dias de tratamento, observamos que somente o grupo S, que apresentava maior comprometimento inicial, apresentou uma importante diminuição neste período. A ausência de doença epitelial não se mostrou o incidente com o diagnóstico de cura. Nossos estudos diferem dos valores apresentados por GUPTA et al., em que o desaparecimento da lesão epi-

telial ocorreu em 15 dias no grupo tratado com AgSD e 30 dias no grupo controle ¹⁶. MOHAN et al. em estudo prospectivo de casos de ceratite micótica por gêneros variados, tratados com AgSD a 1%, encontraram cicatrização da úlcera em um tempo médio de 24,4 dias ²⁰. A epitelização mais rápida por nós encontrada, pode ter diminuído a biodisponibilidade da droga na córnea, interferindo no resultado final.

A doença estromal e formação de abscesso estão diretamente relacionados com a patogenicidade do fungo ⁹. Neste estudo, o diagnóstico de “cura” ocorreu no mesmo tempo em que houve completo desaparecimento da doença estromal. O uso de AgSD não diminuiu o tempo médio de duração da doença estromal. O epitélio e endotélio corneano funcionam como uma barreira à penetração de drogas intraoculares, o que é diretamente relacionado com a solubilidade da droga. As características biofísicas da AgSD, associada à epitelização precoce em nosso estudo, justificam a ineficácia da droga.

Em um estudo para determinar o modelo experimental e técnica de inoculação ideais para reprodução de ceratites por *F. solani*, foi encontrado um tempo médio de cura em torno de 21 dias ¹⁶. GUPTA et al. em seu estudo experimental com *F. solani* e *A. fumigatus*, relatam cura em 15 dias no grupo tratado com AgSD e 35 dias no grupo controle. Neste estudo, o critério de “cura” era o desaparecimento da doença epitelial, bem como a melhora da conjuntivite, edema palpebral e secreção ocular, não se referindo ao comprometimento estromal ou formação de abscesso. O tratamento era iniciado em 24-48 horas de doença. Estas observações nos leva a crer que a disparidade entre nossos resultados pode ter ocorrido em função da falta de comprometimento estromal nos casos por eles estudados, o que pode ter facilitado a ação do fármaco, em função do tratamento precoce.

MOHAN et al. ²⁰, em estudo de casos de ceratite micótica, tratados com AgSD, encontraram um tempo médio de cura igual a 24,5 dias, com resposta favorável em 76,3% dos olhos, salientando a melhor resposta nos casos onde os agentes eram o *Fusarium spp.* e *Candida spp.* Neste estudo o critério de “cura” clínica foi a ausência de doença epitelial, secreção ocular, hipópio e sintomas, não sendo feito observação em relação ao comprometimento estromal e/ou abscesso. O diagnóstico clínico foi comprovado laboratorialmente em 67,2% destes casos. Acreditamos que seus achados favoráveis à AgSD foram em função de: menor gravidade dos casos, visto a falta de comprometimento estromal; diagnóstico de cura precoce, sabendo-se que o fungo pode apresentar recidivas e não é citado o seguimento dos pacientes; a presença de laboratório negativo, não implica na ausência de doença, não foram todos os casos tratados que tiveram o diagnóstico de fungo comprovado laboratorialmente.

Todos os animais apresentaram formação de abscesso, sendo que clinicamente, o grupo S foi o que apresentou o desaparecimento em menor tempo. Este achado nos leva a acreditar que a AgSD promoveu uma diminuição na capacidade do fungo de produzir necrose.

Em relação à vascularização corneana, nossos achados não concordam com GUPTA et al ¹⁶, onde a vascularização foi menor no grupo tratado com AgSD. Isto pode ser decorrente de uma diferença nos compostos usados na manipulação do medicamento, levando a uma maior toxicidade e vascularização.

A droga foi bem tolerada pelos animais, não apresentando sinal de toxicidade, exceto o ato de os animais do grupo S terem apresentado maior vascularização.

Os achados histopatológicos comprovam o diagnóstico clínico de “cura” da doença.

Os resultados deste estudo não podem ser diretamente transpostos para o ser humano, já que o coelho apresenta diferenças importantes em relação ao homem: sua córnea não possui membrana de Bowman, sua espessura é menor que a humana; as úlceras de córnea, em geral, são auto limitadas, sendo necessário métodos mais objetivos para avaliação da eficácia de um fármaco ou uma droga com ação mais evidenciável clinicamente.

Acreditamos que maiores esforços devam ser feitos em busca de uma terapêutica eficaz na ceratômicoze, direcionados para a melhoria das formulações existentes e descobrimento de novos antimicóticos.

SUMMARY

An experimental study was done with 21 rabbits to evaluate the silver sulphadiazine 1% efficacy in the treatment of Fusarium solani keratitis. They were divided in three groups treated with silver sulphadiazine 1% (group S); vehicle (group V) and without treatment (group C). All animals had clinic cure diagnoses in an average of 17 days in group C; 17 days in group V and 20 days in group S. Ocular secretion was present during 8 days in group C; 7 days in group V and 5 days in group S. Conjunctivitis had disappeared in 13 days in group C; 14 days in V and 12 days in group S. The epithelial keratitis was better in 5 days; 4 days and 3 days, respectively, in groups C, V and S. The abscess was present in all animals and disappeared early in group Ss. The cornealvascularization was more intensive in those animals treated with silver sulphadiazine. There was no significant statistic difference in the results. Histopathologic studies indicated chronic inflammatory process and vascularization. Topical silver sulphadiazine 1% was in efficient in the treatment of experimental F. solani keratitis.

*Estudo experimental da eficácia da sulfadiazina de prata
a 1% no tratamento da ceratite por Fusarium Solani*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 LEBER, T. - Keratomycosis aspergilina als ursache von hipopyonkeratitis. *Graefes Arch. Ophthalmol.*, 25:285-301, 1879.
- 2 FAZAKAS, A - Ueber die Rolle der Schlimmelpilze ein Verlauf von Augenkrankheiten. *Kfm Mbl Augenheilk.*, 100:434-8, 1938.
- 3 MITSUI, Y. & HANABUSA, J. - Corneal infections after cortisone therapy. *Brit. I. Ophth.*, 39:244-50, 1955.
- 4 SCARPI, M.J.; BELFORT JR., R.; GOMPERTZ, O.F. - Microbiota fúngica da conjuntiva normal de trabalhadores no corte da cana de açúcar. *Rev. Bras. Oftalmol.*, 44:57-65, 1985.
- 5 VIEIRA, L.A.; BELFORT JR, R.; FISCHMAN, O.G.; SCARPI, M. J. - Estudo da flora fúngica da conjuntiva normal de cortadores de cana de açúcar e de anemófilos da região canavieira de Santa Rita, Paraíba. *Arq. Bras. Oftalmol.*, 52:63-7, 1989
- 6 KAUFMAN, H.E. & WOOD, R.M. - Mycotic keratitis. *Am. J. Ophthalmol.*, 59: 993-1000, 1965.
- 7 JONES, D.B. - Decision making in the management of microbial keratitis. *Ophthalmol.*, 88:814-20, 1981.
- 8 GRAYSON, J. - Infectious keratitis: fungal and parasitic. In: ARFFA, R.C. - Diseases of cornea. St. Louis, Mosby year book, Inc. 1991. p. 199-223.
- 9 LIESEGANG, T.J. - *Bacterial and fungal keratitis.* In: KAUFMAN, H.E.; BARRON, B.A.; McDONALD, M.B.; WALTMAN, S.R. The Cornea. New York, Edinburgh, London, Melbourne. Churchill Livingstone, 1988. p.217-70.
- 10 DeVOE, A. G. - Keratomycosis. *Am. J. Ophthalmol.*, 71:406-14, 1971
- 11 RIPPON, J.W. - Mycotic infection of the eye and ear. In: ——— - Medical mycology, the phathologic fung and the pathogenic actinomycetes. 3 ed. Philadelphia, WB. Saunders, 1982. p. 682-98.
- 12 LIESEGANG, T. J. & FOSTER, R.F. - Spectrum of microbial Keratitis in south Florida. *Am. J. Ophthalmol.*, 90:38-47, 1980.
- 13 LIMA, A.L.H.; NISHI, M.; LOTTENBERG, C.L.; GUIUDUGLI, T. - Úlceras de córnea em serviço de referência *Arq. Bras. Oftalmol.*, 51:118-20, 1988.
- 14 SATO, E.H.; BURNIER JR., M.; MATTOS, R.B.; RIGUEIRO, M.P. - Transplante de córnea "a quente" em úlera micótica: estudo clínico, microbiológico e histopatológico. *Arq. Bras. Oftalm.*, 52:(2); 56-60, 1989.
- 15 VIEIRA, L.A.; CARNEIRO, M.D.F.; GUIUDUGLI, T.; SCARPI, M.J. - Incidência de úlceras fúngicas no laboratório de doenças externas oculares da Escola Paulista de Medicina, *Arq. Bras. Oftalmol.*, 55(4): 180, 1992. (Abstract, 009).
- 16 GUPTA, S.K.; UPPAL, R.K.; MOHAN, M. - Efficacy of silver sulfadiazine in experimental keratomycosis. *Symp. Ocul. Pharm. Therap.* Jan:47-51, 1985.
- 17 THOMAS, P.A.; ABRAHAM, D.J.; KALAVATHY, C.M.; RAJASIKARAN, J. - Oral itraconazole therapy for mycotic keratitis. *Mycoses*, 31 (5):271-9, 1988.
- 18 FOX JR, C.L. - Silver sulfadiazine a new topical therapy for Pseudomonas in burns. *Arch. Surg.*, 96:184-8, 1968.
- 19 ROZENKRAZ, H.S. & CARR, H.S. - Silver sulfadiazine: Effect on the growth and metabolism of bacteria. *Antim. Agents Chemoth.*, 2:367-72, 1972.
- 20 GUPTA, S.K.; UPPAL, R.K.; MOHAN, M. - Management of keratomycosis with 1% silver sulfadiazine: A prospective controlled clinical trial in 110 cases. In: ——— **The Cornea Transactions of the world congress on the cornea III**, Edt. Raven Press, Ltd., New York, 1988. p. 495-8.
- 21 ISHIBASHI, Y. - Experimental fungal keratitis due to Fusarium: Studies on animal model and inoculation technique. *Concilium Ophthalmologicum*, 23rd, Kyoto, 2:1705-08, 1979.
- 22 CARR, H.S.; WLODKOWSKI, T.J.; ROSENKRAZ, H.S. - Silver sulfadiazine: *In vitro* antibacterial activity, *Antim. Agents Chemoth.*, 4:585-7, 1973.
- 23 MOHAN, M.; GUPTA, S.K., KALRA. V.K.; VAJPAYEE, R.B.; SACHEDEV, M.S. - Silver sulphadiazine in treatment of mycotic keratitis. *Indian J Med Res*, 85:572-5, 1987.
- 24 JONES, B.R. - Principles in the management of oculomycosis. *Am. J. Ophthalmol.*, 79:719-51, 1975.

Biblioteca Bibliotecário Dr. Uffir de Araújo
CCC 49.639.250/0001-15