

Avaliação de um cianoacrilato quanto à esterilidade e atividade biocida

Evaluation of sterility and biocide activity on microorganisms of commercially available cyanoacrylate

Emerson Lioji Ueda¹
Ana Luísa Hofling-Lima²
Luciene Barbosa de Sousa³
Maira Sacata Tongu⁴
Maria Cecilia Zorat Yu⁵
Acácio Alves de Souza Lima⁶

RESUMO

Objetivo: Avaliar a esterilidade do cianoacrilato Super Bonder® e sua atividade biocida sobre microrganismos. **Métodos:** Para verificação de contaminação, vinte amostras de cianoacrilato Super Bonder® foram aplicadas em meio "brain heart infusion" (BHI) e incubadas a 37° C. Após 7 dias de incubação, foram retiradas e semeadas em placas de ágar sangue, chocolate e Sabouraud. Para determinação do efeito biocida, as cepas *Staphylococcus xylois*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* da American Type Culture Collection (ATCC) foram utilizadas em três diferentes modelos, alterando a maneira de aplicação do adesivo cianoacrilato Super Bonder® (em microescavações, em tubos e sobre o ágar). **Resultados:** Não foi observado crescimento positivo nas amostras de cianoacrilato semeadas em "brain heart infusion". Nas placas com microescavações observou-se crescimento de *P. aeruginosa* e inibição de *S. aureus* e *S. xylois*. Após a retirada do adesivo, houve crescimento bacteriano em todas as microescavações. Nas placas semeadas com *S. aureus* e *S. xylois* houve formação aparente de halos de inibição, o que não ocorreu com *P. aeruginosa*. Como resultado não é verdade que não foi demonstrado atividade biocida do cianoacrilato em relação às bactérias *S. aureus*, *S. xylois* e *P. aeruginosa*. **Conclusão:** Os testes de esterilidade realizados demonstraram que o cianoacrilato Super Bonder® é alternativa segura quanto à esterilidade. Não foi demonstrado nenhum efeito bacteriostático ou bactericida em relação a *S. aureus*, *S. xylois* e *P. aeruginosa*, o que indica a necessidade da manutenção da antibioticoterapia.

Descritores: Cianoacrilatos/uso terapêutico; Adesivos teciduais; Córnea/lesões; Anti-infecciosos; *Pseudomonas aeruginosa*/isolamento & purificação; *Staphylococcus*/isolamento & purificação

INTRODUÇÃO

O uso de adesivos teciduais para tratamento de afecções corneais com afinamento e micro-perfurações já é bastante divulgado e aceito⁽¹⁻⁵⁾. O adesivo tecidual de cianoacrilato mais empregado em Oftalmologia é o Hystoacril Blue®, o qual é comercializado estéril e com baixa toxicidade corneal⁽⁶⁾.

A dificuldade em obtenção e o alto custo do Hystoacril Blue® em nosso meio torna importante a busca por outros produtos. O cianoacrilato Super Bonder® (2-metil cianoacrilato)⁽⁵⁻⁶⁾, comercializado para finalidades não médicas, é utilizado com eficácia comprovada para pequenas perfurações de córnea.

Os estudos descrevem, em determinados tipos de cianoacrilato, um

Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, Departamento de Oftalmologia, Laboratório de Oftalmologia. Rua Botucatu, nº 820 - São Paulo (SP) CEP 04023-062

¹ Ex-estagiário do setor de Trauma Ocular e Pronto Socorro da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP.

² Chefe do Laboratório de Oftalmologia da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP.

³ Chefe do Setor de Doenças Externas e Córnea da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP.

⁴ Doutora em Oftalmologia pela Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP.

⁵ Biomédica responsável da Universidade Federal de São Paulo - LOFT-UNIFESP.

⁶ Pós-graduando da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP.

Endereço para correspondência: Instituto de Olhos de Marília - Avenida Rio Branco, 285 - Marília (SP) CEP 17500-000
E-mail: elueda@uol.com.br

Recebido para publicação em 19.03.2003

Versão revisada recebida em 31.07.2003

Aprovação em 30.01.2004

Nota Editorial: Pela análise deste trabalho e por sua anuência na divulgação desta nota, agradecemos ao Dr. Haroldo Vieira de Moraes Jr.

possível efeito bactericida sobre *Streptococcus*⁽⁷⁾ e outros microrganismos como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*⁽⁸⁾.

Como o cianoacrilato Super Bonder®, na forma como é comercializado, não apresenta em sua embalagem indicações de esterilidade, idealizamos este estudo para avaliar possíveis contaminações bacterianas ou fúngicas deste produto e avaliar sua atividade biocida em relação a bactérias.

MÉTODOS

1. Teste de esterilidade em amostras de cianoacrilato Super Bonder®

Amostras de 20 bisnagas de cianoacrilato Super Bonder®, colhidas de diferentes estabelecimentos comerciais, foram testadas, inoculando-se 10 gotas de cada bisnaga em 4 ml de meio de cultivo líquido BHI (Brain Heart Infusion).

Após a inoculação, os meios foram incubados a 37° C durante 7 dias, quando se utilizou alça de platina para retirada de amostras de cada tubo, as quais foram semeadas em placas de ágar sangue, chocolate e Sabouraud.

As placas foram examinadas diariamente para verificação de crescimento microbiano, sendo que as de ágar sangue e chocolate eram mantidas a 37° C por sete dias, e as de Sabouraud em temperatura ambiente por 15 dias.

2. Avaliação da ação inibitória do cianoacrilato Super Bonder® sobre o crescimento bacteriano

Para testar a hipótese de que o adesivo formado na polimerização do cianoacrilato poderia ter ação bactericida ou bacteriostática, idealizou-se três experimentos “in vitro”, utilizando-se três cepas bacterianas: *Staphylococcus xylois* (ATCC29771), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC15442). Os controles de cada experimento foram feitos sem a utilização do adesivo cianoacrilato.

Experimento 1:

Nos meios de ágar sangue foram realizadas microescavações com a introdução da ponta aquecida de uma agulha de platina, de 1 mm de diâmetro, onde semeou-se 0,1 ml de uma suspensão contendo $1,5 \times 10^8$ CFU/ml de cada cepa estudada.

As placas permaneceram em temperatura ambiente por 30 minutos para secagem do inóculo e então, uma gota do adesivo foi utilizada para recobrir as microescavações. Em contato com o ágar, ocorreu uma polimerização imediata do adesivo. As placas foram incubadas em estufa a 37° C e o crescimento bacteriano foi avaliado após 24, 48 e 72 horas de incubação.

Após este período, a película formada pelo adesivo foi removida, inoculada em meio líquido BHI e incubada em estufa a 37° C, para avaliação de crescimento bacteriano após 24 horas. As placas de ágar sangue foram mantidas em incubação a 37° C, durante 24, 48 e 72 horas.

Experimento 2:

Cada cepa de bactéria estudada, em suspensão contendo $1,5 \times 10^8$ CFU/ml, foi semeada em placas de ágar sangue pela técnica de esgotamento. Sobre a área semeada foram instiladas gotas de cianoacrilato Super Bonder® de modo a formar um disco com 6 mm de diâmetro. A presença de crescimento bacteriano foi avaliada após 24, 48 e 72 horas de incubação a 37° C.

Experimento 3:

Em tubos de ensaio contendo meio sólido de Mueller-Hinton foram feitas perfurações com agulha de platina, com 20 mm de extensão, onde se semeou 0,1 ml das suspensões contendo $1,5 \times 10^8$ CFU/ml de cada espécie bacteriana e aplicou-se o cianoacrilato. A presença de crescimento bacteriano foi avaliada após 24, 48 e 72 horas de incubação a 37° C.

RESULTADOS

1. Teste de esterilidade em amostras de cianoacrilato Super Bonder®

Não houve crescimento bacteriano em nenhum dos tubos contendo BHI e cianoacrilato até o sétimo dia de incubação. As amostras retiradas desses tubos e semeadas em placas de ágar sangue, chocolate e Sabouraud também não apresentaram crescimento de microrganismos.

2. Avaliação da ação inibitória do cianoacrilato Super Bonder® sobre o crescimento bacteriano

Experimento 1:

Houve crescimento das cepas testadas no trajeto das microescavações nas placas controle (sem o adesivo). Nas placas de teste, no local onde a película do adesivo estava recobrendo a micro-escavação houve crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* e inibição do crescimento de *S. aureus* e *S. xylois*.

Após a retirada da película, observou-se a presença de crescimento de *S. aureus* e *S. xylois* na área escavada.

Observou-se crescimento bacteriano em todos os tubos com meio BHI que receberam as películas de adesivo que recobriam as micro-perfurações.

Experimento 2:

Nas placas semeadas com as amostras de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus xylois* houve formação de halos de inibição de 15 mm e 12 mm respectivamente. Nas placas semeadas com *Pseudomonas aeruginosa* não houve formação de halos de inibição (Figura 1). Nas placas controle houve crescimento bacteriano em toda sua extensão.

Experimento 3:

Houve inibição do crescimento de *Staphylococcus* nos 5 mm



Figura 1 - Placas de ágar sangue sementeadas com *S. aureus* (foto da esquerda) e *Pseudomonas sp* (foto da direita). Note o halo em torno das gotas de cianoacrilato formado na placa com *S. aureus* e a sua ausência na placa com *Pseudomonas sp*

iniciais do trajeto das micro-perfurações nos tubos contendo cianoacrilato. Aqueles sementeados com *Pseudomonas aeruginosa* e os tubos controle apresentaram crescimento bacteriano em todo o trajeto das micro-perfurações.

DISCUSSÃO

Os estudos avaliam possível efeito inibitório do adesivo cianoacrilato sobre o crescimento de algumas bactérias⁽⁴⁾, utilizando isobutil cianoacrilato e em outro trabalho⁽⁶⁾, utilizando alquil 2-cianoacrilato, demonstraram efeito inibitório “in vitro” contra microrganismos gram positivos.

As amostras de cianoacrilato Super Bonder[®] testadas não apresentaram crescimento microbiano nos meios de culturas padronizados. Faz-se necessária a avaliação da esterilidade do produto com a utilização de meios de cultura especiais para outros patógenos como anaeróbios, acanthamoebas e mycobactérias.

A avaliação da atividade biocida do adesivo foi feita com a utilização de diferentes aplicações do adesivo sobre o inóculo, para que pudesse ser avaliada a importância do fenômeno de polimerização, que ocorre quando o adesivo entra em contato com outros meios, na possível atividade biocida do adesivo.

Os testes aqui apresentados para demonstração de um possível efeito bacteriostático ou bactericida, demonstraram a ausência de qualquer efeito inibitório sobre o crescimento da cepa de *Pseudomonas aeruginosa* utilizada, independentemente da forma de contato do adesivo com o inóculo e meio de cultura. Entretanto, em relação às cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus xylois*, observou-se que houve efeito inibitório sobre seu crescimento durante o contato do inóculo com o adesivo. O crescimento do microrganismo foi observado nas culturas das películas de adesivo retiradas e, nas placas de ágar sangue, após a retirada do adesivo dos micro-orifícios (Experimento 1), sugerindo que as bactérias estavam em estado latente, aderidas à película formada pelo adesivo. Os resultados obtidos nos experimentos 2 e 3 também sugerem que a atividade bacteriostática do adesivo sobre as cepas testadas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus xylois* parece ser diretamente proporcional à superfície de contato com o inóculo, ou seja, ocorre uma inibição nas

áreas superficiais, que entram em contato direto com o adesivo, com o crescimento bacteriano nas áreas mais profundas das micro-perfurações.

As amostras de cianoacrilato Super Bonder[®] testadas não apresentaram crescimento de patógenos em meios de ágar sangue, chocolate e Sabouraud, o que viabiliza, do ponto de vista microbiológico, a utilização do produto para o tratamento de afinamentos e microperfurações corneais. Entretanto, sua atividade biocida “in vitro” é ausente frente a importantes agentes causadores de infecção corneal, como o *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*⁽⁹⁾, recomendando-se a manutenção do tratamento com antibioticoterapia apropriada, quando da utilização do adesivo cianoacrilato Super Bonder[®], em vigência de quadros infecciosos.

Embora os efeitos tóxicos, ela possibilita maior acessibilidade em determinadas regiões do Brasil.

ABSTRACT

Purpose: To evaluate the sterility of the Super Bonder[®] cyanoacrylate and its biocide activity on microorganisms. **Methods:** For verification of contamination, twenty samples of Super Bonder[®] cyanoacrylate were applied to brain heart infusion (BHI) media and incubated at 37° C. After 7 days of incubation, they were plated on blood, chocolate and Sabouraud agar. For the determination of the biocide effect, *Staphylococcus xylois*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* strains of the American Type Culture Collection (ATCC) were used in three different models, modifying the way Super Bonder[®] cyanoacrylate application (in microholes, pipes and on the agar). **Results:** No positive growth was observed on the plated samples of cyanoacrylate in brain heart infusion. In the plates with microholes, growth of *P. aeruginosa* and inhibition of *S. xylois* and *S. aureus* were observed. After removal of the adhesive, bacterial growth in all microholes was observed. In the plates with *S. xylois* and *S. aureus* the presence of an apparent inhibition halo, that did not occur with *P. aeruginosa* was observed. **Conclusion:** The performed tests of sterility demonstrated that Super Bonder[®] cyanoacrylate is a safe alternative, regarding sterility, for treatment of small corneal perforations. No bacteriostatic or bactericidal effects were demonstrated with the tested cyanoacrylate, regarding *S. aureus*, *S. xylois* and *P. aeruginosa*.

Keywords: Cyanoacrylates/therapeutic use; Tissue adhesives; Cornea/injuries; Anti-infective; *Pseudomonas aeruginosa*/isolation & purification; *Staphylococcus*/isolation & purification

REFERÊNCIAS

1. Bonatti JA, Steffano JT, Matheus LCA, Oliveira GA, Suzuki H, Kara-José N. Desenvolvimento de adesivo tecidual fibrínico para uso experimental em perfurações corneanas. Arq Bras Oftalmol 1995;58:354-6.

2. Freitas D. Laceração de córnea e esclera. In: Moreira Jr. CA, Freitas D, Kikuta HS. Trauma ocular. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 1997. p.25-30.
3. Langston RH. Técnicas em transplante de córnea. In: Jaffe NS. Atlas de cirurgia ocular. São Paulo: Manole; 1993. p.2-14.
4. Bhaskar SN, Frisch J, Margetis PM, Leonard F. Application of a new adhesive in periodontic and oral surgery. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1966;22:526-35.
5. Sato ES, Belfort Jr R. Tratamento cirúrgico das perfurações corneanas não infectadas. In: Belfort Jr R, Kara-Jose N. Córnea clínica e cirúrgica. São Paulo: Roca; 1996. p.483.
6. Garrido C, Teles D, Koji W, Freitas D. Cola terapêutica de cianoacrilato nas perfurações corneanas. Arq Bras Oftalmol 1999;62:683-6.
7. Jandinski J, Sonis S. In vitro effects of isobutyl cyanoacrylate on four types of bacteria. J Dent Res 1971;50:1557-8.
8. Lehman RA, West RL, Leonard F. Toxicity of alkyl 2-cyanoacrylate. II. Bacteria growth. Arch Surg 1966;93:447-50.
9. Murray RP, Rosenthal KS, Kobayashi, GS, Pfaller MA. *Pseudomonas* e microrganismos relacionados. In: Murray RP, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA Microbiologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2000. p.215-7.



XVI Congresso Brasileiro de Prevenção da Cegueira e Reabilitação Visual

4 a 7 de setembro de 2004

Rio Centro - Pavilhão 5 - Rio de Janeiro

SORTEIO DE UM CARRO ZERO KM DURANTE O EVENTO

FAÇA SUA INSCRIÇÃO ANTECIPADA E TENHA MAIS CHANCES
DE GANHAR UM LINDO PEUGEOT 206 ZERO KM

Para concorrer, é necessário estar inscrito no Congresso

Congressistas inscritos até 30/05/2004
3 CHANCES (3 NÚMEROS)

Congressistas inscritos até 30/07/2004
2 CHANCES (2 NÚMEROS)

Congressistas inscritos após 30/07/2004
1 CHANCE (1 NÚMERO)



Consulte regulamento no site: www.cboprevcegueira04.com.br