



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Estudo da contaminação em diferentes materiais de lentes de contacto

Vanessa Parente Garcia

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Optometria em Ciências da Visão
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Prof. Doutor Francisco Miguel Pereira Brardo Ferreira
Co-orientadora: Doutora Ana Paula de Ascensão Rosa Gomes

Covilhã, Outubro de 2015

Dedicatória

A Nelson Garcia. Merecias tudo o que tive.

Agradecimentos

Aos meus pais que sempre me incentivaram a investir na minha educação e me permitiram, até hoje, ser “apenas” estudante.

Aos meus orientadores, Francisco Ferreira e Ana Paula Gomes, e a João Matos, que sempre me facultaram todos os recursos necessários à realização dos estudos aqui descritos, pelo apoio e conselhos.

E, por fim, aos meus amigos pelos momentos de distração que também são importantes.

O meu obrigado.

Resumo

O sucesso para uma correta utilização de lentes de contacto está muitas vezes relacionado com a interação do tipo de material com as características fisiológicas da córnea e em particular com as da estrutura lacrimal. Neste contexto, torna-se prioritário que os materiais das lentes de contacto sejam, não só biocompatíveis com os tecidos oculares, como resistentes aos microrganismos e substâncias presentes na superfície ocular e na lágrima.

O presente trabalho consistiu na análise e caracterização dos contaminantes em lentes de contacto usadas e não-usadas de três materiais (balafilcon A, lotrafilcon B e omafilcon B), e foi dividido em duas experiências. A primeira consistia em analisar e caracterizar os tipos de depósitos e microrganismos presentes em lentes de contacto após um mês de utilização em regime diário, e na segunda a intenção foi avaliar a tendência do material em adsorver dois tipos de proteínas (lisozima e albumina), sem a influência dos mecanismos de defesa oculares nem dos sistemas de manutenção.

Na primeira experiência detectaram-se mais depósitos orgânicos nos materiais de silicone-hidrogel (balafilcon A e lotrafilcon B) e mais depósitos inorgânicos no material hidrogel (omafilcon B). Na segunda foi apenas possível verificar uma maior deposição de lisozima nos três materiais.

Em conclusão, a adsorção de substâncias e microrganismos é influenciada por vários factores sendo algo difícil definir quais os mais relevantes pois varia muito entre materiais.

Palavras-chave

Materiais de lentes de contacto, depósitos, microrganismos

Abstract

The successful use of contact lenses is often related with the interaction of the lens material with the physiological parameters of the cornea and in particular with the lacrimal structure. In this context, it is a priority that the lens material is biocompatible with the ocular tissues and also resistant to microorganisms and substances present on the tear film and ocular surface.

This study consisted in analyzing and characterizing the contaminants in worn and un-worn contact lenses and it was divided in two experiments. The first one consisting in analyzing and characterizing the type of deposits and microorganisms present on contact lenses that have been worn on daily basis for one month, and the second one consisting in evaluate the tendency of the lens material to adsorb two types of protein (lysozyme and albumin), without the influence of the ocular defense mechanisms or the care regimen.

The first experiment showed more organic deposits on silicone-hydrogel materials (balafilcon A e lotrafilcon B) and more inorganic deposits on hydrogel materials (omafilcon B). The second experiment only allowed concluding that there was a higher deposition of lisozyme on the three contact lens materials.

In conclusion, the adsorption of substances and microorganisms is influenced by a lot of factors, so it is difficult to define which are more relevant because it varies between materials.

Keywords

Contact lens materials, deposits, microorganisms

Índice

Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Acrónimos	xvii
1. Introdução	1
1.1. Sistemas de limpeza e mecanismos de defesa	1
1.2. Depósitos orgânicos e inorgânicos	2
1.3. Microrganismos.....	5
1.4. Materiais	6
2. Metodologia e Materiais.....	8
2.1. Estudo A - Análise de lentes de contato: Ex vivo	8
2.1.1. Recrutamento	8
2.1.2. Procedimento experimental	8
2.1.3. Observação das lentes de contacto com o SEM	9
2.2. Estudo B - Deposição de proteínas: In vitro.....	11
2.2.1. Métodos de quantificação de proteínas	11
2.2.2. Preparação da Solução Base	11
2.2.3. Preparação da Solução Alcalina e do Reagente Fenol	11
2.2.4. Retas de calibração: albumina e lisozima.....	12
2.2.5. Estudo da adsorção de albumina e lisozima	14
3. Resultados	15
3.1. Estudo A - Contaminação de lentes de contacto: Ex vivo	15
3.2. Estudo B - Deposição de proteínas: In vitro.....	18
4. Discussão e Conclusões	20
5. Referências.....	22
Anexo I.....	24
Anexo II	26
Anexo III	28

Lista de Figuras

Figura 1 - Porta-amostras com os segmentos de lentes revestidos com ouro.

Figura 2 - À esquerda um depósito orgânico com sódio e vestígios de alumínio (A) e à direita também um depósito orgânico com uma grande percentagem de cálcio vestígios sódio, magnésio, potássio, e de ferro (B).

Figura 3 - (Da esquerda para a direita) Solução A; Solução B; Reagente fenol.

Figura 4 - Soluções após a adição da solução alcalina e do reagente fenol, respetivamente.

Figura 5 - Soluções com uma concentração de 0; 44 e 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de lisozima após as reações.

Figura 6 - Soluções das proteínas a 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Sistema de classificação de depósitos (Rudko modificado)

Tabela 2 - Grupos FDA de lentes de contacto.

Tabela 3 - Descrição dos parâmetros dos três tipos de lentes de contacto utilizados.

Tabela 4 - Percentagem de lentes com depósitos orgânicos e inorgânicos.

Tabela 5 - Quantidade de albumina em solução e a quantidade depositada na lente.

Tabela 6 - Quantidade de lisozima em solução e a quantidade depositada na lente.

Lista de Acrónimos

EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
CLARE	Acrónimo inglês de «Contact lens induced acute red eye» ou olho vermelho agudo induzido pela lente de contacto.
CLPU	Acrónimo inglês de «Contact lens induced peripheral ulcer» ou úlcera periférica induzida pela lente de contacto.
FDA	Acrónimo inglês de «Food and Drug Administration» ou administração de alimentos e substâncias
SEM	Microscópio eletrónico de varrimento
MMA	Acrónimo inglês de «methacrylic acid» ou ácido metacrílico
NVP	Acrónimo inglês de «N-vinyl pyrrolidone» ou N-vinilpirrolidona
PVA	Acrónimo inglês de «Polyvinyl alcohol» ou ácido polivinílico
TPVC	Acrónimo inglês de «tris-trimetilsiloxysilyl» ou tris-trimetilsiloxisilil
VCVE	Acrónimo inglês de «N-carboxivinil ester» ou éster n-carboxivinílico
PBVC	Acrónimo inglês de « poly[dimethylsiloxy]di[silybutano]bis[vinylcarbamate]» ou poli(dimetilsiloxi)di(sililbutanol)bis(vinilcarbamato)
DMA	Acrónimo inglês de «N,N-dimethyl acrylamide» ou N,N-dimetilacrilamida
TRIS	Acrónimo inglês de «trimetilsiloxi» ou trimetilsiloxano
HEMA	Acrónimo inglês de «2-hydroxy-ethylmethacrylate» ou 2-hidroxi-etilmetacrilato
EM	Acrónimo inglês de «ethylmethacrylate» ou etilmetacrilato
EGDMA	Acrónimo inglês de «ethyleneglycoldimethacrylate» ou etilenoglicoldimetacrilato
PMMA	Acrónimo inglês de «Poly(methyl methacrylate)» ou poli(metimetacrilato)

1. Introdução

1.1. Sistemas de limpeza e mecanismos de defesa

Cada vez mais pessoas são usuárias de lentes de contacto contudo muitas delas nunca tiveram qualquer tipo de episódio inflamatório ou infeccioso decorrente da utilização das lentes, mesmo que cometam alguns erros no uso e manutenção das mesmas.

Em parte este facto deve-se à presença de um sistema imunológico no organismo humano, que, de uma forma geral, protege o corpo através do reconhecimento e extermínio de elementos estranhos e prejudiciais. O olho não é exceção e, por isso, encontra-se também protegido por estes mecanismos imunológicos cujos principais intervenientes são as imunoglobinas e os leucócitos não-linfoides.

No tema em questão, entende-se como elementos estranhos os produtos de limpeza e manutenção da lente, o material da mesma e ainda a presença de depósitos e/ou microrganismos, que podem provocar reações de hipersensibilidade.

Existem ainda mecanismos de defesa próprios do olho e não-imunológicos como sendo a renovação epitelial da córnea (que aumenta a resistência da mesma e elimina tudo o que possa ter aderido às células mais superficiais); o pestanejo e o fluxo lacrimal; proteínas com atividade anti-microbiana - como a lisozima e a lactoferrina; a mucina lacrimal (que ajuda a prevenir a adesão de microrganismos) e a flora microbiana - um olho saudável também possui microrganismos importantes na proteção contra microrganismos externos. Porém é necessário que haja um equilíbrio entre as diferentes populações, sendo que estas exercem um controlo mútuo entre si evitando que proliferem em demasia. (1,2)

Apesar de todos estes mecanismos protegerem o olho durante o uso das lentes de contacto, por vezes estas acabam por provocar alterações nos mesmos deixando as estruturas oculares mais desprotegidas.

No entanto também depende muito do usuário garantir uma manutenção correta das lentes para remover os contaminantes das mesmas, a não ser que a substituição seja diária não sendo necessária nenhuma manutenção.

Primariamente é importante que as lentes sejam utilizadas e substituídas dentro do período estabelecido pelos profissionais e/ou fabricantes, para que o olho não seja sobrecarregado e tenha tempo de regenerar em contacto com o ar atmosférico.

Em segundo lugar está a limpeza, que deve ser feita antes e depois do uso das lentes utilizando soluções únicas destinadas não só a limpar a superfície mas a desinfetar, hidratar e armazenar as lentes. É cada vez mais uma preocupação por parte das empresas produtoras destas soluções que a sua composição se aproxime o máximo possível da constituição da lágrima, de forma a garantir a biocompatibilidade das mesmas.

No entanto existem outros agentes de limpeza que podem ser também utilizados para garantir uma limpeza mais eficaz, como por exemplo os surfactantes, que permitem a remoção

de depósitos insolúveis em água (exemplo: lípidos); os agentes enzimáticos, ou seja, enzimas proteolíticas que removem maioritariamente proteínas, e os agentes quelantes, que impedem a deposição do cálcio. (3)

Em terceiro lugar está a desinfecção, sendo que esta pode ser térmica ou química. A evolução das lentes de contacto hidrófilas e o progressivo aumento do seu conteúdo em água fez com que fossem desenvolvidos métodos não-térmicos, visto que o aquecimento repetitivo das lentes provocava alterações irreversíveis no material e parâmetros da lente. Porém a desinfecção térmica pode proporcionar uma remoção quase total dos microrganismos e não havia o risco de reações adversas por parte do utilizador. (3)

Dentro da desinfecção química esta altera e destrói componentes importantes dos microrganismos, sendo utilizado um método com peróxido de hidrogénio ou com outros químicos, e ainda excipientes para aumentar a ação anti-microbiana como EDTA, ácido bórico e etanol. (3)

Estas substâncias, excepto o peróxido de hidrogénio, para além do seu efeito desinfectante podem também atuar como conservantes, ou seja, prevenir a proliferação de microrganismos. Para isso basta que sejam adicionadas, obviamente em baixas concentrações, nos produtos destinados à conservação das lentes.

Em quarto lugar existem ainda produtos que se utilizam enquanto a lente se encontra em contacto com o olho, como a solução salina e as lágrimas artificiais. Estas soluções têm como objetivo atenuar os sintomas de secura e/ou desconforto, proporcionar uma sensação de alívio, hidratar as lentes, limpar e reduzir a deposição de substâncias e elementos prejudiciais e diminuir a desnaturação das proteínas.

Por último, os estojos de lentes de contacto também têm uma elevada importância em manter as lentes livres de contaminações. Sendo um ambiente fechado, húmido e quente é muito propenso à proliferação de microrganismos Estes devem ser limpos e substituídos com frequência para evitar a formação de biofilme, ou seja, um revestimento de microrganismos e a acumulação de detritos. Para além disso, o estojo deve estar sempre bem fechado para impedir a perda de líquido e a entrada de contaminantes. (2,3)

1.2. Depósitos orgânicos e inorgânicos

No geral os depósitos encontrados nas lentes podem ser salientes e isolados, surgindo como agregados de pontos brancos discretos praticamente invisíveis a olho nu, ou protuberâncias com cerca de 1 mm de diâmetro e semi-translúcidas, podem ter uma extensão maior formando revestimentos, filmes superficiais e placas que afectam a visão e aumentam a rugosidade da lente havendo uma maior interação entre a pálpebra e a mesma o que resulta num aumento também o movimento da lente. (2)

Podem surgir ainda como descolorações, mas estas são relativamente invulgares na prática clínica atual, em parte devem-se à interação entre o material da lente e os produtos de manutenção. No entanto, também se pode dever, por exemplo, à deposição de cálcio, nicotina

Estudo da contaminação em diferentes materiais de lentes de contacto

dos cigarros, corpos estranhos metálicos. Sendo que em alguns casos as propriedades físicas do material da lente podem sofrer alterações como uma redução na elasticidade. Esta descoloração também pode ser devida à presença de microrganismos com cor ou em grande quantidade. Contudo na tabela 1 encontra-se representada a classificação clínica dos depósitos. (2)

Tabela 1 - Sistema de classificação de depósitos (Rudko modificado)

Grau		Tipo	
I	Limpo	C	Cristalino
II	Visível sob iluminação oblíqua, magnificação a 7x e hidratada	G	Granular
III	Visível a olho nu sem iluminação especial e desidratada	F	Filme
IV	Visível a olho nu, hidratada ou desidratada	P	Placa
Extensão		D	Detritos
a	0-25% da lente	Co	Revestimento
b	26-50% da lente		
c	51-75% da lente		
d	76-100% da lente		

*Tabela adaptada de (3)

A deposição de substâncias é influenciada pelo conteúdo em água e pela ionicidade do material. As substâncias podem ser inorgânicas, metálicas e não-metálicas, resultantes do uso dos produtos de manutenção ou transmitidas pelos dedos ou pelo ar. Porém o mais comum é que estas sejam orgânicas, nomeadamente proteínas, lípidos, mucina ou outros componentes lacrimais assim como outras substâncias transmitidas pelos dedos ou pelo ar.

Como referido acima, pode acontecer que surjam substâncias como resultado do uso de cosméticos e produtos de manutenção, e ainda pelo contacto com contaminações do ar atmosférico devido, por exemplo, ao tabaco que contém substâncias como alumínio, o ferro, o zinco e o cobre (4), e à proximidade com zonas de construção ou instalações fabris onde haja libertação de vapores.

No entanto, numa utilização correta e cuidada das lentes de contacto, a maior fonte de contaminação das mesmas é de facto o filme lacrimal, daí que as substâncias orgânicas sejam mais frequentes. Isto pode resultar numa redução do conforto, da qualidade da visão e desencadear respostas inflamatórias. (3,5,6)

O filme lacrimal suaviza a superfície ocular disfarçando imperfeições do epitélio corneal, protege a córnea de detritos e materiais estranhos, fornece oxigénio e nutrientes, mantém a conjuntiva bulbar e palpebral hidratada e lubrificada e, contém substâncias antibacterianas e agentes imunológicos, mencionados anteriormente, que protegem contra infecções. Este possui cerca de 6 a 9 µm de espessura e começou por ser visto como um conjunto de três camadas, a mucínica, a aquosa e a lipídica. A primeira camada é composta por mucinas produzidas maioritariamente pelas células de goblet, que são adsorvidas pelo epitélio corneal tornando-o uma superfície hidrófila humectável, essencial para a estabilidade do filme lacrimal. Existem

ainda mais glicoproteínas que permitem a sustentação da camada seguinte, a aquosa, onde também se dissolvem vários produtos necessários para a superfície ocular. Por último existe uma camada lipídica que em grande parte é mantida pelas glândulas de Meibomius. Esta constitui uma interface entre o ar e a camada aquosa, reduzindo a evaporação da mesma. No entanto vários estudos têm demonstrado que talvez a estrutura do filme lacrimal seja um pouco mais complexa. (3,7,8)

De uma forma mais pormenorizada, as principais substâncias presentes na composição da lágrima são electrólitos (Na^+ , Cl^- , K^+), hidratos de carbono e derivados (Glicose, Lactato), proteínas principais (Lisozima, Lactoferrina, albumina) e outras proteínas (IgM, IgE) e lípidos e derivados (Ésteres de colesterol, Triglicéridos). (8)

Destes os que se encontram em maior quantidade são as proteínas e os lípidos.

Os lípidos formam uma barreira hidrofóbica que ajuda a manter a estabilidade da camada aquosa, atuam como escudo quando o olho está fechado por longos períodos de tempo e, como já foi mencionado, reduzem a evaporação do filme lacrimal quando o olho está aberto. Estes funcionam como lubrificante durante o pestanejo e podem funcionar como uma camada protetora contra a infeção bacteriana.

Alguns estudos comprovam que os lípidos se encontram presentes em todos os depósitos, sendo que os ésteres de colesterol são os mais comuns. (8)

No entanto, níveis de deposição elevados estão muito relacionados com factores próprios de cada indivíduo alterações como o elevado conteúdo lipídico do filme lacrimal ou baixo fluxo lacrimal. (8)

Neste trabalho a incidência será maior sobre as proteínas, o maior componente lacrimal. Há autores que acreditam que estas aderem à lente imediatamente após a sua colocação e, por norma, podem ser removidas em cerca de metade com uma manutenção cuidada. (9) Contudo, a deposição de certas proteínas até pode ser benéfica devido ao efeito anti-microbiano das mesmas. Para além disso, há proteínas que se conseguem ligar aos lípidos no filme lacrimal reduzindo a tensão superficial e aumentando a viscosidade e consequentemente a estabilidade do filme lacrimal. (10,11)

As proteínas naturais não têm coloração, o problema surge quando as proteínas sofrem um processo de desnaturação em que perdem a sua eficácia anti-microbiana e se tornam visíveis afectando a visão do sujeito. Por exemplo, a lisozima, após ser adsorvida pela lente, tende a desnaturar com muita rapidez. Para além disso, passam a ser reconhecidas pelo organismo como elementos estranhos ainda que, muito possivelmente façam parte da constituição lacrimal. Isto desencadeia respostas inflamatórias como, por exemplo, a conjuntivite papilar gigante. (11-13)

A deposição proteica é influenciada pelo material da lente, pela concentração de proteína, pela estrutura e carga da mesma. (5,9,12,14)

Como já foi referido as soluções únicas têm alguma eficácia em remover proteínas naturais, no entanto quando estas desnaturam acabam por criar ligações mais fortes com o material das lentes sendo a sua remoção um processo muito mais complicado.

Por isso é que se torna tão importante a limpeza regular das lentes, para que as proteínas não tenham tempo de desnaturar e a sua remoção seja mais fácil. Porém, as lentes descartáveis são cada vez mais a opção utilizada, sendo que a substituição frequente das mesmas impede a acumulação proteica. As lentes do grupo IV da FDA são a exceção, no entanto o material das mesmas induz muito pouco a desnaturação proteica. (10)

1.3. Microrganismos

Os microrganismos não são exclusivos de lentes utilizadas por pacientes sintomáticos. Nas lentes dos pacientes assintomáticos também são encontrados microrganismos mas em pequenas proporções, cujas fontes de contaminação são as mãos, as pálpebras - normalmente alojam as mesmas espécies microbianas que a restante pele mas mais espécies que a conjuntiva (15) - os produtos de manutenção, os estojos, a água canalizada e outras fontes ambientais.

As espécies de fungos mais comuns incluem *Cladosporidium spp.*, *Candida spp.*, *Fusarium solarni*, *Aspergillus spp.*, *Exophiala spp.* e *Phoma sp.*

Para além dos fungos a *Acanthamoeba* também é frequentemente detectada nas lentes, no entanto quando não existe contacto entre os estojos e água canalizada, e quando a substituição dos mesmos é mensal, essa contaminação deixa de ser evidente.

Apesar de poder haver contaminação por fungos e amebas, o mais comum é a contaminação bacteriana, que ocorre em maior proporção em situações de inflamação e infecção. (3,16)

Exemplos de consequências da contaminação por microrganismos (1,10,15-18) são o CLARE em que se detectam bactérias gram-negativo como *Pseudomonas aeruginosa* cuja adsorção pode ser influenciada pela presença de albumina e lactoferrina; a CLPU provocada maioritariamente por bactérias gram-positivo como *Staphylococcus aureus* cuja adsorção pode ser influenciada pela presença de lisozima, e ainda a queratite microbiana, esta pode ser encontrada em conjunto tanto com *Pseudomonas aeruginosa* como *Staphylococcus aureus*.

Alguns exemplos dos factores que influenciam a adsorção e proliferação dos organismos são os componentes lacrimais adsorvidos - que, supostamente atuam como proteção e alimento (9), porém alguns autores não encontraram provas de que a adsorção de proteínas afecte a adesão microbiana (10) e outros confirmaram que isso se verifica apenas em lentes hidrogel compostas pelo material poli-hidroxietilmetacrilato (1) - o material das lentes e propriedades da superfície, a espécie bacteriana, a estirpe e as características fenotípicas.

Num ambiente favorável à adsorção de organismos, a sua proliferação aumenta e estes ficam protegidos das defesas do hospedeiro e antibióticos. Isto representa a formação de um biofilme, o que resulta num número elevado de organismos e numa exposição prolongada da córnea aos mesmos.

Estes organismos tornam-se mais resistentes também aos efeitos anti-microbianos dos produtos de manutenção e assim estes persistem na lente danificando os tecidos oculares, quer diretamente quer pela produção de toxinas prejudiciais. (3)

1.4. Materiais

Em 1957 surgiram as primeiras lentes de contacto de hidrogel. Posteriormente, surgiram vários materiais de lentes de contacto por isso a agência americana FDA dividiu-os em grupos (Tabela 2). Uma das alterações foi a introdução de compostos de sílica para aumentar a permeabilidade ao oxigénio e assim o conteúdo em água não tem de ser tão elevado. Com isto reduziram-se as complicações devido a situações de hipóxia. Contudo, comprovou-se que nestas lentes a deposição de componentes lacrimais acontece de forma mais rápida por serem superfícies hidrófobas. (19)

Tabela 2 - Grupos FDA de lentes de contacto.

Grupo	Conteúdo em água	Ionicidade
I	Baixo (<50%)	Não-iónicas
II	Elevado (>50%)	Não-iónicas
III	Baixo (<50%)	Iónicas
IV	Elevado (>50%)	Iónicas

A deposição de substâncias é influenciada pela carga da superfície do material, pelo conteúdo em água, e pelo tempo de uso. (5,6)

Considerando a divisão feita pela FDA em quatro grupos, as lentes pertencentes ao IV grupo são as que possuem uma maior tendência à adesão de proteínas. Quanto às lentes dos grupos I, II e III, essa tendência, para além de muito semelhante entre os três, é muito menor. (5,9)

Os materiais iónicos, normalmente, possuem uma superfície com carga negativa o que os torna mais susceptíveis à adsorção de proteínas com carga positiva, como é o exemplo da lisozima. (6,11) Contudo, certos materiais são tratados com o intuito de remover a carga tornando-se não-iónicos.

Por isso mesmo, na bibliografia registam-se vários casos em que, no geral, há uma maior adesão de proteínas a materiais iónicos do que a materiais não iónicos. Especialmente em lentes cujos constituintes incluem MAA. (11)

Existem ainda registos que comprovam que a interação das proteínas com os diferentes materiais provoca a desnaturação das mesmas. No entanto, apesar de os materiais iónicos atraírem uma quantidade considerável de proteínas, a percentagem que sofre o processo de desnaturação é muito baixa. Há materiais que, apesar de adsorverem menos proteínas, induzem mais facilmente a desnaturação das mesmas. (11)

Abordando mais pormenorizadamente os resultados de outros autores, de facto foi detectada uma interação das proteínas utilizadas neste estudo (lisozima e albumina) com os monómeros e polímeros constituintes das lentes no geral. Por exemplo, na presença de HEMA há um aumento do conteúdo em água e uma deposição muito superior de lisozima comparativamente à albumina que se deposita pouco. Materiais que aumentam a hidrofobia, como EGDMA, TRIS e PMMA, aumentam também a deposição de albumina. (9,20)

Estudo da contaminação em diferentes materiais de lentes de contacto

A introdução de MMA confere uma carga negativa à lente havendo uma maior deposição de proteínas positivas como a lisozima e uma menor deposição de proteínas negativas como a albumina. No entanto, apesar do monómero NVP não ter carga, a presença deste elemento aumenta a deposição de ambas as proteínas. (9,14,20)

Quanto aos lípidos, no geral, as lentes não-iónicas têm uma maior afinidade com estes componentes lacrimais e em termos de conteúdo em água destacam-se as de conteúdo elevado. Ou seja, são as lentes do grupo II as que mais adsorvem lípidos sendo que as do grupo III têm menos tendência para a formação destes depósitos. (8)

Quando numa lente do grupo IV ocorre a formação de depósitos proteicos, a superfície torna-se menos hidrófila e, por isso, atrai mais lípidos que o normal. No caso das lentes do grupo II, as proteínas competem com os lípidos polares na superfície da lente. (8)

Em suma, enquanto a deposição proteica está mais relacionada com o grau de ionicidade do material da lente, a deposição lipídica está mais relacionada com os monómeros como NVP, que representa um aumento dos depósitos, e o PVA que representa uma diminuição. No entanto também depende muito das condições fisiológicas da superfície ocular do indivíduo. (8)

2. Metodologia e Materiais

2.1. Estudo A - Análise de lentes de contato: *Ex vivo*

2.1.1. Recrutamento

Para a realização do estudo selecionaram-se 20 indivíduos, entre os quais usuários e não usuários de lentes de contato, com idades superiores a 18. Não existiam restrições a nível do erro refrativo, no entanto aplicaram-se as normas impostas pelos fabricantes de lentes como, por exemplo, a exclusão de indivíduos com astigmatismos elevados. Para além disso, estabeleceu-se também como critério de exclusão patologias oculares e/ou a prescrição médica de fármacos que provoquem alterações no sistema ocular.

No final do estudo, o grupo era composto por apenas 17 indivíduos, sendo o motivo das desistências a indisponibilidade quanto às consultas de seguimento ou dificuldades no processo de adaptação às lentes de contacto.

2.1.2. Procedimento experimental

Foi imposto aos indivíduos a realização de um período inicial de 15 dias sem utilizar lentes de contacto de qualquer tipo antes do começo do estudo.

Após este tempo, realizaram-se vários testes optométricos, tais como: refração com o foróptero para determinar a graduação mais adequada; queratometria com o aberrómetro, verificando os raios de curvatura da córnea e relacionando-os com a curva base das lentes; biomicroscopia com a lâmpada de fenda, avaliando o estado ocular bem como os parâmetros de qualidade e quantidade lacrimal (o padrão lacrimal, a altura do menisco e o tempo de ruptura lacrimal).

De seguida iniciou-se a adaptação de um dos três tipos de lentes de contacto, apresentados na tabela 3, que os indivíduos iriam utilizar, em regime diário, por um período de duração de um mês. Ainda nessa mesma consulta recorreu-se novamente ao biomicroscópio para avaliar a adaptação da lente.

Foi fornecido ainda um estojo e solução única para a limpeza e armazenamento das lentes, e ainda lágrima artificial quando se revelou necessário.

Com o término do mês de utilização as lentes foram removidas e armazenadas em estojos com 2 mL de gluteraldeído 2,5% e colocadas no escuro a 3°C. Efetuou-se novamente biomicroscopia para verificar possíveis alterações.

Tabela 3 - Descrição dos parâmetros dos três tipos de lentes de contacto utilizados.

Lente	A	B	C
Material	Balafilcon A	Lotrafilcon B	Omafilcon B
Classificação FDA	III	I	II
Conteúdo em água	36%	33%	62%
Permeabilidade ao oxigénio (Dk/t)	130	138	42
Curva base	8,6 mm	8,6 mm	8,6 mm
Diâmetro total	14,0 mm	14,2 mm	14,2 mm
Principais monómeros	NVP + TPVC + NCVE + PBVC	DMA, TRIS, monómero de siloxano	HEMA+EM

Posteriormente realizou-se um novo período de 15 dias sem a utilização de lentes, não só porque é importante para a manutenção de uma córnea saudável que existam intervalos em que esta possa usufruir de uma quantidade de oxigénio superior à permitida pelas lentes para que regenere e para que possam ser eliminados elementos estranhos ao olho, mas também para evitar uma reação ocular à alteração do material. Depois desse intervalo de tempo, foi adaptado um segundo tipo de lentes. O procedimento realizado foi idêntico ao descrito para o primeiro tipo de lentes.

Por fim, efetuou-se uma última pausa de 15 dias e adaptou-se o terceiro tipo de lentes, seguindo sempre o mesmo procedimento.

2.1.3. Observação das lentes de contacto com o SEM

Nesta fase utilizou-se um microscópio electrónico de varrimento (HITACHI S-3400N) com a vantagem de ser possível alterar a pressão a que é feita a análise, o que permite visualizar as lentes de contacto sem qualquer tipo de desidratação e verificar se existem aglomerados de substâncias. No entanto, para uma análise mais exaustiva e apurar também a presença de microrganismos, estas têm que sofrer um processo de desidratação e secagem.

Primeiramente foi necessário recortar com um bisturi apenas uma amostra de cada lente, nomeadamente um pequeno retângulo, para que se pudessem inserir nos compartimentos do

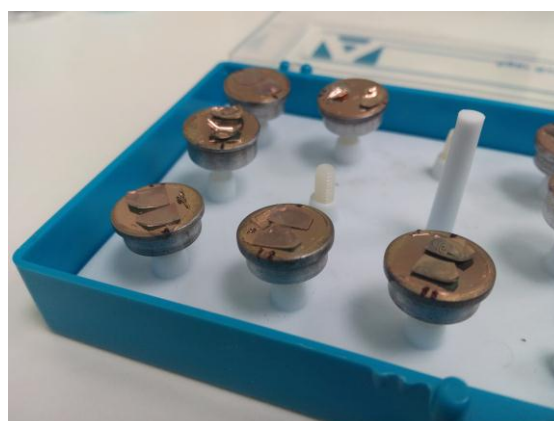


Figura 1 - Porta-amostras com os segmentos de lentes revestidos com ouro.

revólver utilizado no processo de secagem descrito mais à frente. Cada revólver possui seis compartimentos que foram preenchidos com os retângulos de todas as lentes.

Depois disso, cada revólver foi mergulhado durante dez minutos em concentrações de etanol progressivamente superiores: 30%; 50%; 70%; 90%; 100%.

Posteriormente, a secagem foi efetuada com um secador de ponto crítico (EMITECH K850) utilizando dióxido de carbono.

Para se observarem as amostras no SEM estas têm de ser colocadas em porta-amostras de alumínio sobre os quais é depositado um filme condutor de ouro (QUORUM Q150R ES) possibilitando a visualização da superfície das lentes (Error! Not a valid bookmark self-reference.).

Por fim, as amostras foram analisadas a diferentes ampliações e efetuou-se uma caracterização química (EDS) de depósitos aleatórios encontrados nas lentes como demonstrado na figura 2.

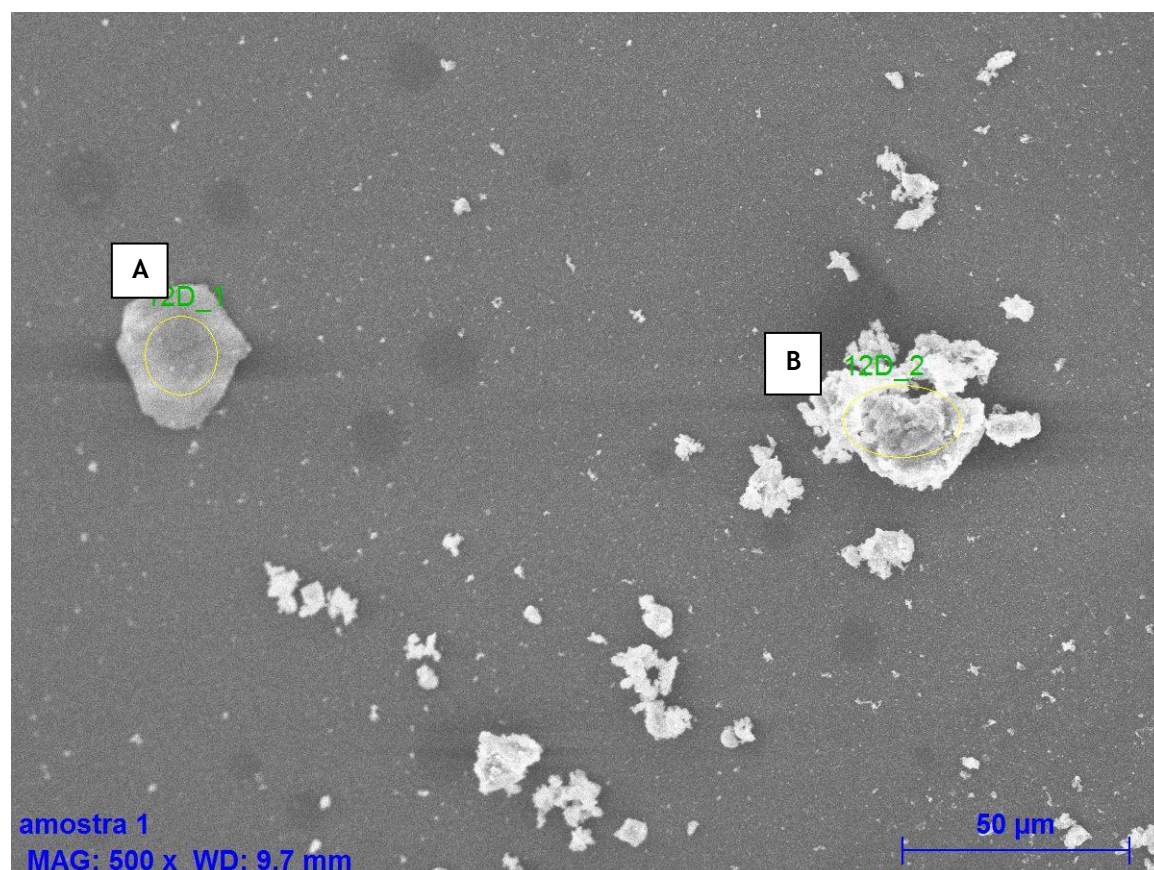


Figura 2 - À esquerda um depósito orgânico com sódio e vestígios de alumínio (A) e à direita também um depósito orgânico com uma grande percentagem de cálcio vestígios sódio, magnésio, potássio, e de ferro (B).

2.2. Estudo B - Deposição de proteínas: *In vitro*

Neste estudo o objectivo foi induzir a contaminação de lentes dos três materiais com duas proteínas, a albumina e a lisozima. (21)

2.2.1. Métodos de quantificação de proteínas

Por norma a quantificação de proteínas é realizada recorrendo a espectrofotometria UV-Visível. Para isso podem ser utilizados métodos baseados em dois princípios: Um deles é a utilização de luz ultra-violeta no comprimento de onda de, aproximadamente, 280 nm, e o outro baseia-se na reação de grupos específicos da proteína com diversos reagentes originando complexos, designados cromóforos, que absorvem radiação em diferentes faixas de comprimento de onda na zona do visível. Neste último inclui-se o método de Lowry que surgiu em 1922 e é o mais utilizado para quantificar proteínas.

O método consiste na reação de biureto, uma reação de redução entre o molibdato, o tungstato e o ácido fosfórico, presentes no reagente Folin-Ciocalteu, e aminoácidos como a tirosina, o triptofano e a cisteína presentes nas proteínas na presença do catalisador cobre (II). Esta reação confere um tom azulado à solução cuja intensidade aumenta proporcionalmente à quantidade de aminoácidos, o que aumenta a absorvância entre os 550 e os 750 nm.

Teoricamente, se a absorvância for medida no comprimento de onda de 550 nm só é possível quantificar concentrações elevadas de proteínas, enquanto nos 750 nm a sua sensibilidade abrange concentrações entre 1 e 100 µg/mL. (22,23,24)

2.2.2. Preparação da Solução Base

Nesta fase preparou-se uma base, semelhante à lágrima, de pH aproximadamente neutro composta por: Ácido bórico 0,2%; Tetraborato de sódio 0,02%; Cloreto de sódio 0,8% e água destilada.

2.2.3. Preparação da Solução Alcalina e do Reagente Fenol

A solução alcalina é viável apenas por um período reduzido após a preparação, desta forma é necessário produzir duas soluções (A e B) que apenas se misturam aquando a utilização, formando a solução alcalina. A solução A é composta por 7 g de carbonato de sódio anidro e 1,4 g de soda cáustica dissolvidos em 350 mL de água destilada. Quanto à solução B, contém 50 mg de sulfato de cobre (II) pentahidratado e 0,1 g de tartarato de sódio tetrahidratado dissolvidos em 10 mL de água destilada (Figura 3).

A junção da solução A com a solução B é feita numa proporção de 50:1.



Figura 3 - (Da esquerda para a direita) Solução A; Solução B; Reagente fenol.

Relativamente ao reagente fenol, apenas foi feita uma diluição do reagente de Folin-Ciocalteu 2N para 1N (Figura 2). Este foi armazenado num recipiente de forma a impedir a exposição à luz, uma vez que o reagente é fotossensível.

2.2.4. Retas de calibração: albumina e lisozima

Com a solução base, descrita anteriormente, prepararam-se soluções com diversas concentrações dos 4 aos 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de proteína. Estas simulam a lágrima humana mas contêm apenas uma proteína de forma a estudar apenas a deposição da mesma.

A 1 mL de cada uma das concentrações adicionou-se 5mL de solução alcalina. Após dez minutos adicionou-se 0.5 mL de reagente Fenol (Figura 4).



Figura 4 - Soluções após a adição da solução alcalina e do reagente fenol, respetivamente.



Figura 5 - Soluções com uma concentração de 0; 44 e 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de lisozima após as reações.

Passado meia hora as soluções sofreram uma alteração na sua tonalidade (Figura 5) e foram analisadas por espectrofotometria UV-Visível no comprimento de onda de 750 nm, registando-se a absorvância para cada uma delas. Sendo o objetivo a simulação de várias situações em que quantidades diferentes de proteína se iriam depositar na lente de contacto e deixar de estar em solução.

Estudo da contaminação em diferentes materiais de lentes de contacto

Desta forma elaborou-se uma reta de calibração relacionando a absorvância com a concentração de proteína. A elaboração desta reta permite inferir a concentração de proteína existente numa solução da qual conhecemos a absorvância.

Depois do processamento dos dados obtiveram-se duas retas de calibração, uma para cada proteína (Gráfico 1 e 2):

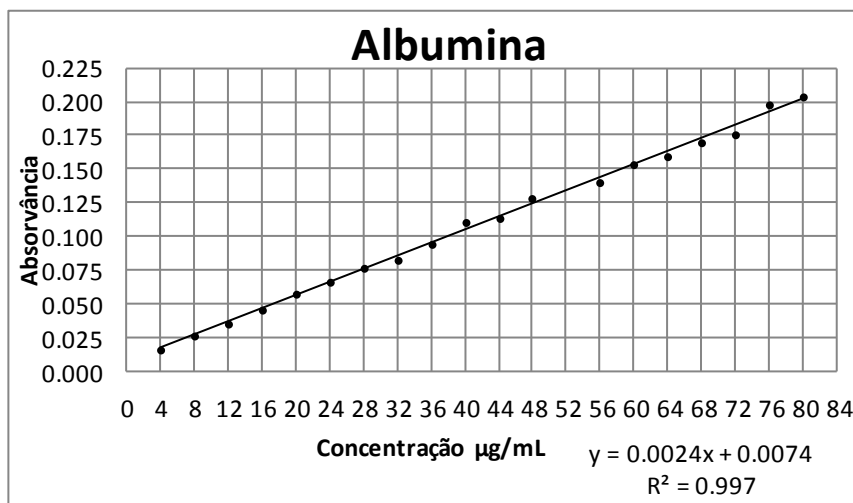


Gráfico 1 - Reta de calibração da albumina.

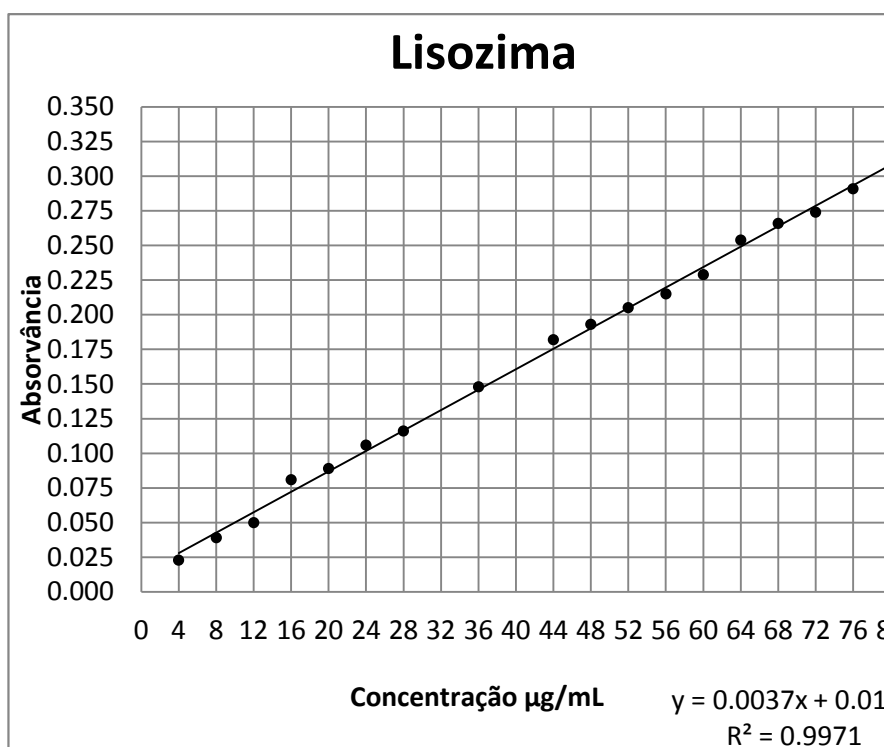


Gráfico 2 - Reta de calibração da lisozima.

2.2.5. Estudo da adsorção de albumina e lisozima

Numa segunda fase, selecionou-se uma concentração de 80 µg/mL (Figura 6). Prepararam-se quatro recipientes com uma lente de contacto do mesmo material em cada, juntamente com 1,5 mL da solução com a proteína, e isolaram-se os mesmos para impedir a evaporação e contaminações externas. Repetiu-se este procedimento para os três tipos de lentes de contacto descritos na tabela 1 e para as duas proteínas.

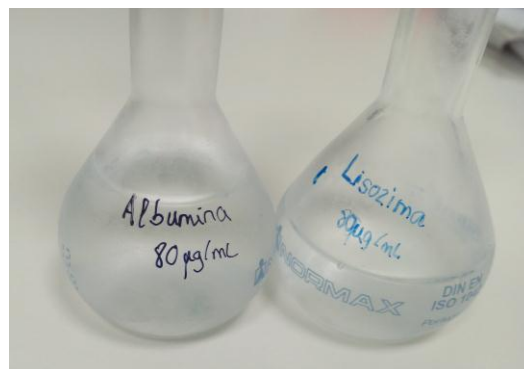


Figura 6 - Soluções das proteínas a 80 µg/mL.

A análise da absorvância das soluções contidas nos cinco copos foi efetuada em intervalos de tempo diferentes: 1/2 hora; 1 hora; 6 horas; 8 horas. Com recurso à reta de calibração efetuada anteriormente e com os valores de absorvância, determinou-se a concentração remanescente em solução. Assim, inferiu-se qual seria a percentagem depositada na lente.

Este procedimento repetiu-se para as duas proteínas em questão.

3. Resultados

3.1. Estudo A - Contaminação de lentes de contacto: *Ex vivo*

Foram analisadas 92 lentes usadas (31 Balafilcon A; 32 Lotrafilcon B e 29 Omafilcon B) examinando a composição de depósitos aleatórios em cada lente. As substâncias encontradas foram divididas em duas categorias, as que pertencem à composição natural da lágrima e as que são contaminações externas.

Nas lentes com material balafilcon A verificou-se que os elementos que surgem com mais frequência são o sódio, o cálcio, o alumínio e o ferro. Nas lentes lotrafilcon B os elementos mais frequentes eram o azoto, o sódio, o alumínio e o ferro. Por fim, nas lentes de omafilcon B as substâncias mais encontradas eram o azoto, o sódio, o alumínio e o ferro (Gráfico 3 e 4).

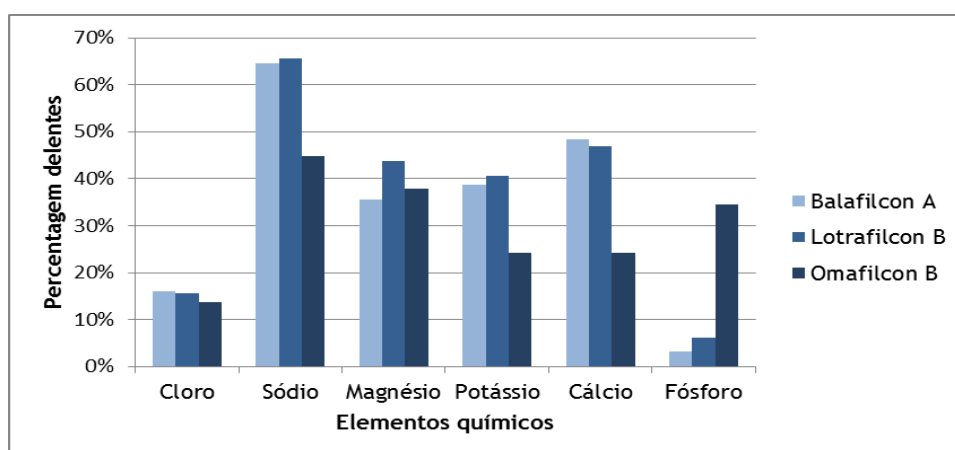


Gráfico 3 - Percentagem de lentes cujos depósitos incluíam substâncias presentes na lágrima.

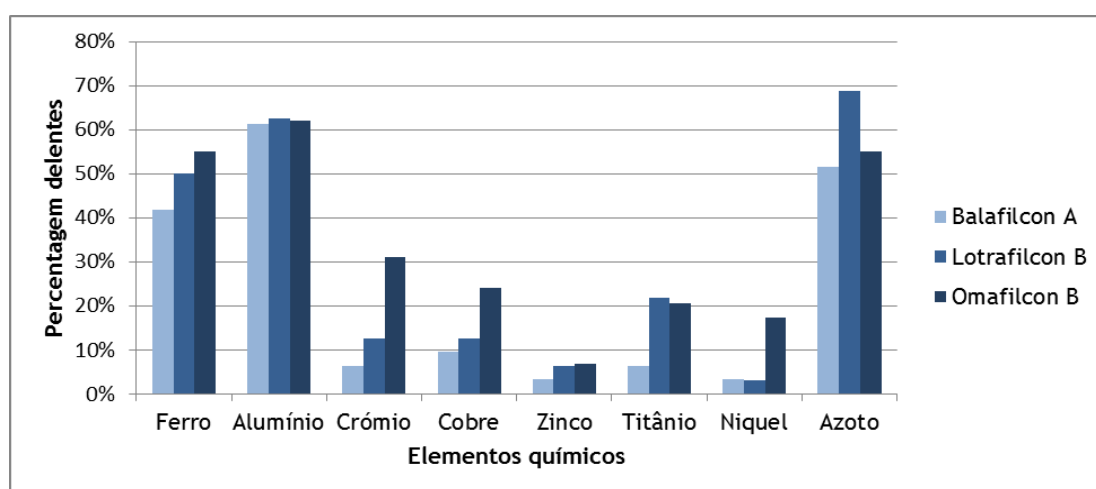


Gráfico 4 - Percentagem de lentes contaminadas com substâncias externas.

Estudo da contaminação em diferentes materiais de lentes de contacto

Tabela 4 - Percentagem de lentes com depósitos orgânicos e inorgânicos.

Material	Percentagem de depósitos orgânicos	Percentagem de depósitos inorgânicos
Balafilcon A	40.6%	20.8%
Lotrafilcon B	42.6%	27.1%
Omafilcon B	29%	34.1%

Contudo, numa análise comparativa (Tabela 4) verificou-se que as lentes com material lotrafilcon B são mais propensas a depósitos orgânicos e as lentes fabricadas com material omafilcon B a depósitos inorgânicos.

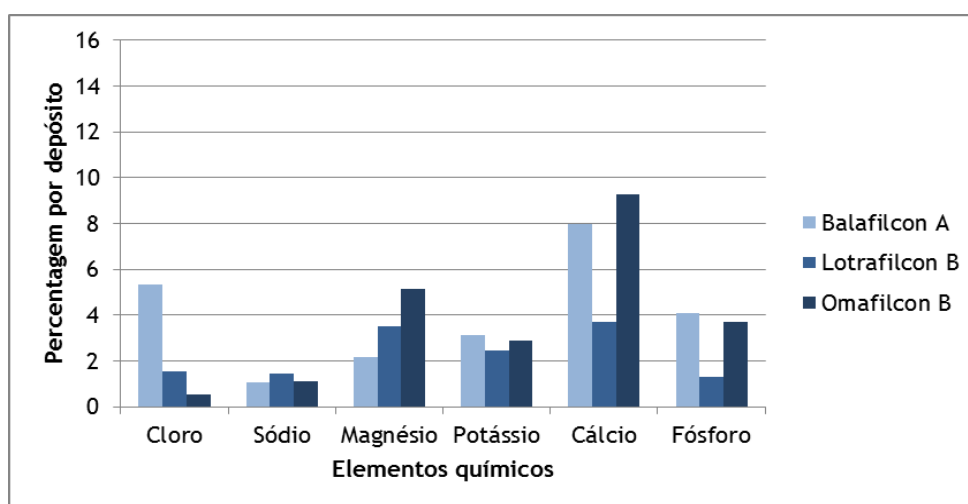


Gráfico 5 - Percentagem de substâncias presentes presentes na lágrima encontradas num depósito.

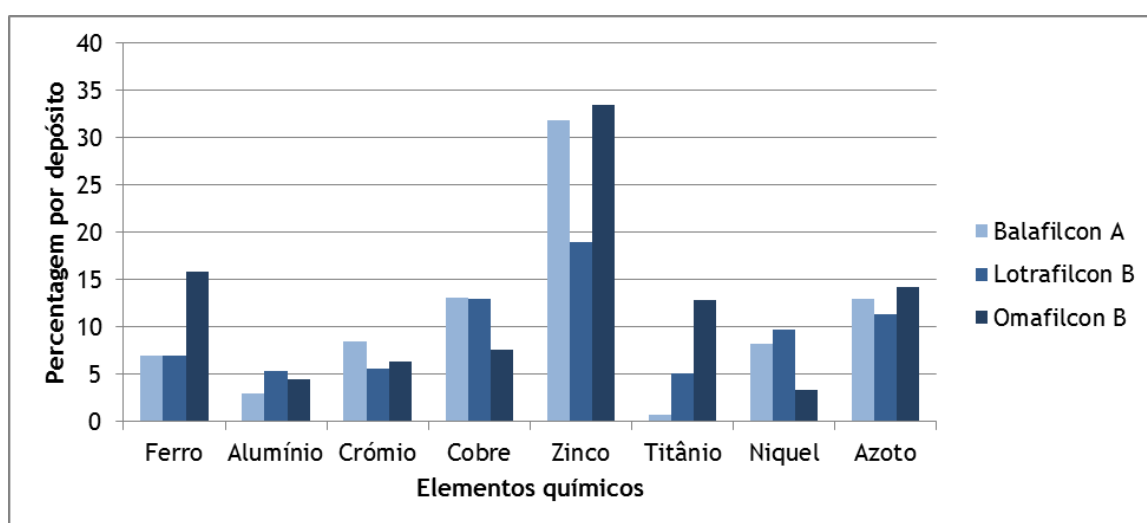


Gráfico 6 - Percentagem de substâncias externas encontradas num depósito.

Estudo da contaminação em diferentes materiais de lentes de contacto

No geral, os elementos que surgem em maior quantidade nos três tipos de materiais são o azoto e o zinco. Nas lentes balafilcon A destaca-se o azoto, o cálcio, o cloro, o zinco e o cobre. Quanto às lentes lotrafilcon B os mais relevantes são o azoto, o cálcio, o magnésio, o zinco e o cobre. Relativamente às lentes omafilcon B o azoto, o cálcio, o magnésio, o zinco e o ferro surgem em maior quantidade (Gráfico 5 e 6).

3.2. Estudo B - Deposição de proteínas: *In vitro*

Três tipos de lentes (tabela 3) foram testados quanto à sua tendência para a formação de depósitos proteicos.

Neste estudo, as lentes foram imersas em solução base com uma das proteínas, albumina e lisozima, por períodos de tempo diferentes que simulavam diferentes etapas durante as oito horas de utilização recomendadas.

As lentes lotrafilcon B adsorvem uma quantidade maior de albumina sendo que as lentes balafilcon A, praticamente não adsorvem albumina durante as 8 horas de utilização, como se pode observar na tabela 5 e no gráfico 7.

Tabela 5 - Quantidade de albumina em solução e a quantidade depositada na lente.

	½ h			1h			6h		
	Absorvância	[copo] µg/mL	[lente] µg/mL	Absorvância	[copo] µg/mL	[lente] µg/mL	Absorvância	[copo] µg/mL	[lente] µg/mL
A	0.200	80.250	-0.250	0.199	79.972	0.028	0.200	80.250	-0.250
B	0.193	77.333	2.667	0.189	75.667	4.333	0.190	76.083	3.917
C	0.189	75.667	4.333	0.190	76.083	3.917	0.186	74.417	5.583
8h									
	Absorvância	[copo] µg/mL	[lente] µg/mL						
A	0.198	79.417	0.583						
B	0.189	75.667	4.333						
C	0.187	74.833	5.167						

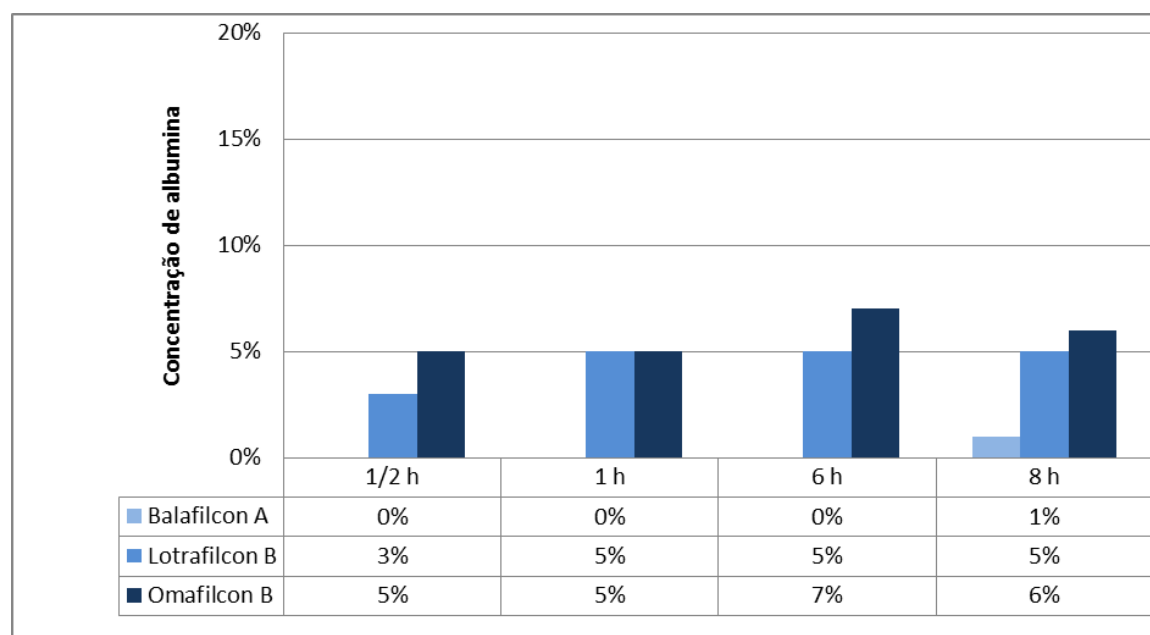


Gráfico 7 – Percentagem de albumina depositada nos três tipos de lentes nos diferentes intervalos de tempo.

Estudo da contaminação em diferentes materiais de lentes de contacto

Tabela 6 - Quantidade de lisozima em solução e a quantidade depositada na lente.

	½ h			1h			6h		
	Absorvância	[copo] µg/mL	[lente] µg/mL	Absorvância	[copo] µg/mL	[lente] µg/mL	Absorvância	[copo] µg/mL	[lente] µg/mL
A	0.310	80.189	-0.189	0.305	78.838	1.162	0.282	72.486	7.514
B	0.297	76.676	3.324	0.286	73.703	6.297	0.277	71.270	8.730
C	0.298	76.946	3.054	0.288	74.243	5.757	0.285	73.432	6.568
8h									
	Absorvância	[copo] µg/mL	[lente] µg/mL						
A	0.278	71.541	8.459						
B	0.257	65.865	14.135						
C	0.278	71.541	8.459						

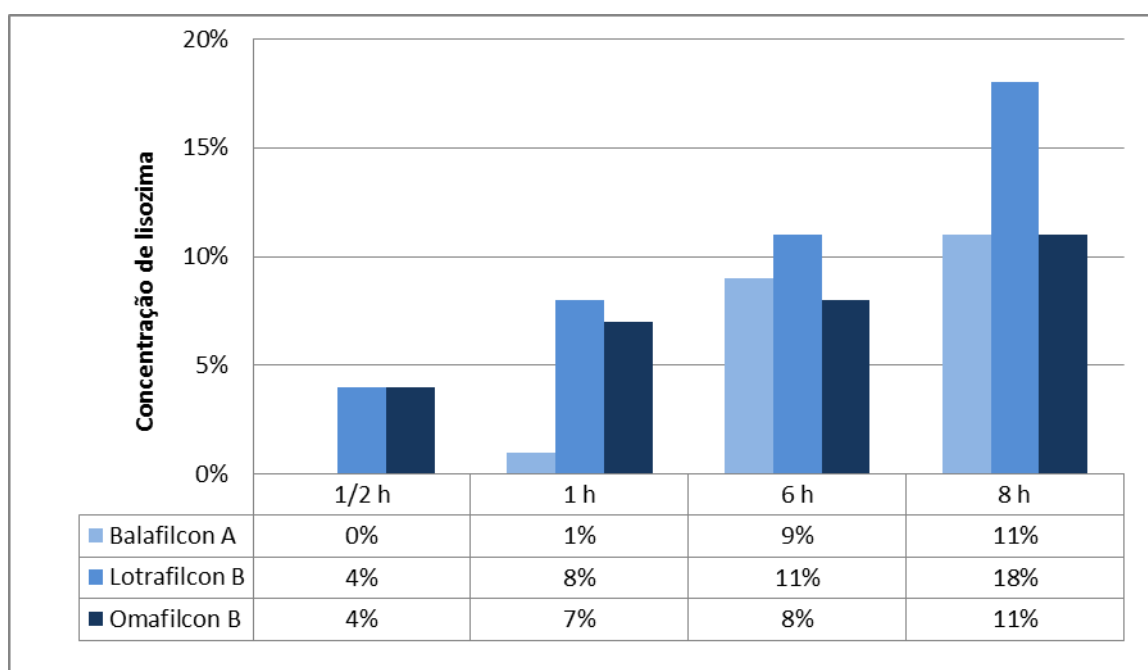


Gráfico 8 – Percentagem de lisozima depositada nos três tipos de lentes nos diferentes intervalos de tempo.

No caso da proteína lisozima, todas as lentes adsorveram a proteína sendo que as lentes lotrafilcon B destacam-se ligeiramente (tabela 6 e gráfico 8). No entanto, no período de utilização recomendado (6 a 8 horas), os três materiais apresentam resultados muito semelhantes.

4. Discussão e Conclusões

Das substâncias encontradas nos depósitos analisados no estudo A destaca-se o cloro, o sódio, o magnésio, o potássio, o cálcio e o fósforo, que fazem parte dos principais componentes da lágrima. Porém, também se encontram em líquidos de limpeza e lágrimas artificiais, visto que estes são inspirados na lágrima de forma a garantir a biocompatibilidade do mesmos e evitar reações de hipersensibilidade.

Relativamente às substâncias que não fazem parte da composição da lágrima encontramos elementos como o azoto, frequentemente encontrado na constituição de aminoácidos que compõem as proteínas.

Quanto a outras substâncias externas encontradas nas lentes de contacto, destacam-se o alumínio, o ferro, o zinco e o cobre que estão presentes, por exemplo, no fumo provocado pelos cigarros. Mesmo que os indivíduos não fossem fumadores todos se incluíam na faixa etária dos 18 aos 23 anos e eram estudantes universitários, ou seja, basta que frequentem locais com fumadores, o que é muito comum nestas idades, especialmente espaços noturnos. Porém, são substâncias que também se encontram em muitos cosméticos.

Quanto à presença de microrganismos, não foi detetada a existência dos mesmos em nenhuma das lentes testadas. No entanto o método usado permitia apenas a visualização com alta resolução do que se encontrava na superfície da lente, ou seja, uma avaliação meramente qualitativa, não havendo nenhuma forma de identificar diretamente a presença de microrganismos. Com esta técnica só era possível analisar uma pequena amostra de cada lente sendo que poderia de facto haver microrganismos na restante lente, mas para a contaminação ser significativa teria de se estender por toda a superfície. Para além disso, todos os utilizadores estavam livres de patologias oculares e as lentes foram utilizadas durante apenas um mês sendo que à noite eram removidas.

Teichoroeb J. *et al* concluíram que materiais de silicone-hidrogel, como balafilcon A e lotrafilcon B, têm maior tendência para depósitos proteicos como se pode verificar no estudo A em que estes materiais adsorveram mais componentes orgânicos que as lentes omafilcon B. Contudo estas conclusões não se verificam nos resultados da experiência B. (19)

Jones L. *et al* concluíram, pelo contrário, que os materiais de silicone-hidrogel adsorvem poucas quantidades de proteína, nomeadamente lisozima. (6)

No entanto, todos estes autores ressalvam que não é algo linear sendo importante a avaliação dos monómeros e as propriedades da superfície de cada material.

Segundo a revisão feita por Luensmann D. e Jones L., como o material balafilcon A possui na sua composição NVP deveria adsorver ambas as proteínas, em especial a lisozima, o que se confirmou nos resultados da experiência B em relação à lisozima. Porém, estas pertencem ao grupo FDA III, ou seja, são lentes iónicas e, como foi descrito anteriormente, de facto têm uma alguma afinidade com as proteínas. Porém são carregadas negativamente, o que faz com que

tenham uma tendência maior em adsorver proteínas com carga positiva, como a lisozima, e uma incapacidade em adsorver proteínas carregadas negativamente, como a albumina. Em oposição as lentes do material lotrafilcon B pertencem ao grupo I, não são iónicas, mas possuem na sua composição o monómero hidrófobo TRIS que aumenta a deposição de albumina. (9)

Relativamente ao material omafilcon B este pertence ao grupo II, ou seja, não são iónicas tendo pouca afinidade com substâncias proteicas, e na sua composição existe HEMA. É por isto que, tal como os autores concluíram, a deposição de albumina tenha sido menor em relação à deposição de lisozima.

Nos três tipos de materiais a adsorção foi superior no caso da lisozima, que, segundo Subaramann L, têm mais facilidade em ser adsorvida devido ao seu tamanho reduzido. (1)

No geral, o método utilizado tinha algumas limitações na medida em que envolveu várias repetições. Como se pretendia utilizar concentrações baixas para simular a constituição da lágrima, as leves variações de concentração não eram corretamente detectadas influenciando os resultados. Para além de que representa apenas uma utilização das lentes de contacto, com um contacto mais prolongado com ambas as proteínas, os resultados poderiam sofrer alterações sobre quais os materiais mais contaminados.

Por fim, não é possível fazer uma comparação direta entre os dois estudos, sendo que a primeira se trata de uma situação real e a segunda simboliza apenas uma simulação de contaminação por depósitos orgânicos isolados. O conjunto das duas experiências permite um leve conhecimento da relação material/depósito em duas situações distintas, o que permite aos profissionais fazer uma escolha correta do tipo de lente adaptar.

5. Referências

1. Subbaraman LN, Borazjani R, Zhu H, et al. Influence of Protein Deposition on Bacterial Adhesion to Contact Lenses. *Optom Vis Sci* 2011; 88(8):959-966.
2. Pedrosa J, Horta A, Gonzalez-Meijome JM. Fundamentos sobre microbiologia da infecção e defesas imunológicas aplicadas à adaptação de lentes de contacto. In: *Contactologia*. Editor: Gonzalez-Meijome JM. Santiago de Compostela: Unidixital, 2005; pp. 143-157
3. Phillips AJ, Speedwell L, editors. *Contact Lenses*. 5th edition. Butterworth Heinmann Elsevier. 2007.
4. Bernhard D, Rossmann A, Wick G. Metals in Cigarette Smoke. *IUBMB Life* 2005; 57(12):805-809.
5. Glasier MA, Keech A, Sheardown H, et al. Conformational and Quantitative Characterization of Lysozyme Extracted from Galyfilcon and Senofilcon Silicone Hydrogel Contact Lenses. *Curr Eye Res* 2008; 33:1-11.
6. Jones L, Senchyna M, Glasier MA, et al. Lysozyme and Lipid Deposition on Silicone Hydrogel Contact Lens Materials. *Eye Contact Lens* 2003; 29:S75-S79.
7. Yebra-Pimentel E, Gonzalez-Meijome JM, Garcia-Resua C. Estrutura e análise da lágrima na adaptação de lentes de contacto. In: *Contactologia*. Editor: Gonzalez-Meijome JM. Santiago de Compostela: Unidixital, 2005; pp. 45-64.
8. Lorentz HI. *Lipid Deposition on Hydrogel Contact Lenses [dissertação]*. Waterloo: University of Waterloo; 2006.
9. Luensmann D, Jones L. Protein deposition on contact lenses: The past, the present and the future. *Cont Lens Anterior Eye* 2012; 35:53-64.
10. Omali NB, Zhu H, Zhao Z, Willcox MDP. Protein Deposition and Its Effect on Bacterial Adhesion to Contact Lenses. *Optom Vis Sci* 2013; 90(6):557-564.
11. McDonnel C. Contact lens materials. *Optometry today*.
12. Subbaraman LN. *Lysozyme Deposition Studies on Silicone Hydrogel Contact Lens Materials [dissertação]*. Waterloo: University of Waterloo; 2005.
13. Subbaraman LN, Woods J, Teichroeb JH, et al. Protein Deposition on a Lathe-Cut Silicone Hydrogel Contact Lens Material. *Optom Vis Sci* 2009; 86(3):244-250.
14. Rezwan K, Meier LP, Gauckler LJ. Lysozyme and bovine serum albumin adsorption on uncoated silica and ALOOH-coated silica particles: the influence of positively and negatively charged oxide surface coatings. *Biomaterials* 2005; 26:4351-4357.
15. Willcox MDP, Harmis N, Cowell BA, et al. Bacterial Interactions with Contact Lenses; Effects of Lens Material, Lens Wear and Microbial Physiology. *Biomaterials* 2001; 22:3235-3247.

16. Szczotka-Flynn LB, Pearlman E, Ghannoum M. Microbial Contamination of Contact Lenses, Lens Care Solutions, and Their Accessories: A Literature Review. *Eye Contact Lens* 2010; 36(2):116-129.
17. Fleiszig SMJ, Evans DJ. Pathogenesis of Contact Lens-Associated Microbial Keratitis. *Optom Vis Sci* 2010; 87(4):225-232.
18. Szczotka-Flynn L, Jiang Y, Raghupathy S, et al. Corneal Inflammatory Events with Daily Silicone Hydrogel Lens Wear. *Optom Vis Sci* 2013; 91(1):3-12.
19. Teichroeb JH, Forrest JA, Ngai V, et al. Imaging Protein Deposits on Contact Lens Materials. *Optom Vis Sci* 2008; 85(12):1151-1164.
20. Luensmann D, Jones L. Albumin adsorption to contact lens materials: A review. *Contact Lens Anterior eye* 2008; 31:179-187.
21. Arora A, Ali A, Khar RK, et al. Deposition Studies Using Multipurpose Solution on Hydrophilic Contact Lenses. *Electron J Biomed* 2009; 1:10-17.
22. Santos F. Método de Lowry: Validação e Estimativa do Cálculo da Incerteza. Araraquara: Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”; 2012.
23. Zaia DA, Zaiz CT, Lichti J. Determinação De Proteínas Totais Via Espectrofotometria: Vantagens E Desvantagens Dos Métodos Existentes.
24. Waterborg JH. The Lowry Method for Protein Quantification. In: Walker JM © Humana Press Inc., Totowa, NJ. *The Protein Protocols Handbook*, 2nd Edition. Human Press. 2002. 7-9.

Anexo I

Aprovação do projeto por parte da comissão de ética da FCS



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PARECER

Processo: CE-FCS-2014-025

Tema Projecto/Proponente: *“Identificação e caracterização de depósitos e microrganismos em lentes de contacto de alto conteúdo em água”* – Exma. Senhora Dra. Dra. Vanessa Garcia

Exmo. Sr. Presidente da Faculdade de Ciências da Saúde

Apreciado o pedido referente ao processo acima mencionado esta Comissão não detectou matéria que ofenda os princípios éticos.

Covilhã, 19 de Dezembro de 2014



O Presidente da Comissão de Ética
Prof. Doutor José Manuel de Oliveira

Anexo II

Consentimento Informado



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Covilhã | Portugal

CARTA EXPLICATIVA AO PARTICIPANTE E TEXTO PARA CONSENTIMENTO INFORMADO DO ESTUDO SOBRE O ESTUDO DA CONTAMINAÇÃO EM LENTES DE CONTACTO

Exmo Sr(a). venho por este meio solicitar a sua participação num trabalho de investigação sobre contaminação de lentes de contacto. Este estudo tem como objectivo verificar a aderência de depósitos em lentes de contacto e relacioná-la com tempo de exposição às substâncias e a sua respectiva concentração e ainda com o tipo de material da lente.

Informo V.Exa que os testes optométricos realizados serão indolores, não invasivos e sem riscos ou complicações. Serão adaptadas lentes de contacto de vários tipos, mas não constituem nenhum risco. A recolha de dados será efectuada nos laboratórios de Optometria da Universidade da Beira Interior.

A recolha e análise de dados serão realizadas no âmbito da minha dissertação de Mestrado em Optometria em Ciências da Visão, sob a orientação do Professor Francisco Ferreira. A sua participação neste estudo é voluntária, podendo, dessa forma, desistir do mesmo a qualquer momento sem qualquer tipo de repercussão negativa.

O projecto não possui fontes de financiamento nem remuneração monetária para nenhuma das partes envolvidas e garante-se a confidencialidade de todos os dados recolhidos.

Desde já, muito obrigado pela colaboração e disponibilidade.

----- ✂ -----

Eu, _____, aceito participar no estudo sobre contaminação de lentes de contacto. Foi-me explicado o objectivo do estudo. Foram-me esclarecidas todas as dúvidas e foi-me garantida a confidencialidade de todos os dados. Também fui informado que poderei interromper a participação na investigação a qualquer momento, sem qualquer tipo de repercussão negativa.

Em caso de ser necessário para efeitos deste estudo autorizo contacto telefónico ou e-mail.

Não Sim Telefone: _____ E-mail: _____

_____, ____ de _____ de 20__

(Assinatura do Voluntário)

Referência: _____ - _____

Anexo III

Participação em conferências no âmbito desta dissertação

ANÁLISE DE DEPÓSITOS EM LENTES DE CONTACTO HIDRÓFILAS

Garcia V.,¹ Januário A.,¹ Sarmento R.,¹ Nunes A.,² Monteiro P.,² Gomes A.,³
Brardo F.²

¹ Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

² Centro Clínico e Experimental em Ciências da Visão, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

³ Centro Microscopia, Centro de Ótica, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

Introdução: O sucesso para uma correta utilização de lentes de contacto está muitas vezes relacionado com a interação do tipo de material com as características fisiológicas da córnea e em particular com as da estrutura lacrimal. Neste contexto, torna-se prioritário que os materiais das lentes de contacto sejam, não só biocompatíveis com os tecidos oculares como resistentes aos microrganismos e depósitos presentes na superfície ocular e na lagrimeira.

Objetivos: Este estudo tem como principal objetivo analisar o nível de contaminação, através da caracterização dos tipos de depósitos e microrganismos presentes em lentes de contacto hidrófilas após um mês de utilização em regime diário.

Metodologia: Para este estudo foram selecionadas dois tipos de lentes de contacto, balafilcon A e lotrafilcon B, e utilizando uma metodologia duplamente cega, foram adaptadas em 14 sujeitos universitários com uma média de idades $21,30 \pm 1,38$ anos. Após um mês de utilização, em regime diário, estas foram retiradas e guardadas em gluteraldeído 2,5%. Posteriormente as lentes foram submetidas a um processo de desidratação e secagem, e revestidas com uma fina película de ouro. As lentes foram analisadas com recurso a microscopia eletrónica de varrimento, tendo-se realizado uma análise elementar dos depósitos selecionados.

Resultados: Nas lentes com material balafilcon A verificou-se uma maior percentagem de carbono, oxigénio, flúor e potássio e uma menor percentagem de elementos como sódio, cálcio, ferro, fosfatos, cloretos, magnésio, alumínio e titânio. Nas lentes lotrafilcon B os elementos mais relevantes eram o carbono, oxigénio, azoto, flúor. Foram ainda detectados também vestígios de sódio, magnésio, potássio, cálcio, ferro, fosfatos e cloretos. Contudo, numa análise comparativa verificou-se uma maior percentagem de compostos orgânicos e inorgânicos nas lentes fabricadas com material balafilcon A.

Conclusões: Apesar de alguns componentes detetados estarem relacionados com os constituintes do polímero, as variações percentuais encontradas durante a análise elementar permite inferir que o tipo de depósitos são maioritariamente orgânicos, e que estão associados a elementos presentes na estrutura lacrimal. Salienta-se ainda o facto de se verificar uma maior incidência de depósitos proteicos e lipídicos nas lentes com material balafilcon A, que advém dos diversos componentes que são utilizados no fabrico deste tipo de polímero. A presença de elementos tais como ferro e alumínio poderá estar associado a cremes faciais e ao fumo de tabaco.



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Covilhã | Portugal

CIOCV 2016
CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE OTOLOGIA E OTO-ORLARIAS

ANÁLISE DE DEPÓSITOS EM LENTES DE CONTACTO HIDRÓFILAS

Garcia V.,¹ Januário A.,¹ Sarmiento R.,¹ Nunes A.,² Monteiro P.,² Gomes A.,³ Brardo F.²

¹ Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal
² Centro Clínico e Experimental em Ciências da Visão, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal
³ Centro de Microscopia, Centro de Ótica, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

OBJETIVOS

Este estudo tem como principal objetivo analisar a contaminação de lentes de contacto por depósitos, após um mês de utilização em regime diário.

Analisar a composição dos depósitos a nível elementar comparando a incidência de substâncias orgânicas e inorgânicas em materiais diferentes.

CONCLUSÕES

Verificou-se uma maior incidência de substâncias externas nas lentes com material Lotrafilcon B. No entanto, ambos os materiais apresentaram a mesma afinidade para elementos presentes na lágrima, principalmente sódio e cálcio.

Apesar de menos frequente que o sódio, o cálcio tem tendência a surgir em maior quantidade, sendo a diferença muito maior nas lentes com material Balafilcon A.

CONTACTO

✉ vanessa.garcia.7@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Uma correta utilização de lentes de contacto está muitas vezes relacionada com a interação do tipo de material com as características fisiológicas da córnea e em particular com as da estrutura lacrimal. Neste contexto, torna-se prioritário que os materiais das lentes de contacto sejam, não só biocompatíveis com os tecidos oculares, como resistentes às substâncias presentes na lágrima e extrínseca à superfície ocular.

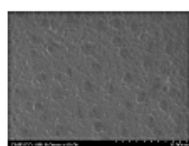
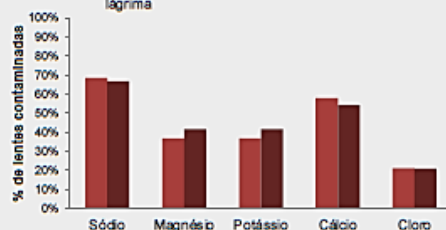
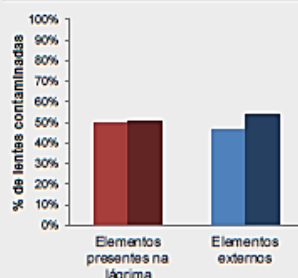


Fig. 1 - Imagem da matriz de uma lente de material Lotrafilcon B (Ampliação de 10000x).

MÉTODOS

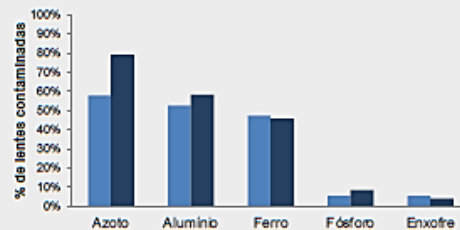
- Estudo prospetivo duplamente cego com dois materiais de lentes de contacto: Balafilcon A e Lotrafilcon B;
- Utilização mensal em regime diário de 43 lentes de contacto de ambos os materiais;
- Armazenadas em glutaraldeído 2,5% durante, pelo menos, 24 horas;
- Cada lente foi submetida a um processo de desidratação com etanol e secagem com dióxido de carbono líquido e posteriormente revestida com ouro;
- As lentes foram analisadas com recurso a microscopia eletrónica de varrimento;
- Análise elementar de depósitos aleatórios determinando os elementos constituintes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO



Nas lentes de **ambos os materiais** as substâncias que se encontraram com maior frequência foram: sódio, cálcio, azoto, alumínio e ferro.

Os elementos menos frequentes incluíam: magnésio, potássio, cloro, fósforo e enxofre.



Nas lentes de **Balafilcon A** as substâncias presentes na lágrima que se depositaram em maior quantidade foram cálcio, cloro e potássio. Nas de **Lotrafilcon B** foram cálcio, magnésio e sódio.

