

## Elaboración, utilización y evaluación de un colirio con suero autólogo en las lesiones corneales

V. GARCÍA JIMÉNEZ, B. VEIGA VILLAVERDE, B. BAAMONDE ARBAIZA<sup>1</sup>, I. CAHUE CARPINTERO<sup>2</sup>, M. L. CELEMÍN VIÑUELA, R. M. SIMÓ MARTÍNEZ

*Servicios de Farmacia, <sup>1</sup>Oftalmología II y <sup>2</sup>Microbiología II. Hospital Central de Asturias. Oviedo*

### Resumen

**Objetivos:** Exponer el proceso de elaboración, control microbiológico y eficacia de un colirio preparado a partir de suero del paciente, para el tratamiento de lesiones corneales de diferente etiología.

**Método:** Se redactó un protocolo de elaboración y control microbiológico, siguiendo las normas de correcta elaboración recogidas en el real Decreto 175/2001.

La respuesta clínica se valoró objetiva y subjetivamente.

**Resultados:** Los colirios se prepararon en condiciones estériles, utilizando suero del paciente diluido al 20% con fisiológico.

Ninguno de los envases conservados en el Servicio de Farmacia se contaminó, mientras que la contaminación en los ya utilizados varió según el paciente.

De los once casos evaluados, seis experimentaron una recuperación total de sus lesiones corneales, tres mejoraron parcialmente y en los restantes el tratamiento no fue efectivo.

**Conclusiones:** La elaboración del colirio no presenta problemas técnicos si se dispone del equipamiento adecuado para su realización en condiciones estériles.

La contaminación de los envases parece deberse al uso inadecuado por los pacientes.

Los resultados, pese al aún escaso número de pacientes tratados, justifican el tratamiento en casos graves de ojo seco con ulceración corneal.

**Palabras clave:** Suero autólogo. Córnea. Colirio. Lesiones corneales.

### Summary

**Objectives:** To expose the elaboration process, microbiological control and effectiveness of an eyewash prepared with the

patient's serum, for the treatment of injure corneas of different etiology

**Method:** It was edited an elaboration protocol and microbiological control, following the norms of correct elaboration picked up in the real Ordinance 175/2001. The clinical answer was valued objectively and subjectively.

**Results:** The eyewashes got ready under sterile conditions, using the patient's serum diluted to 20% with physiologic. None of the containers conserved in the Service of Pharmacy were contaminated, while the contamination in those already used, varied according to the patient. Of the eleven evaluated cases, six experienced a total recovery of its corneal lesions, three improved partially, and in the remaining ones the treatment was not effective.

**Conclusions:** The elaboration of the eyewash doesn't present technical problems if we have the appropriate equipment for the realization under sterile conditions. The contamination of the containers seems to be due to the inadequate use by the patients. The results, in spite of the even scarce number of treated patients, justify the treatment in serious cases of dry eye and corneal ulceration.

**Key words:** Autologous serum. Cornea. Eyewash. Corneal lesions.

## INTRODUCCIÓN

Varias son las patologías que provocan una lesión en el epitelio corneal, como por ejemplo la conocida como queratoconjuntivitis seca (QCS). Podemos definir esta patología, comúnmente llamada ojo seco, como un desorden en la película lacrimal debido a una insuficiente producción de lágrima, o a una excesiva evaporación de la misma, lo que origina daños en la superficie interpalpebral, y se asocia con síntomas de incomodidad ocular. Se trata de una patología muy común, especialmente en los mayores de 40 años (1).

Las glándulas lacrimales principales y las accesorias de Krause y Wolfring producen el componente acuoso de

*Recibido:* 13-03-2002

*Aceptado:* 30-09-2002

*Correspondencia:* Virginia García Jiménez. Servicio de Farmacia. Hospital Central de Asturias. C/ Celestino Villamil, s/n. 33006 Oviedo. e-mail: vgarci@yahoo.es

las lágrimas. La película lacrimal precorneal está formada por tres capas: lipídica, acuosa y mucínica, cada una de las cuales tiene funciones distintas:

1. *Capa lipídica externa*: producida por las glándulas de Meibomio y las glándulas de Zeis. Tiene como funciones retrasar la evaporación de la capa acuosa de la película lacrimal, aumentar la tensión superficial para incrementar la estabilidad vertical de la misma, y lubricar los párpados en su paso por la superficie del globo ocular.

2. *Capa acuosa media*: es la secretada por las glándulas lacrimales. Su cometido es el de aportar oxígeno atmosférico al epitelio corneal avascular, acción antibacteriana, reducir las irregularidades de la córnea y eliminar sustancias de desecho.

3. *Capa mucínica interna*: secretada por las células caliciformes conjuntivales, las criptas de Henle y las glándulas de Manz. Tienen como misión convertir el hidrófobo epitelio corneal en una superficie hidrofílica y permitir así su humectación (2).

## Causas de ojo seco

Hasta los años 70, se pensaba que el déficit de secreción lacrimal era la causa de la desecación de la superficie ocular, y por eso se denominó ojo seco a esta patología. Es a partir de esta fecha cuando las investigaciones apuntan a un cambio cualitativo de la secreción ocular como origen de la enfermedad. Por ejemplo, un déficit en la producción de mucina o de lípidos aumentaría considerablemente la evaporación de la lágrima, y haría inestable la película lacrimal sobre la superficie del ojo.

Posteriores estudios sobre la regulación y el mantenimiento del epitelio ocular, destacan el papel que desempeñan las células del limbo, al ser la fuente de nuevas células que renuevan la población celular de la córnea. Se han identificado numerosas hormonas, factores de crecimiento, retinoides, citocinas y receptores para estas sustancias en las glándulas lacrimales y la superficie ocular. Estos descubrimientos apuntan a un mecanismo de regulación basado en estas sustancias al intervenir dirigiendo la renovación celular y la reparación de los daños producidos a la superficie ocular (1).

Para el tratamiento de la QCS pueden emplearse simultáneamente algunas de las siguientes medidas:

## Conservación de las lágrimas

1. Reducción de la temperatura ambiental.
2. Humidificadores de aire.
3. Tarsorrafia lateral pequeña (disminuir la superficie de la fisura palpebral puede ser útil para los pacientes con cierre palpebral incompleto).

## Tratamiento tópico

1. Gotas sustitutivas. Constituyen el principal tratamiento de la QCS leve o moderada. Sus principales inconvenientes son la corta duración de su efecto y la aparición de hipersensibilidad al conservante. Ello obliga a la instalación de las mismas con elevada frecuencia, y en caso de aparición de alergias, a la utilización de preparados sin conservantes.

2. Agentes mucolíticos. Pueden emplearse colirios de acetilcisteína al 5% para los pacientes con placas mucosas y filamentos corneales.

## Reducción del drenaje ocular

Se ocluye el punto lagrimal con lo que se conservan durante más tiempo las lágrimas naturales, o las artificiales. Esta técnica se reserva para los casos de QCS grave.

1. Oclusión transitoria del punto. Insertando en los canalículos un tapón de silicona, o bien un hilo de sutura logra la oclusión a corto plazo de los puntos.

2. Oclusión permanente del punto. Se efectúa sólo a pacientes con QCS grave y con valores repetidos de la prueba de Schirmer de 2mm o menos. Después de realizada la oclusión, es importante vigilar la posible recanalización, o la aparición de cualquier enfermedad asociada, como blefaritis crónica o sobreinfección (2).

## Estrategias futuras en el tratamiento de la QCS

1. Terapia hormonal: se ha postulado que la enfermedad de la glándula de Meibomio está relacionada, aunque se desconoce el mecanismo, con un bajo nivel de andrógenos. El uso de andrógenos tópicamente podría ser útil en el caso de secreción insuficiente por parte de las glándulas de Meibomio.

2. Inmunosupresión: el uso de ciclosporina podría disminuir el proceso inflamatorio desencadenado en esta patología.

3. Aportación de los componentes lacrimales: existen numerosos estudios en los que se comprobó que la aplicación tópica de factor de crecimiento epidérmico humano promueve la regeneración de la córnea, tanto en ojos con quemaduras graves, con quemaduras por álcalis, o en úlceras traumáticas (3-8). Así mismo también hay evidencia de la eficacia en la regeneración corneal en conejos mediante el empleo de factor de crecimiento de fibroblastos (9). En otros trabajos se demostró la acción sinérgica de la sustancia P con el factor de crecimiento tipo insulina-I para favorecer la migración del epitelio corneal en conejos, así como la fijación de las células a las matrices de fibronectina, colágeno tipo IV y la laminina (10).

Por otra parte en la QCS se detecta déficit de numerosos componentes lacrimales, como factores de crecimiento

epidérmico (EGF), endotelina-1, factor básico de crecimiento de fibroblastos (FGFb), factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ), factor de crecimiento transformante (TGF- $\alpha$ ), retinoides, factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), hormona tiroidea, etc. La preparación de sustitutivos de lágrimas con uno o más de estos componentes, supondría una gran innovación en el tratamiento (1), y dado que se encuentran en la sangre, hemos procedido a la preparación de un colirio a partir de suero de los pacientes, técnica poco utilizada o al menos en pocas ocasiones comunicada, puesto que no hemos encontrado más que dos equipos que hayan publicado sus resultados (11,12).

## OBJETIVOS

Exponer el proceso de elaboración del colirio en condiciones estériles, y el modo de conservación para que mantenga la esterilidad hasta el momento de la dispensación al paciente.

Analizar la esterilidad de los envases tras su utilización.

Evaluar la respuesta de los pacientes tras la aplicación del colirio.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó una búsqueda bibliográfica a través de MEDLINE, con objeto de conocer las experiencias previas comunicadas.

Puesto que se trata de una formulación magistral y siguiendo las normas del Real Decreto 175/2001 (13), se diseñó una ficha técnica con las características farmacéuticas que se obtuvieron de la bibliografía, en la cual se detallan las sustancias a emplear y el procedimiento a seguir.

Se elaboró un protocolo para el análisis microbiológico de las muestras, siguiendo el procedimiento habitual para este tipo de muestras.

Se trataron 12 pacientes que presentaban QCS de distinta etiología.

Se redactó una hoja informativa para los pacientes en la que se les instruyó sobre el modo de aplicación del colirio y las condiciones de conservación (Anexo). La respuesta clínica se valoró objetivamente, según el número y estado de las úlceras, y también subjetivamente según el grado de bienestar indicado por el paciente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Preparación farmacéutica

La elaboración de fórmulas en el Servicio de Farmacia sigue las normas dictadas en el Real Decreto 175/2001 del 23 de febrero. Dado que este tipo de preparado está

### Anexo I:

#### Instrucciones de conservación y administración del colirio

Este colirio está preparado a partir de suero de su sangre y no contiene ningún tipo de conservante para evitar problemas de toxicidad sobre la superficie ocular. Por este motivo, es fundamental que siga correctamente las siguientes instrucciones con objeto de evitar la contaminación del producto:

1. Se le suministran 6 frascos de suero numerados. Debe utilizarlos por ese orden.
2. El frasco que esté usando se debe mantener en la nevera. Los restantes deberán conservarse en el congelador hasta el momento de su utilización.
3. Debe aplicarse el colirio de 6 a 10 veces al día. Es suficiente con que se instile una gota cada vez.
4. Previamente se lavará las manos y, al instilarlo, tendrá cuidado de no tocar el extremo del dosificador con los dedos o de rozar las pestañas.
5. Cada frasco se empleará sólo durante cinco días tras los cuales se seguirá conservando en la nevera pero no se utilizará. Estos frascos usados se traerán al hospital en la siguiente revisión para realizar un control microbiológico.

destinado para el uso por un paciente individualizado, cuya elaboración no está recogida en el Formulario Nacional, se trata de una Fórmula Magistral.

El colirio se prepara en condiciones asépticas en una campana de flujo laminar. La sangre del paciente se recoge en tubos de extracción de vacío con gelosa sin anticoagulante. Posteriormente se centrifuga utilizando un modelo Meditronic, a 5.000 rpm durante 10 minutos aproximadamente. Si transcurrido este tiempo no se aprecia la correcta separación del suero, se calienta el tubo a 37° C durante 10 minutos y se repite la centrifugación.

Extraído el suero, se diluye en suero fisiológico hasta una concentración del 20%; esta dilución aunque empírica, es también utilizada por otros equipos ya citados, y se consiguen unos resultados clínicos satisfactorios. Se envasa en frascos cuentagotas de polipropileno estériles con un volumen de colirio de 5 ml cada uno. Para optimizar su conservación y evitar la degradación de la vitamina A y los factores de crecimiento se protegen de la luz y se conservan a -20 °C, según datos publicados (11).

En el momento de la dispensación se envía una muestra al Servicio de Microbiología para hacer un cultivo. El paciente recibe 6 envases de colirio (tratamiento para un mes) en cada dispensación y los mantiene en su casa en las condiciones más próximas a la congelación, salvo el ejemplar que esté al uso, que se utilizará durante cinco días, transcurridos los cuales será devuelto para el control microbiológico. El Servicio de Farmacia guarda el resto de los envases para asegurar la conservación de los mismos.

## Control microbiológico

Las muestras se cultivan en medio estándar (agar sangre, agar chocolate y tioglicato) y se incuban 48 horas. Se resiembra tres veces del mismo vial cada 48 horas. Este proceso se realizó con cada lote de colirio recién preparado en el Servicio de Farmacia, con cada envase devuelto por el paciente después de su utilización durante 5 días, y con uno de los viales conservados en la farmacia en el momento de la dispensación de tratamiento para un mes.

Hasta el momento se han procesado 23 muestras de los envases conservados en el Servicio de Farmacia y todas eran estériles, probándose así la asepsia del proceso.

De doce pacientes a los que se les ha prescrito el colirio, uno de ellos abandonó tras la primera visita por lo que no se han podido evaluar más que once. De ellos, tres tenían como diagnóstico "ojo seco" en tanto que los 8 restantes presentaban insuficiencia límbica de etiología distinta y en 7 de los cuales se presentaban ulceraciones en la córnea.

El análisis de los colirios después de su utilización por el paciente, se realizó estudiando por separado el índice de contaminación; por un lado en aquéllos que se devolvieron hasta cuatro días después de haber finalizado su empleo, y por otro, aquéllos que se devolvieron pasados más de 4 días; en el primer caso el 27,5% estaba contaminado, mientras que en el segundo caso el porcentaje de contaminación era de 30,5%.

En principio ocurre lo que era de esperar; cuanto más tarde se analice la muestra, más probabilidad existe de que esté contaminada. Sin embargo, al relacionar los colirios contaminados con el total de los pacientes, el 27% devolvió los envases sin contaminar ningún colirio, mientras que en el resto de los enfermos se contaminaron hasta el cien por ciento de los devueltos, independientemente del tiempo transcurrido desde que terminaron el envase hasta su cultivo.

hay que destacar también que a aquellos pacientes a los que se les indicó que estaban manipulando mal el colirio, por lo que devolvían todos los envases contaminados, comenzaron a devolverlos en su mayoría estériles.

## Respuesta clínica

Según se señala más arriba, hasta el momento once pacientes han sido incluidos en el estudio durante el tiempo

suficiente para evaluar resultados. De los siete que tenían úlceras por insuficiencia límbica, cinco experimentaron el cierre total de las mismas además de una gran mejora subjetiva; los dos restantes mejoraron sólo de forma subjetiva, aunque sin apreciar el cierre de las úlceras.

Respecto a los cuatro pacientes restantes, uno de ellos tenía insuficiencia límbica sin úlceras y se mostró satisfecho con el tratamiento. Los tres restantes, con patología de ojo seco severo, uno tenía úlceras que cerraron; los otros dos no presentaban úlceras y no experimentaron ninguna mejoría, ni clínica ni subjetiva.

El tiempo que debe transcurrir desde el inicio del tratamiento para determinar si un paciente responde o no de forma satisfactoria es de tan sólo 3-4 semanas. Este periodo es suficiente para el cierre de las úlceras en caso de que existan, o para experimentar al menos una gran mejora subjetiva.

Nuestros datos coinciden con los comunicados por otros autores (11) y (12), según se aprecia en la tabla adjunta; y en la cual se puede observar que el número de pacientes no es elevado en ningún caso (Tabla I).

## CONCLUSIONES

La elaboración del colirio de suero autólogo no presenta dificultades técnicas siempre que se disponga del equipamiento adecuado para su realización en condiciones asépticas.

La contaminación del colirio parece estar más ligada a la inadecuada utilización del envase por parte del paciente que al tiempo transcurrido desde la apertura del envase hasta el análisis microbiológico.

Pese a la contaminación de alguno de los envases, no se ha detectado ninguna infección ocular.

A pesar de los pocos casos tratados en nuestro hospital, los resultados obtenidos justifican el tratamiento en aquellos pacientes que no mejoran con el tratamiento habitual; especialmente los casos severos. Dada la satisfacción con los resultados obtenidos tanto por parte del Servicio de Oftalmología, como por los pacientes, es un tratamiento que va a seguir prescribiéndose mientras la evidencia no recomiende otro más efectivo o menos molesto para el paciente.

Tabla I. Resultados en tres series de pacientes tratados con colirio autólogo

	Datos propios	Tsubota et al (11)	Poon et al (12)
Número de pacientes	11	16	13
Eficacia total	6	7	7
Eficacia parcial	3	3	2
Ineficacia	2	6	4

## Bibliografía

---

1. Lemp MA. The 1998 Castroviejo Lecture. New Strategies in the Treatment of Dry-Eye States. *Cornea* Nov 1999; 18 (6): 625-32.
2. Kanski JJ. *Oftalmología clínica* 3ª ed. Ed. Mosby. p. 73-6.
3. Pastor JC, Calonge M. Epidermal growth factor and corneal wound healing. A multicenter study. *Cornea* Jul 1992; 11 (4): 311-4.
4. Schultz GS, Davis JB and Eiferman RA. Growth factors and corneal epithelium. *Cornea* 1988; 7 (2): 96-101.
5. Brightwell JR, Riddle SL, Eiferman RA, Valenzuela P, Barr PJ, Merryweather JP, et al. Biosynthetic human EFG accelerates healing of Neodecandron-treated primate corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* Jan 1985; 26 (1): 105-10.
6. Reim M, Kehr T, Lund M. Clinical application of epiderm growth factor in patients with most severe eye burns. *Ophthalmologica* 1988; 197 (4): 179-84.
7. Singh G, Foster CS. Epidermal growth factor in alkali-burned corneal epithelial wound healing. *Am J Ophthalmol* Jun 1987; 103 (6): 802-7.
8. Scardovi C, De Felice GP, Gazzaniga A. *Ophthalmologica* 1993; 206 (3): 119-24.
9. Fredj-Reygrobellet D, Plouet J, Delayre T, Baudouin C, Bourret F, Lapalus P. Effects of aFGF and bFGF on wound healing in rabbit corneas. *Curr Eye Res Oct* 1987; 6 (10): 1205-9.
10. Synergistic effects of substance P with insulin-like growth factor-1 on epithelial migration of the cornea. *J Cell Physiol* 1996; 169 (1): 159-66.
11. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of Persistent Corneal Epithelial Defect by Autologous Serum Application. *Ophthalmology* 1999; 106: 1984-9.
12. Poon A C, Geerling G, Dart JKG, Fraenkel GE, Daniels JT. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1188-97.
13. Real Decreto 175/2001, de 23 de febrero, por el que se aprueban las normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficinales. BOE número 065-2001 de 16/03/2001: 9746-55.