

Flora conjuntival aeróbia de HIV positivos

Patrícia Ioschpe Gus*, Jacobo Melamed**, Marcia Cristina Bayer***, Guilherme Quinto****, Guilherme Herrmann Matos*****, Berno Dieter Sudhaus*****, Afonso Luis Barth*****

RESUMO

Objetivo: Identificar os microorganismos presentes na conjuntiva de pacientes com catarata e portadores do HIV e compará-los com a microbiota de pacientes não portadores do vírus. Avaliar a adequação da antibióticoprofilaxia para endoftalmite pós-operatória.

Material e métodos: Dezoito pacientes do Setor de Uveítes do Serviço de Oftalmologia do HCPA preencheram os critérios de seleção. Foi coletado material do fórnice conjuntival inferior de ambos os olhos, com o auxílio de um swab conjuntival seco sem a utilização de anestésico tópico. O material foi semeado em dois meios de cultura sólidos (ágar-sangue e ágar-chocolate). As placas de ágar-sangue e ágar-chocolate foram incubadas a 35-37°C em atmosfera de CO₂ e avaliadas a cada 24h até completar 72h. Nas amostras em que houve crescimento bacteriano, as colônias foram isoladas e identificadas conforme métodos laboratoriais convencionais.

Resultados: Nove dos 18 pacientes compareceram ao serviço para o estudo. Todos os pacientes eram do sexo masculino, a média de idade foi de 48 anos (variação de 36 a 73 anos). Houve crescimento aeróbio em 10 amostras (55,55%). A bactéria mais prevalente foi o *Staphylococcus epidermidis* (33,33%), seguido pelo *Corynebacterium sp* (11,11%), pela *Pseudomonas alcaligenes* (11,11%) e pelo *Acinetobacter sp* (5,56%). Todos os microorganismos foram sensíveis a gentamicina, ciprofloxacina e cloranfenicol.

Conclusões: Não houve diferença observável no tipo de microorganismos isolados da conjuntiva de pacientes sídeéticos e de pacientes não portadores do vírus, segundo os registros da literatura. É interessante a utilização da antibióticoprofilaxia antes ao procedimento cirúrgico, como meio preventivo a endoftalmite.

Palavras chaves: AIDS, HIV, conjuntiva

* Professora da Disciplina de Sistema Visual da Faculdade de Medicina na Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Doutora em Oftalmologia;

** Professor Adjunto e Chefe do Setor de Uveítes do Serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre da UFRGS, Doutor em Oftalmologia;

*** Acadêmica do 10º semestre da Faculdade de Medicina da ULBRA;

**** Acadêmico do 12º semestre da Faculdade de Medicina da ULBRA;

***** Guilherme Herrmann Matos, acadêmico do 8º semestre da Faculdade de Medicina da ULBRA;

***** Microbiologista do Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre da UFRGS;

***** Chefe da Unidade de Pesquisa Biomédica do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre da UFRGS; Serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Unidade de Microbiologia do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Disciplina de Sistema Visual da Faculdade de Medicina de Universidade Luterana do Brasil.

ABSTRACT

The aerobic conjunctival flora of HIV-positive

Purpose: To evaluate the bacteria, and their *in vitro* response to antibiotics on the conjunctiva of patients HIV positive with cataracts; in order to compare with the data from the literature regarding HIV negative. Evaluate the adjustment of antibiotic prophylaxis to postoperative endophthalmitis.

Methods: Eighteen patients from the Uveitis Section of HCPA Ophthalmology Service, fulfilled the selection criteria. The clinical specimen for aerobic culture was collected from the inferior conjunctival fornix of both eyes, with the help of a dry conjunctival swab without the use of a topical anaesthetic. The material was subcultured in two culture solid media (blood-agar and chocolate-agar). The blood-agar and chocolate-agar plates were incubated in 35-37°C and they were evaluated in each 24 hours for up to 72 hours. The colonies from samples displaying bacterial growth, were subcultured and identified by conventional laboratory methods.

Results: It was possible to obtain clinical specimens from nine of the eighteen patients. All of them were male and they were 48 years old on the average (varying from 36 to 73 years old). In 55.55% of the specimens aerobic bacterial growth was observed. The most common bacteria was the *Staphylococcus epidermidis* (33,33%) followed by *Corynebacterium sp* (11,11%), *Pseudomonas alcaligenes* (11,11%) and *Acinetobacter sp* (5,56%). All of the microorganisms displayed *in vitro* susceptibility to gentamicin, ciprofloxacin and chloramphenicol.

Conclusions: No difference between the bacteria described in this study (HIV-positive patients) was observed in comparison to HIV-negative patients, according to the literature. The use of the antibiotic prophylaxis before the surgical procedure to prevent endophthalmitis is recommended.

Key words: AIDS, HIV, Conjunctiva.

INTRODUÇÃO

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) afeta fundamentalmente o sistema imunológico de indivíduos infectados pelo HIV e gera uma supressão da imunidade celular. Em consequência disso, a grande maioria desses indivíduos desenvolve infecções oportunistas e neoplasias (3-4).

A flora bacteriana de pálpebras e conjuntiva podem ser fontes de patógenos causadores de inúmeras infecções locais, incluindo a endoftalmite (6). A quantidade e qualidade dos microorganismos encontrados nesses locais são fatores de risco para o desenvolvimento desses problemas. Outros fatores de risco, como a idade do paciente e a coexistência de doenças oculares, como a ceratoconjuntivite sicca são importantes na etiologia das infecções oculares (7,8,9,10).

Com os tratamentos combinados e mais eficazes para o combate da SIDA, aumentaram tanto a sobrevivência, como a qualidade de vida dos pacientes (1). A maior prevalência de uveítes torna os pacientes síditicos suscetíveis à catarata secundária. Por essa razão, são cada vez mais submetidos à extração de catarata com a finalidade de obter uma melhor acuidade visual e desfrutar de uma vida melhor. Assim, torna-se imperativo prover segurança a este procedimento.

A endoftalmite pós-operatória ainda permanece uma complicação rara da cirurgia intraocular, porém com mau prognóstico apesar das melhorias dos métodos de profilaxia e tratamento. Sua incidência atualmente é de 0,1% ou aproximadamente 1.200 casos por ano após cirurgia de catarata nos Estados Unidos da América (17).

Em estudo retrospectivo dos casos de endoftalmite secundária à cirurgia de catarata

realizado no México, Buenfil e cols. (2) constataram que 90% das infecções eram secundárias à extração capsular, sendo que a etiologia mais freqüente correspondia à flora cutânea e respiratória. O principal microorganismo responsável pela maioria dos casos desta infecção foi o *Staphylococcus epidermidis* (18).

Existem inúmeros estudos na literatura da microbiota de indivíduos sadios, havendo poucos relatos de estudos semelhantes em pacientes portadores deste vírus. Esse conhecimento pode ajudar a prevenir a endoftalmite pós-operatória, complicação sempre temível e de prognóstico muito desfavorável (2).

Em virtude da escassez de relatos sobre a microbiota conjuntival de pacientes sidéticos portadores de catarata foi projetado o presente estudo com o propósito de descrever a flora bacteriana destes pacientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados todos os pacientes HIV positivos com e sem AIDS portadores de catarata do setor de Uveítes do Serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Realizamos duas chamadas por telefone e telegrama fonado para os 18 pacientes selecionados. A tabela I cita os critérios de inclusão e de exclusão.

Uma breve história clínica foi obtida de cada paciente momentos antes da coleta. Foram questionados quanto ao uso de medicações oculares e sistêmicas no último mês, relato de doenças infecciosas recentes e questões sobre dados demográficos. Além disso, foi realizado um exame oftalmológico completo, logo após as coletas.

A coleta de dados iniciou-se em 2001 e o

raspado conjuntival foi realizado em 2003. Os espécimes clínicos eram colhidos do fórnice conjuntival inferior de ambos os olhos, um seguido do outro, com o auxílio de um *swab* conjuntival seco e sem a utilização de anestésicos tópico. O material foi semeado em dois meios de cultura sólidos (ágar-sangue e ágar-chocolate) utilizando-se da técnica de esgotamento. Após a semeadura, o material foi imediatamente transportado ao laboratório de microbiologia do HCPA para o processamento microbiológico. As placas de ágar-sangue e de ágar-chocolate foram incubadas a 35-37°C em atmosfera de CO₂ e avaliadas a cada 24h, e se num período de 72h não houvesse presença de colônias o resultado da cultura bacteriológica era definido como "ausência de crescimento bacteriano". Nas amostras em que houve crescimento bacteriano, as colônias foram isoladas e identificadas conforme métodos laboratoriais convencionais.

Nas placas que foi evidenciado crescimento, as colônias foram repicadas em meio líquido (caldo soja tripticaseína) o qual foi incubado a 35-37°C por 2 a 4 horas. Após o período anterior foi realizada a coloração de GRAM e, conforme a característica morfo-tintorial da bactéria observada, foram realizadas provas convencionais para indentificação do gênero e/ou espécie bacteriano. Quando necessário, o sistema semi-automatizado Mini-API (Biomérieux) foi utilizado para confirmar e/ou precisar a identificação bacteriana.

Após a identificação, procedeu-se ao antibiograma pelo método de disco-difusão, segundo NCCLS ("National Committee for Clinical Laboratory Standards"), seguindo os procedimentos padrões da Unidade de Microbiologia do Serviço de Patologia HCPA. Os

Tabela I

Critérios de inclusão e exclusão dos pacientes

Critérios de Inclusão	Critérios de Exclusão
<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico sorológico confirmado de HIV • Com ou sem SIDA • Com ou sem tratamento para SIDA • Apresentar catarata 	<ul style="list-style-type: none"> • Apresentar qualquer doença infecciosa de córnea, conjuntiva, pálpebra ou vias lacrimais • Uso tópico de medicação ocular • Uso de antibiótico sistêmico ou ocular

antibióticos utilizados foram: gentamicina, cloranfenicol e ciprofloxacina. Ao final deste processo, as bactérias que cresceram nas culturas previamente citadas foram armazenadas em caldo glicérol a -70°C .

gentamicina e à ciprofloxacina, apresentando sensibilidade intermediária ao cloranfenicol. Não foi realizado antibiograma para as bactérias corineformes pois esta técnica não está padronizada para este grupo de bactérias.

RESULTADOS

Nove (50%) pacientes portadores de SIDA e com catarata compareceram para o estudo. A média de idade dos pacientes foi de 48 anos (variação de 36 a 73 anos) e todos eram do sexo masculino. Todos os pacientes faziam tratamento para SIDA com anti-retrovirais.

Ao exame oftalmológico, 6 (33,33%) olhos apresentaram meibomite, 1 um olho (5,56%) demonstrou ceratite puntata, nenhum paciente apresentava reação de câmara anterior no momento do exame, porém com história prévia positiva. À fundoscopia, houve impossibilidade de realização por opacidade de meios em 11 (61,11%) olhos, o exame foi normal em 6 (33,33%) olhos e identificou a presença de cicatrizes secundárias a uveíte por CMV em 1 (5,56%) olho.

Das 18 amostras analisadas pelo exame bacteriológico (duas para cada paciente), oito (44,44%) apresentaram ausência de crescimento bacteriano, e outras dez (55,55%) apresentaram crescimento bacteriano aeróbio. A bactéria mais prevalente foi o *Staphylococcus epidermidis* (33,33%), seguido pelo *Corynebacterium sp* (11,11%), pela *Pseudomonas alcaligenes* (11,11%) e pelo *Acinetobacter sp* (5,56%). (Tabela II e III).

O *Staphylococcus epidermidis* e o *Acinetobacter sp* apresentaram sensibilidade a gentamicina, cloranfenicol e ciprofloxacina. Já a *Pseudomonas alcaligenes* foi sensível apenas à

DISCUSSÃO

A microbiota de pacientes sidéticos já foi comparada com a flora conjuntival de indivíduos sadios em outros estudos (11,15). No estudo de Gritz e cols. (11), foram comparados 40 pacientes com SIDA e 42 pacientes HIV-negativos. Não foi observada diferença significativa tanto na quantidade como na qualidade dos microorganismos isolados da conjuntiva e das pálpebras de pacientes com SIDA e de pacientes HIV-negativos.

As bactérias mais comumente isoladas da conjuntiva de pacientes sidéticos foram: *Staphylococcus spp* (60%), seguido de *Diphtheroids* (15%) e *S. aureus* (12,5%). Na conjuntiva dos indivíduos HIV-negativos houve a mesma flora, porém em uma prevalência menor. A microbiota encontrada nas pálpebras dos indivíduos sidéticos e dos hígidos também foi a mesma, mas em proporções diferentes. Foram isolados mais comumente *Staphylococcus spp* (100%), *Diphtheroids* (42,5%) e *Staphylococcus aureus* (20%). A flora ocular não foi influenciada pelo uso sistêmico de antibióticos nem pelo nível da imunossupressão (mensurados pela contagem dos linfócitos CD4), ou por qualquer outra patologia ocular (11).

Gumbel e cols. (14) examinaram 11 pacientes sidéticos de ambulatório comparados com 12 pacientes sidéticos hospitalizados. No grupo dos pacientes internados foram encontrados *S. aureus* e *C. albicans* em 25%, *Pseudomonas aeruginosa* em 8,3% e *Staphylococcus epidermidis* em 18,8% das culturas. Foi encontrado crescimento bacteriano em 36,6% das amostras no grupo de pacientes não hospitalizados. A bactéria encontrada foi o *Staphylococcus epidermidis*.

A bactéria aeróbia mais comumente isolada neste trabalho foi o *Staphylococcus epidermidis*, presente em 33% do total das amostras. É interessante observar que, apesar do uso freqüente de antibióticos e das diversas infecções a que são expostos, a maior parte dos pacientes avaliados apresentou crescimento bacteriano

Tabela II

Agentes aeróbios isolados em 10 amostras positivas obtidas a partir da cultura de 18 casos pré-selecionados (9 indivíduos).

Agente	Nº amostras	%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	33.33%
<i>Corynebacterium sp</i>	2	11.11%
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	2	11.11%
<i>Acinetobacter sp</i>	1	5.56%

Tabela III

Descrição do resultado da cultura da flora conjuntival das 18 amostras

	Agar sangue	Tempo	Agar chocolate	Tempo
Paciente 1	• Staphylococcus epidermidis	24h	• Staphylococcus epidermidis	24h
Paciente 2	• Ausência de crescimento	72h	• Ausência de crescimento	72h
Paciente 3	• Staphylococcus epidermidis	24 h	• Staphylococcus epidermidis	24h
Paciente 4	• Pseudomonas alcalígenes Acinetobacter sp	24h	• Pseudomonas alcalígenes	24h
Paciente 5	• Ausência de crescimento	72h	• Ausência de crescimento	72h
Paciente 6	• Bacilos G+, tipo corineformes	72h	• Ausência de crescimento	72h
Paciente 7	• Ausência de crescimento	72h	• Ausência de crescimento	72h
Paciente 8	• Bacilos G+, tipo corineformes	48h	• Ausência de crescimento	72h
Paciente 9	• Staphylococcus epidermidis	24h	• Staphylococcus epidermidis	24h

semelhante aos dos não portadores do vírus (8,9).

Lamonthe e cols. (8) em um estudo realizado em indivíduos normais encontrou 93% de positividade para estudo da flora conjuntiva. Os microorganismos mais freqüentemente encontrados foram o *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Proteus mirabilis* (8,12). Figueroa e cols. (9) também estudaram a flora conjuntival e palpebral, identificando positividade em 49% e 100% respectivamente, e o microorganismo mais encontrado foi o *Staphylococcus epidermidis*, sendo 87% proveniente da conjuntiva e 42% da pálpebra. Campos e cols. (9), no estudo da microbiota aeróbias de pacientes normais, encontrou em 71 amostras (88,75%) o crescimento de bactérias anaeróbias facultativas, e o gênero encontrado presente em todas elas foi o *Staphylococcus sp.*

Isolamos a *Pseudomonas alcalígenes* em duas amostras (11,11%). Nenhum dos trabalhos anteriores identificou esta bactéria a partir de espécimes obtidos de sacos conjuntivais normais (7,8,9,10). Porém, não podemos afirmar que este agente não seja comum na flora conjuntival de pacientes com HIV. No estudo de Gritz e cols. (11) foi identificada a *Pseudomonas aeruginosa*, em 2% das amostras da flora conjuntival de sidéticos. O mesmo acontece no estudo de Friedlaender (12), em que este microorganismo aparece em 1% das amostras da conjuntiva de pacientes imunodeprimidos. Embora o microorganismo encontrado em nosso estudo também pertença

ao grupo *Pseudomonas spp*, não é a mesma espécie descrita em outros estudos.

É importante ressaltar que este tipo de agente pode necessitar de antibióticoprofilaxia alternativa para cirurgia de catarata, pois a endoftalmite por *pseudomonas* se demonstra muita agressiva. Não existe um guia para a antibióticoterapia para a *Pseudomonas alcalígenes* devido à sua raridade, mas sabe-se que podem responder com eficácia aos mesmos antibióticos utilizados para o grupo *Pseudomonas spp* (3).

O *Acinetobacter* foi isolado em 5,56% das amostras em nosso estudo. Este gênero é um patógeno aeróbio de baixa virulência, porém freqüentemente resistente aos antimicrobianos, podendo dificultar o tratamento da infecção (3). No estudo de Gritz e cols. (11) o *Acinetobacter* foi encontrado nas pálpebras de pacientes com SIDA e HIV-negativos (2,5% e 2,4% respectivamente). É importante salientar que este patógeno aparece em apenas um paciente, e este apresentava meibomite no momento da coleta. Porém, nos demais pacientes que apresentavam meibomite o *Acinetobacter* não foi encontrado.

O antibiograma em nosso estudo demonstrou que os microorganismos encontrados apresentavam sensibilidade aos colírios antibióticos. Entretanto, no caso da *Pseudomonas alcalígenes* evidenciamos apenas sensibilidade intermediária ao cloranfenicol. Contudo, é possível sugerir que a antibióticoprofilaxia pode reduzir os riscos de uma

infecção ocular pós-operatória, desde que utilizados dias antes do procedimento. Chu e cols. descrevem que a instilação de solução antibiótica imediatamente antes ao procedimento cirúrgico, não é adequada para a profilaxia de endoftalmite. Os antibióticos não têm tempo de exercerem seus efeitos protetores, devendo ser utilizados dias antes à cirurgia. Em casos de pacientes que se submeterão a procedimentos cirúrgicos prolongado, a cultura pré-operatória é indicada (16).

Kaspar e cols. descreveram que os pacientes com microorganismos resistentes à antibióticoterapia são mais suscetíveis a endoftalmite em um estudo dos fatores de risco para antibiótico-resistência em pacientes candidatos a cirurgias intra-oculares (13). Fatores de risco locais foram definidos como blefarite crônica e conjuntivites, e fatores de risco sistêmicos foram considerados a diabetes, doenças auto-imunes, asma ou uso de medicações que causem imunossupressão. Contudo, os pacientes com fatores de risco locais e/ou sistêmicos têm mais probabilidade de abrigar microorganismos resistentes aos antibióticos na flora conjuntival.

Concluindo, o presente trabalho adiciona algumas informações relevantes, como a presença de *Pseudomonas alcaligenes* na conjuntiva de pacientes sidéticos, e a sensibilidade quase total dos germes aos antibióticos mais comumente utilizados, porém a casuística é pequena para que possamos fazer essa afirmação. Percebe-se que a bibliografia não é unânime quanto a antibióticoprofilaxia mais adequada. Mas descreve que os antibióticos prescritos dias ou semanas antes podem ter resultados eficazes na prevenção de infecções intra-oculares. A literatura concorda ao relatar que os germes conjuntivais de pacientes HIV-positivos são semelhantes a dos pacientes não infectados, podendo-se apresentar em maior quantidade. Desta maneira, sugerem-se que trabalhos com amostra populacional maior sejam relatados, na tentativa de confirmar os dados obtidos. Os cuidados de antibióticoprofilaxia devem adequar-se a pacientes sidéticos na prevenção da endoftalmite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Precorella I, Ciardi A, Garner A, McCartney AE, Lucas S. Postmortem histological survey of the ocular lesions in a British population of AIDS patients. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 1275-81.
- 2 Buenfil S, Ermilo, Garduño G, María L. Vitreal culture results of endophthalmitis after cataract extraction. *Rev Mex Oftalmol* 1998; 72(5): 229-32.
- 3 Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Microbiologia Médica. *Jawetz, Melnick e Adelberg* 1998; 20^a ed: 409-19.
- 4 Santos PM, Santos RR, Muccioli C, Scarpi MJ, Gompertz OF. Variação sazonal da microbiota fúngica da conjuntiva de pacientes HIV soro-positivos. *Arq Bras Oftalmol* 1997; 60(5): 508-13.
- 5 Santos PM, Muccioli C, Santos RR, Martins SR, Fischman O, JR. RB. Microbiota fúngica conjuntival: estudo comparativo entre pacientes com AIDS, pacientes infectados pelo HIV e pacientes HIV-negativos antes da era do HAART. *Arq Bras Oftalmol* 1999; 62(6): 731-34.
- 6 Spencer PM, Jackson GG. Fungal and mycobacterial infections in patients infected with the human immunodeficiency virus. *J Antimicrob Chemo* 1989; 23(A): 107-25.
- 7 Khorozo D, Thompson R. The bacterial flora of the normal conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 1935; 18:1114
- 8 Lamothe ET, Suárez GJ, Paredes SL. Normal conjuntival flora: study performed during the preoperative time of 100 patients. *Rev Cuba Oftalmol* 1990; 3(2): 137-47.
- 9 Figueroa P, Emparanza JL, Thompson L, Silva M, Verdaguer J. Study of conjuntival and palpebral flora in intra-hospitalar population. *Arch Chil Oftalmol* 1983; 40(1): 47-8.
- 10 Campos MQ, Sato EH, Nosé W, Mós EN, Santos MA. Microbiota anaeróbica do saco conjuntival humano normal. *Arq Bras Oftalmol* 1989; 52(6): 193-95.
- 11 Gritz DC, Scott TJ, Sedo SF, Cevallos AV, Margois TP, Whitcher. Ocular flora of patients with AIDS compared those of HIV-negative patients. *Cornea* 1997; 16(4): 400-5
- 12 Friedlaender MH, Masi RJ, Osumoto M, Smolin G, Ammann AJ. Ocular microbial flora in immunodeficient patients. *Arch Ophthalmol* 1980 jul; 98(7): 1211-3
- 13 Mino DE Kaspar H, Shriver EM, Nguyen EV, Egbert PR, Singh K, Blumenkranz MS, TA CN. Risk factors for antibiotic-resistance conjunctival bacterial flora in patients undergoing intraocular surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2003;20
- 14 Gumbel H, Ohrloff C, Shahp M. The conjunctival flora of HIV- positive in na advanced stage. *Fortschr Ophthalmol* 1990; 87(4): 382-3
- 15 Campos MS, Campos E Silva Lde Q, Rehder JR, Lee MB, O'Brien T, McDonnell PJ. Anaerobic flora of the conjunctival sac in patients with AIDS and with anophthalmia compared with normal eyes. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1994 Apr; 72(2): 241-5
- 16 Chu JL, Philips A, Trousdale MD. The effect of topical antibiotics on the conjunctival microbial flora. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37:S1032
- 17 Menikoff J, Speaker MG, Marmor M, Raskin Em. A case-control study of risk factors for postoperative endophthalmitis. *Ophthalmology* 1991; 98: 1761-1768.
- 18 Speaker MG, Milch FA, Shah MK, Eisner W, Kreiswirth BN. Role of external bacterial flora in the pathogenesis of acute postoperative endophthalmitis. *Ophthalmology* 1991; 98: 639-650.