

Variação sazonal da microbiota fúngica da conjuntiva de pacientes HIV soro-positivos

Seasonal variation of the fungal microbiota in the conjunctiva of HIV soropositive patients

Procópio Miguel dos Santos ⁽¹⁾
Regina Cândido Ribeiro dos Santos ⁽¹⁾
Cristina Muccioli ⁽²⁾
Neil Ferreira Novo ⁽³⁾
Marinho Jorge Scarpi ⁽⁴⁾
Olga Fischman Gompertz ⁽⁵⁾

RESUMO

Foi estudada a variação sazonal da microbiota fúngica da conjuntiva de 194 pacientes HIV soro-positivos, na cidade de São Paulo.

Os cultivos apresentaram positividade de 40,0 e 52,0%, respectivamente, no verão e outono e de 20% no inverno e 20,8% na primavera.

Aspergillus spp foi o fungo mais isolado no verão, inverno e primavera, enquanto que no outono foi o *Penicillium spp*.

Palavras-chave: Microbiota fúngica; Conjuntiva; HIV soro-positivos; Variação sazonal.

INTRODUÇÃO

A síndrome de imunodeficiência adquirida é definida, para fins epidemiológicos, como doença que afeta indivíduos previamente expostos ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) e que, em determinado momento, passa a apresentar um quadro de imunodeficiência celular, com manifestações clínicas de infecções oportunistas e tumores malignos ⁴.

Os fungos podem comprometer a maioria das estruturas oculares como pálpebras, conjuntiva, córnea e aparelho lacrimal ³. Em virtude da exposição ao ar e sua íntima continuidade com a pele, o saco conjuntival não permanece estéril, e a própria microbiota normal pode representar fonte de infecção, como ocorre em ceratites micóticas ¹⁸.

O conhecimento das espécies de fungos dominantes, tanto na conjuntiva como meio ambiente, favorecem uma relação dos possíveis patógenos que, num dado momento podem ser os causadores dos processos patológicos de origem fúngica ¹⁰. Sabe-se que a incidência de infecções micóticas corneanas, nestes indivíduos, não é muito diferente da observada em imunocom-

petentes; no entanto, tais infecções podem ser mais severas ⁷, de acometimento bilateral e espontâneas (sem necessidade de trauma prévio, como o que geralmente ocorre em pacientes HIV soro-negativos) ^{11,13}.

O objetivo da presente pesquisa é estudar a prevalência sazonal da microbiota fúngica de pacientes HIV soro-positivos assintomáticos e com a síndrome de imunodeficiência adquirida, na cidade de São Paulo.

POPULAÇÃO, MATERIAL E MÉTODO

No período de janeiro a dezembro de 1992, foram estudadas espécimes de material do fórnice conjuntival de 194 pacientes HIV soro-positivos, sintomáticos ou assintomáticos. A população examinada consistia de 156 homens e 38 mulheres, cuja faixa etária variava dos 18 aos 55 anos, com média de 26 anos e 5 meses.

A colheita do material foi realizada em quatro épocas distintas: verão (50), outono (46), inverno (50) e primavera (48).

O material de cada paciente foi colhido do fórnice conjuntival, utilizando zaragoas estéreis e semeados em placas de Petri com 15 ml de ágar-Sa-

Trabalho realizado no Setor de Patologia Externa e Úvea, Departamento de Oftalmologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

⁽¹⁾ Mestre e Doutor pela UNIFESP e Assistente superior da Fundação Hospitalar do Distrito Federal (FHDF).

⁽²⁾ Chefe do Setor de Úvea, Dep. de Oftalmologia, UNIFESP.

⁽³⁾ Prof. Adjunto, Disciplina de Bioestatística, Dep. de Medicina Preventiva, UNIFESP.

⁽⁴⁾ Prof. Adjunto de Oftalmologia, UNIFESP.

⁽⁵⁾ Profª. Adjunta, Disciplina de Biologia Celular (Setor de Micologia), Dep. de Microbiologia Imunologia e Parasitologia, UNIFESP

Endereço para correspondência: Dr. Procópio Miguel dos Santos - SHLS Qd. 716 - Cj. 208 - Centro Clínico Oswaldo Cruz - CEP 70390 - 700 - Brasília - DF

<http://dx.doi.org/10.5935/0004-2749.19970032>

bourand-dextrose, com gentamicina, foram conservadas à temperatura ambiente, por 28 dias. Características macroscópicas e microscópicas dos cultivos permitiram a identificação de grande parte dos mesmos. Cultivos em lâminas, provas fisiológicas e bioquímicas foram utilizadas, quando necessário. Para comparar o número de fungos nas quatro estações estudadas, foi aplicada a análise de variância por postos de Kruskal-Wallis¹⁶. Cultivos e lâminas foram examinados e identificados no Laboratório de Micologia Médica da UNIFESP.

Esfregaços em três lâminas foram feitos do material colhido da conjuntiva, com espátula de Kimura, para exame microscópico direto, corado pelo Gram, Acridino Orange e potassa acrescida de tinta Quick (Parker) permanente.

RESULTADOS

Os cultivos apresentaram positividade de 40,0 e 52,0%, respectivamente,

no verão e outono e de 20% no inverno e 20,8% na primavera.

Observa-se na Tabela 1, a média dos fungos isolados da conjuntiva dos pacientes HIV soro-positivos. Não se verificou diferença estatisticamente significativa no isolamento de fungos, nas diferentes estações do ano. Houve maior frequência de fungos no verão e outono em relação ao inverno e a primavera.

Os gêneros e espécies dos fungos isolados são apresentados na Tabela 2. No verão, *Aspergillus* spp foi isolado 8 vezes (16,0%); *Penicillium* spp 7 vezes (14,0%); *Acremonium* spp, *Fusarium* spp, *Geotrichum* spp, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* cresceram em igual proporção, foram isolados um vez (2,0%).

No outono, em 11 ocasiões (23,9%) foram isolados *Penicillium* spp; em 3 ocasiões (6,5%) isolou-se *Cladosporium* spp; em duas ocasiões (4,3%) foi observado *Aspergillus* spp e *Candida* spp e em uma vez (2,1%) isolou-se *Rhodotorula* spp, *Chaetomium* spp, *Curvularia* spp, *Fusarium* spp, *Paecilomyces* spp e fungo filamentosos não

identificado.

Houve crescimento, no inverno, em três vezes (6,0%) de *Aspergillus* spp; em uma vez (2,0%) de *Candida* spp, *C. albicans*, *Rhodotorula* spp, *Alternaria* spp, *Drechslera* spp, *Paecilomyces* spp e *Phialophora* spp.

Foi observado, na primavera, em duas vezes (4,2%) *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp; em uma vez (2,1%) identificou-se *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *Rhodotorula* spp, *Cladosporium* spp, *Fusarium* spp e fungo filamentosos não identificados.

DISCUSSÃO

Na presente investigação, *Aspergillus* foi o gênero de fungo predominantemente isolado na flora conjuntival dos pacientes HIV soro-positivos, no verão, inverno e primavera. O referido fungo foi o mais freqüente na pesquisa de SCARPI et al. (1985)¹⁴ quando estudaram a microbiota fúngica da conjuntiva normal de trabalhadores no corte de cana-de-açúcar. Este achado é importante porque *Aspergillus* spp e *Fusarium* spp, em nosso meio, têm sido os fungos de maior incidência nas úlceras de córnea¹⁷.

Durante o outono, *Penicillium* spp foi o fungo mais isolado (Tabela 2). CHA (1990)⁵, estudando pacientes portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida, isolou o referido fungo em maior porcentagem. No entanto, seus estudos foram realizados apenas no inverno e primavera.

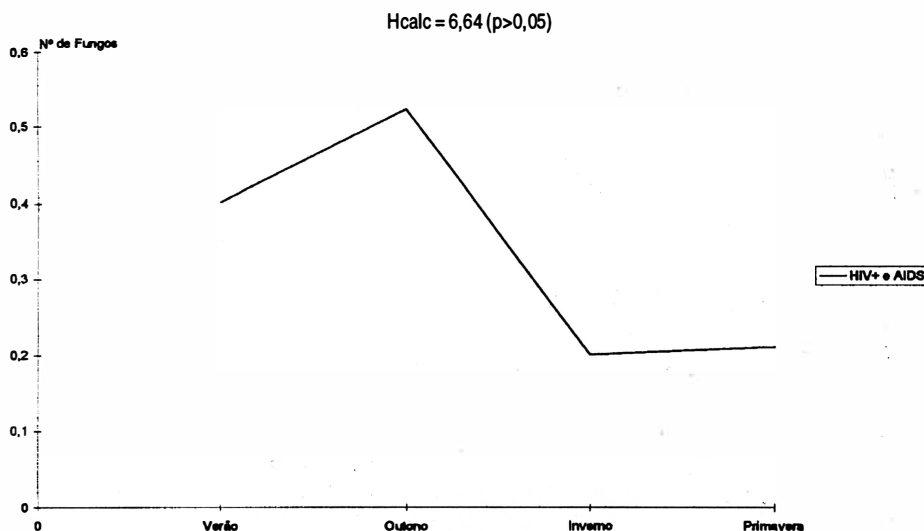
O isolamento de *Penicillium* spp de seres humanos, em geral, significa contaminação ambiental; contudo, ceratites micóticas, lesões conjuntivais e canaliculites causadas por esse agente têm sido descritas por alguns autores^{12,8}. Pelas técnicas utilizadas nesta pesquisa, em que foram tomadas todas as precauções para evitar contaminação pelo meio ambiente, pode-se afastar a hipótese de contaminação por fungo anemófilo.

No outono, houve predominância

TABELA 1

Média do número de fungos isolados da conjuntiva de pacientes HIV soro-positivos, nas diferentes estações do ano de 1992, na cidade de São Paulo. Resultado da Análise de Variância por postos de Kruskal-Wallis.

| Média | Verão 0,40 | Outono 0,52 | Inverno 0,20 | Primavera 0,21 |
|-------|---------------|----------------|-----------------|-------------------|
|-------|---------------|----------------|-----------------|-------------------|



*Variação sazonal da microbiota fúngica da conjuntiva
de pacientes HIV soro-positivos*

TABELA 2
Prevalência sazonal de fungos encontrados na conjuntiva de pacientes HIV soro-positivos nas diferentes estações do ano de 1992, na cidade de São Paulo, Brasil.

| Microorganismo | Verão (50) | | Outono (46) | | Inverno (50) | | Primavera (48) | | Total | |
|--|------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|----------------|-------------|-----------|--------------|
| | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % |
| Fungos Leveduriformes | | | | | | | | | | |
| <i>Candida</i> spp | 0 | 0,0 | 2 | 4,3 | 1 | 2,0 | 0 | 0,0 | 3 | 4,7 |
| <i>C. albicans</i> | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 2,0 | 1 | 2,1 | 2 | 3,1 |
| <i>C. guilliermondii</i> | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 2,1 | 1 | 1,6 |
| <i>C. parapsilosis</i> | 1 | 2,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| <i>C. tropicalis</i> | 1 | 2,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| <i>Geotrichum</i> spp | 1 | 2,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| <i>Rhodotorula</i> spp | 0 | 0,0 | 1 | 2,1 | 1 | 2,1 | 1 | 2,1 | 3 | 4,7 |
| Fungos Filamentosos | | | | | | | | | | |
| <i>Acremonium</i> spp | 1 | 2,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| <i>Alternaria</i> spp | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 2,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| <i>Aspergillus</i> spp | 8 | 16,0 | 2 | 4,3 | 3 | 6,0 | 2 | 4,2 | 15 | 23,4 |
| <i>Chaetomium</i> spp | 0 | 0,0 | 1 | 2,1 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| <i>Cladosporium</i> spp | 0 | 0,0 | 3 | 6,5 | 0 | 0,0 | 1 | 2,1 | 4 | 6,2 |
| <i>Curvularia</i> spp | 0 | 0,0 | 1 | 2,1 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| <i>Drechslera</i> spp | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 2,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| <i>Fusarium</i> spp | 1 | 2,0 | 1 | 2,1 | 0 | 0,0 | 1 | 2,1 | 3 | 4,7 |
| <i>Paecilomyces</i> spp | 0 | 0,0 | 1 | 2,1 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| <i>Penicillium</i> spp | 7 | 14,0 | 11 | 23,9 | 1 | 2,0 | 2 | 4,2 | 21 | 32,8 |
| <i>Phialophora</i> spp | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 2,0 | 0 | 0,0 | 1 | 1,6 |
| Fungo filamentosos não identificado | | | | | | | | | | |
| | 0 | 0,0 | 1 | 2,1 | 0 | 0,0 | 1 | 2,1 | 2 | 3,1 |
| Total (isolados) | 20 | 40,0 | 24 | 52,0 | 10 | 20,0 | 10 | 20,8 | 64 | 100,0 |

N = Número de fungos isolados

O percentual foi tomado em relação ao número total dos pacientes por estação

do crescimento de fungos (52,0%) em relação às outras estações do ano, discordando de JONES et al. (1969)⁹ que relataram maior desenvolvimento de fungos nos meses de inverno.

Cladosporium spp foi o segundo fungo mais isolado no outono. É um microrganismo oportunista que tem sido citado como fungo anemófilo importante na cidade de São Paulo, em ambientes hospitalares². Este autor refere que este gênero de fungo demonstra evidente predileção pelos tecidos oculares, podendo ser o agente etiológico de endoftalmite.

Estudos de ANDO & TAKATORI (1982)¹ mostraram maior positividade de fungos na conjuntiva de indivíduos sadios e doentes nos meses de novembro e dezembro onde foi detectado maior frequência de fungos no mês de abril. No entanto, foi um trabalho realizado

em outro país, onde as estações do ano não coincidem, em meses, com as estações do Brasil.

Os fungos leveduriformes, como *Candida* spp, são microrganismos oportunistas. Acredita-se que a situação de imunodepressão, principalmente celular, seja o fator responsável pela instalação do patógeno¹⁵. *Candida* spp foi isolada em todas as estações do ano, nesta investigação, fazendo-nos pensar que a imunodepressão predispõe uma maior colonização da conjuntiva por este agente.

Segundo pesquisa de COSTA et al. (1975)⁶, *Rhodotorula* spp apresentou a maior incidência. Entretanto, nesta pesquisa, este microrganismo foi isolado no outono (2,1%), primavera (2,1%) e inverno (2,0%).

Oito outros gêneros de fungos de menor frequência foram isolados uma

vez, em uma das estações do ano (Tabela 2). Embora não possamos tirar conclusões definitivas sobre a prevalência dos diversos fungos durante as estações do ano, foi notada uma prevalência maior de *Aspergillus* spp no verão, inverno e primavera, ao passo que, durante o outono predominou *Penicillium* spp. Nossos resultados não coincidem com resultados de pesquisas realizadas em outros países, em virtude de uma discrepância em função de fatores climáticos. No Brasil, a ausência de estações climáticas bem definidas e a variação climatológica durante o ano dificultam a apreciação dos resultados. Outros fatores não somente dependentes da temperatura, como precipitação pluviométrica, ventos, etc., podem ter influência na frequência dos fungos isolados da conjuntiva.

O achado de fungos potencialmente patogênicos, em pacientes com imunodepressão, é muito importante e deve ser melhor avaliado e valorizado, uma vez que, esses microrganismos podem disseminar e causar infecções sistêmicas graves e fatais, favorecidas pela imunidade alterada dos pacientes.

SUMMARY

The seasonal variation of fungal microbiota of the conjunctiva of 194 asymptomatic and symptomatic HIV positive patients, in the city of São Paulo, was studied.

In summer, the cultures were positive in 40,0%, in fall 52,0%, in winter 20,0% and in spring 20,8%.

Aspergillus spp, was the most frequent fungus found in summer, winter and spring while Penicillium spp was the most frequent one in fall.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDO, N. & TAKATORI, K. - Fungal flora of the conjunctiva sac. *Am. J. Ophthalmol.*, 94: 67-74, 1982.

*Varição sazonal da microbiota fúngica da conjuntiva
de pacientes HIV soro-positivos*

2. AZEVEDO, M.L. - Investigações preliminares sobre a microflora ocular. *Arq. Bras. Oftalmol.*, **25**: 41-7, 1962.
3. BIRGE, H.L. - Ocular aspects of mycotic infection. *Arch. Ophthalmol.*, **47**: 354-73, 1957.
4. CENTER FOR DISEASE CONTROL (CDC). - Revision of the centers for disease control (CDC) surveillance case definition for acquired immunodeficiency syndrome. *MMWR.*, **36**: 55, 1987.
5. CHA, S. B. - Microbiota fúngica conjuntival em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). São Paulo, 1990. São Paulo, 1990. [Tese - Doutorado - Escola Paulista de Medicina].
6. COSTA, M. L.; GALVÃO, P.G.; LAGE, J. - Flora micótica da conjuntiva de indivíduos normais. *Rev. Bras. Oftalmol.*, **34**: 199-205, 1975.
7. DUNN, J. P. & HOLLAND, G. - Human immunodeficiency virus and opportunistic ocular infections. In: BARZA, M. & BAUN, J. - *Infectious disease clinics of North America: ocular infections*. Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1992, p. 910.
8. GUGNANI, H. C.; TALMAR, R. S.; NJO-KOABI, A. N. U.; KODILINYE, H. C. - Mycotic keratitis in Nigeri. *Br. J. Ophthalmol.*, **60**: 607-13, 1976.
9. JONES, P. S.; SEXTON, R.; REBELL, G. - Mycotic keratitis in South Florida: a review of 39 cases. *Trans. Ophthalmol. Soc. U. K.*, **89**: 803-4, 1969.
10. MORENO, R. C. & DIAZ, N. S. - Flora micótica de la conjuntiva normal. *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.*, **33**: 829-36, 1973.
11. PARRISH, C. M.; O DAY, D. M.; HOYLE, T. C. - Spontaneous fungal corneal ulcer as an ocular manifestation of AIDS. *Am. J. Ophthalmol.*, **104**: 302, 1987.
12. ROCHA, M. - Micose em oftalmologia. *Arq. IPB.*, **9**: 28-69, 1952.
13. SANTOS, C.; PARKER, J.; DAWSON, C. R. - Bilateral fungal corneal ulcers in a patient with AIDS-related complex. *Am. J. Ophthalmol.*, **102**: 118-22, 1986.
14. SCARPI, M. J.; BELFORT Jr, R.; GOMPERTZ, O. F. - Microbiota fúngica de conjuntiva normal em trabalhadores no corte de cana-de-açúcar. *Rev. Bras. Oftalmol.*, **44**: 57-65, 1985.
15. SHULER, J. D.; ENGSTROM Jr, R. E.; HOLLAND, G. N. - External ocular disease and anterior segment disorders associated with AIDS. *Int. Ophthalmol. Clin.*, **29**: 998-104, 1989.
16. SIEGEL, S. - Estatística no paramétrica. *México, Ed. Trillas*, 1975. p. 346.
17. WAKISAKA, E.; FERREIRA, M. A.; ROCHA, F. J.; FREITAS, L. L.; GUIDUGLI, T.; LIMA, A. L. H. - Cultura de material provindo de úlceras de córnea em laboratório de referência. *Arq Bras. Oftalmol.*, **53(5)**: 196-200, 1990.
18. WILSON, L. A.; AHEARN, D. G., JONES, D. B.; SEXTON, R. R. - Fungi from the normal outer eye. *Am. J. Ophthalmol.*, **67**: 52-5, 1969.