

Cultura de material provindo de úlceras de córnea em laboratório de referência

Corneal ulcers cultures in referring laboratory

Enio Wakisaka⁽¹⁾
Magno Antônio Ferreira⁽¹⁾
Flávio Jaime da Rocha⁽¹⁾
Lincoln Lemes de Freitas⁽¹⁾
Tânia Guidugli⁽²⁾
Ana Luisa Höfling de Lima⁽³⁾

RESUMO

Este estudo analisa os resultados das culturas obtidas de material de úlceras de córnea em 263 pacientes no período de setembro de 1986 a fevereiro de 1989. Confirma estudos anteriores de que o isolamento de bactérias (41,8%) é mais freqüente que o de fungos (3,8%). Neste período, pela primeira vez foram isoladas 2 cepas de *Acanthamoeba* sp. como agente etiológico de úlcera de córnea. Entre as bactérias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* foi a mais freqüentemente isolada (22,1%), e entre as bactérias Gram negativas, *Pseudomonas* sp. foi a mais encontrada (7,6%). Entre as ceratites micóticas, os fungos mais freqüentemente isolados foram *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp. Foram demonstradas alterações nos perfis de sensibilidade das bactérias aos antibióticos testados em relação a estudo realizado neste mesmo Laboratório de Microbiologia Ocular da Escola Paulista de Medicina. Houve aumento de resistência bacteriana à cefalotina, tobramicina e amicacina, enquanto a gentamicina apresentou níveis de sensibilidade semelhantes em relação ao estudo anterior.

Palavras-chave: Úlceras de córnea, agentes etiológicos, antibiograma, bactérias aeróbicas.

INTRODUÇÃO

As úlceras de córnea infecciosas são consideradas como urgência em oftalmologia, sendo, portanto, de extrema importância a intervenção terapêutica imediata e direta contra o agente etiológico. Os microrganismos envolvidos nas infecções oculares podem variar de uma região geográfica para outra. Desta forma, o isolamento desses microrganismos e a determinação da sensibilidade às drogas disponíveis são de grande importância, pois orientam o oftalmologista quanto ao tratamento a ser empregado. Os sinais clínicos e os dados de anamnese devem ser observados, mas o diagnóstico etiológico só é possível pela pesquisa do material colhido pelos métodos laboratoriais.

Este estudo tem o objetivo de ampliar o número de casos estudados anteriormente pelo mesmo serviço. Naquele estudo (Lima e cols.⁽¹²⁾), os autores estudaram 126 casos de úlcera de córnea sendo que, em 76 pacientes (61%) houve comprovação de ceratite infecciosa. As bactérias foram responsáveis pelo maior número de casos de culturas positivas, sendo *Staphylococcus aureus* isolado em 27% dos pacientes, *Pseudomonas* sp. em 10%, *Streptococcus pneumoniae* em 4% e outras bactérias como *Proteus* sp., *Moraxella* sp., *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp. e *Staphylococcus epidermidis* em porcentagens menores que 4%. Ceratite micótica foi comprovada em 10 pacientes (8%), sendo *Fusarium* sp. isolado em 8 deles (6%). Em estudo realizado no Hospital da Universida-

(1) Médicos estagiários do Depto. de Oftalmologia da E.P.M.

(2) Bióloga do Laboratório de Microbiologia Ocular da E.P.M.

(3) Doutora em Oftalmologia pela E.P.M. Chefe da Disciplina de Oftalmologia da F.M. Jundiaí

Endereço p/ correspondência: Dr. Enio Wakisaka - R. Bonucatu, 822 - 04023 - São Paulo - SP.

de de Michigan, analisando fatores predisponentes e demográficos de casos de úlcera de córnea, Musch e cols.⁽¹⁵⁾ encontraram como principais agentes etiológicos *Pseudomonas aeruginosa* (31,6% dos casos) e a seguir *Staphylococcus aureus* (23,7%). Ainda no mesmo estudo, como principais fatores predisponentes, destacou-se o trauma ocular na população de jovens, enquanto nos pacientes mais velhos predominaram a ceratite herpética, a cirurgia oftalmológica prévia, a ceratite bolhosa e o entrópio. Liensegang e col.⁽¹¹⁾ demonstraram que, no sul da Flórida (EUA), os agentes isolados com maior frequência nas úlceras de córnea bacterianas foram *Pseudomonas aeruginosa* (31% dos casos) e *Staphylococcus aureus* (19%). Brightbill⁽⁴⁾ analisou 115 casos de úlcera corneana central e isolou *S. aureus* em 24% dos pacientes, *S. pneumoniae* em 15% e *Pseudomonas* sp. também em 15% dos casos. Alves e col.⁽¹⁾, em levantamento de casos de úlcera corneana em crianças no Hospital das Clínicas da F.M.U.S.P. demonstraram ser o sarampo (31,8% dos casos) a causa precipitante principal ao desenvolvimento da úlcera de córnea infecciosa naquela faixa etária, vindo a seguir o trauma corneano (13,6% dos pacientes).

Este trabalho tem o objetivo de analisar alguns aspectos relativos à úlcera de córnea quanto às variáveis, fatores predisponentes ao seu desenvolvimento, agentes etiológicos e sensibilidade das bactérias aeróbicas isoladas a um grupo de antibióticos escolhidos para antibiograma.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados dados obtidos das fichas de 263 pacientes com diagnóstico clínico de úlcera de córnea e submetidos à bacterioscopia, cultura do material obtido dessas lesões e antibiograma no Laboratório de Microbiologia Ocular da Escola Paulista de Medicina entre setembro de 1986 e fevereiro de 1989.

Os dados obtidos das fichas foram: idade, sexo, fatores predisponentes ao desenvolvimento de úlcera de córnea, resultado do exame direto do material colhido corado pelos métodos de Gram e Giemsa, resultado da cultura nos meios de Àgar-Sangue, Àgar-Chocolate e Àgar-Sabouraud e a sensibilidade dos microrganismos isolados a um grupo de antibióticos.

A colheita das amostras foi realizada sempre por médicos treinados, com espátula de Kimura esterilizada sob observação através da lâmpada de fenda. O material para bacterioscopia e citologia foi colocado em lâminas e corado pelos métodos de Gram e Giemsa. O material para cultura, também obtido com espátula de Kimura, foi inoculado nos meios Àgar-Sangue, Àgar-Chocolate e Àgar-Sabouraud. A incubação a 37 graus centígrados foi utilizada para os meios Àgar-Sangue e Àgar-Chocolate (com tensão de CO₂ aumentada), enquanto o meio Àgar-Sabouraud foi mantido à temperatura ambiente. As bactérias isoladas foram identificadas pelos procedimentos laboratoriais de rotina e a identificação de fungos foi efetuada em colaboração com a Disciplina de Micologia da E.P.M.

Foi considerada cultura positiva o crescimento de mais de uma colônia do mesmo microrganismo em pontos diferentes da estria de um dos meios utilizados ou em meios distintos.

As bactérias isoladas foram submetidas a antibiograma, sendo que a técnica utilizada foi a preconizada por Kirby-Bauer com inoculação das bactérias em placas de Muller-Hinton e discos de antibióticos (DIFCO), sendo a incubação a 37 graus centígrados. A leitura dos antibiogramas foi realizada a 24 e 48 horas de incubação. Os antibióticos testados e suas respectivas zonas de inibição, considerados para a resistência dos antibióticos foram: amicacina (< 14 mm), ampicilina (< 11 mm), cefalotina (< 14 mm), clindamicina (< 14 mm), eritromicina (< 13 mm),

gentamicina (< 12 mm), penicilina (< 20 mm) e tobramicina (< 12 mm).

RESULTADOS

Dos 263 pacientes estudados, 168 (63,9%) eram do sexo masculino e 95 (36,1%) do sexo feminino. A idade variou de 6 meses a 87 anos (média de 39,3 anos). foi observado maior número de pacientes na faixa de adultos jovens (83 pacientes entre 20 a 39 anos – 31,6%) e na faixa etária acima de 50 anos (102 pacientes – 38,8%) [Gráfico 1].

Com relação a dados pregressos da patologia em questão, em 132 pacientes (50,2%) não havia registro de fatores predisponentes ao desenvolvimento de úlcera de córnea. Entre os fatores predisponentes encontrados, destaca-se o trauma corneano em 41 pacientes (15,6% dos casos), seguido pela utilização de lentes de contato em 24 (9,1%), transplante corneano em 17 (6,5%), infecção ocular herpética prévia em 14 (5,3%), ceratoconjuntivite seca em 13 (4,9%) e outras causas enumeradas na Tabela 1. Na Tabela 2 observamos que o trauma ocular é um adjuvante ao desenvolvimento de úlcera de córnea em todas as faixas etárias, sendo que nos pacientes mais jovens o uso de lentes de contato foi o fator precipitante mais frequente,

TABELA 1
Distribuição dos fatores predisponentes à úlcera de córnea em relação a número de pacientes (EPM-1989).

Fatores predisponentes à úlcera de córnea	Pacientes	
	Nº	%
Fatores predisponentes não referidos	132	50,2
Trauma corneano	41	15,6
Uso de lentes de contato	24	9,1
Transplante de córnea	17	6,5
Ceratite herpética	14	5,3
Ceratoconjuntivite seca	13	4,9
Diabetes Mellitus	5	1,9
Cirurgia ocular	5	1,9
Conjuntivite	4	1,5
Outros	8	3,1
Total	263	100,0

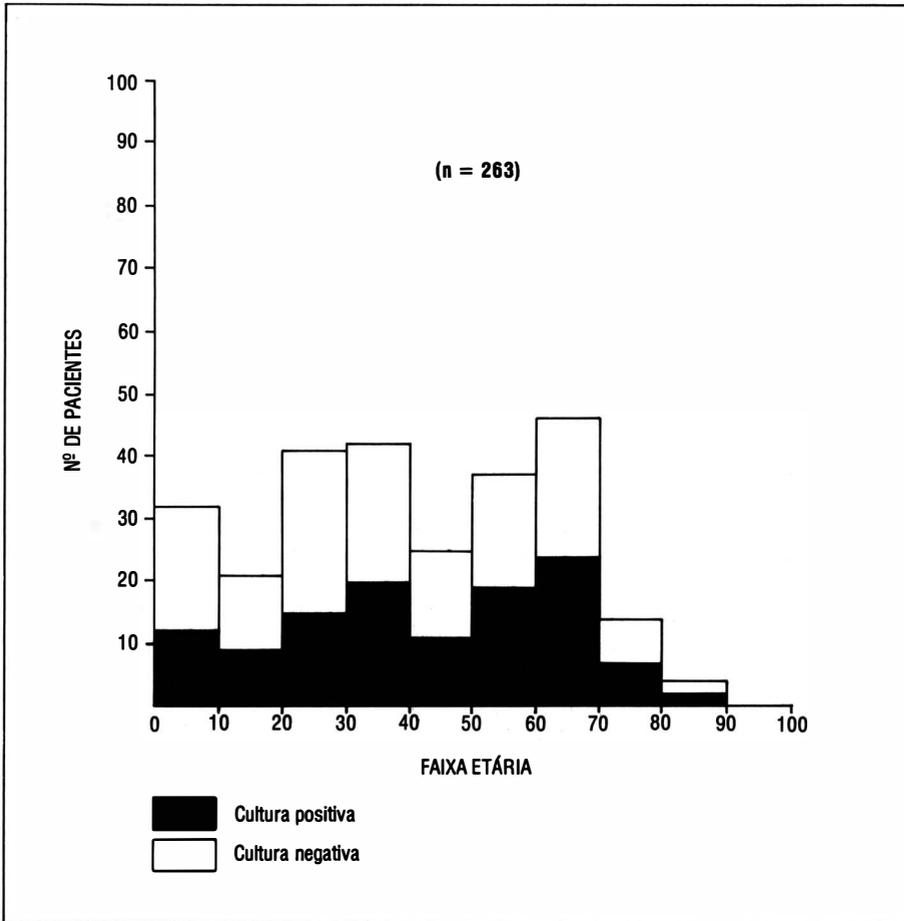


Gráfico 1 - Distribuição dos pacientes com úlcera de córnea segundo a faixa etária e cultura positiva do material colhido EPM-89.

ao passo que, nos indivíduos mais idosos, a ceratoconjuntivite seca foi o fator predisponente mais encontrado.

O exame bacterioscópico permitiu a comprovação de úlcera de córnea infecciosa em 132 (50,2%) das amostras analisadas, sendo que em

111 (42,2%) o diagnóstico foi de bactéria, em 19 (7,2%) foram identificadas hifas e em 2 (0,8%) foram isolados protozoários.

Das lâminas coradas pelo método de Giemsa, em 116 (44,1%) foram encontrados neutrófilos degenerados

TABELA 3
Microorganismos isolados de material colhido de úlcera de córnea (EPM-1989)

Microorganismos	Nº (%)
A. Gram positivos	
<i>Staphylococcus aureus</i>	58 (22,1)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	14 (5,3)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3 (1,1)
<i>Corynebacterium xerosis</i>	2 (0,8)
Subtotal	77 (29,3)
B. Gram negativos	
<i>Pseudomonas sp.</i>	20 (7,6)
<i>Proteus sp.</i>	7 (2,7)
<i>Haemophilus sp.</i>	2 (0,8)
<i>Moraxella sp.</i>	2 (0,8)
Subtotal	31 (11,8)
C. Fungos	
<i>Aspergillus sp.</i>	3 (1,1)
<i>Fusarium sp.</i>	3 (1,1)
<i>Candida albicans</i>	2 (0,8)
<i>Nocardia sp.</i>	1 (0,4)
<i>Scedosporium apiospermum</i>	1 (0,4)
Subtotal	10 (3,8)
D. Protozoários	
<i>Acanthamoeba</i>	2 (0,8)
Subtotal	2 (0,8)
Total	120 (45,6)

como o principal tipo celular envolvido na reação inflamatória.

Do total de amostras cultivadas, 120 (45,6%) apresentaram crescimento, sendo 110 (41,8%) com crescimento de bactérias e 10 (3,8%) com crescimento de fungos. A cultura positiva em Ágar-Sangue foi observada em 107 (40,7%) dos casos; Ágar-Chocolate em 82 (31,2%) e Ágar-Sabouraud em 26 (9,9%).

Dos 263 pacientes com úlcera de córnea, *Staphylococcus aureus* foi isolado em 58 amostras (22,1%), *Pseudomonas sp.* em 20 (7,6%), *Streptococcus pneumoniae* em 14 (5,3%) e *Proteus sp.* em 7 (2,7%).

TABELA 2
Distribuição dos fatores predisponentes à úlcera de córnea segundo a faixa etária em porcentagem

Fatores predisponentes	Faixa etária										Nº total
	0-09	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89		
Trauma corneano	44.4	23.2	11.5	39.2	22.2	50.0	27.7	33.4	-		41
Lente de contato	11.1	30.7	42.3	26.1	11.2	-	-	-	-		24
Transplante de córnea	16.7	15.4	15.4	13.0	22.2	5.0	5.6	33.3	-		17
Ceratite herpética	11.1	-	15.4	8.7	-	15.0	16.7	-	-		14
Olho seco	5.6	-	3.9	-	22.2	5.0	33.1	33.3	100.0		13
Outros	11.1	30.7	11.5	13.0	22.2	25.0	16.7	-	-		22
Nº total	18	13	26	23	9	20	18	3	1		131

TABELA 4
Relação entre os antibióticos realizados e a sensibilidade dos microrganismos em porcentagem

MICROORGANISMO	Disco de antibiótico								
	Nº Atb	AMI	AMP	CEF	CLI	ERI	GEN	PEN	TOB
<i>Staphylococcus aureus</i>	58	10.3	1.8	96.2	86.2	12.1	87.9	3.6	79.3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	14	-	14.2	85.7	35.7	85.7	50.0	64.3	71.4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	-	-	66.7	66.7	33.3	66.7	-	33.3
<i>Corynebacterium xerosis</i>	2	-	-	-	100.0	50.0	-	50.0	-
<i>Pseudomonas sp</i>	20	55.0	-	35.0	15.0	-	90.0	-	85.0
<i>Proteus sp</i>	7	42.9	-	-	-	-	100.0	-	85.7
<i>Haemophilus sp</i>	2	-	50.0	50.0	-	-	50.0	50.0	-
<i>Moraxella sp</i>	2	-	50.0	50.0	-	-	100.0	50.0	50.0

Nº Atb = Número de antibiogramas realizados

AMI = Amicacina; AMP = Ampicilina; CEF = Cefalotina; CLI = Clindamicina; ERI = Eritromicina; GEN = Gentamicina; PEN = Penicilina e TOB = Tobramicina

Outras bactérias isoladas menos frequentes também estão apresentadas na Tabela 3. Fungos foram isolados em 10 amostras (3,8%) e *Acanthamoeba* sp. em 2 casos (0,8%) [Tabela 3].

A Tabela 4 mostra a relação obtida entre os antibiogramas realizados e a sensibilidade dos microrganismos aos diferentes antibióticos testados. Ressalta-se que *Staphylococcus aureus* apresentou sensibilidade de 96,2% à cefalotina, 86,2% à clindamicina, 86,2% à gentamicina e 79,3% à tobramicina. *Pseudomonas* sp. foi sensível em 90,0% à gentamicina e 85,0% à tobramicina.

DISCUSSÃO

A existência de uma distribuição dos pacientes portadores de úlcera de córnea não uniforme quanto à faixa etária foi também observada em nosso estudo. Houve uma frequência maior de casos entre adultos jovens (20 a 39 anos) e entre pacientes acima de 50 anos. Observamos que o uso de lentes de contato, principalmente as gelatinosas, é um fator importante no desenvolvimento de úlcera de córnea nos mais jovens, enquanto que nos indivíduos mais idosos aparecem fatores que se somam, associados ao envelhecimento.

Apesar dessas considerações, fica difícil tirar conclusões de forma definitiva, pois não há uma base populacional que nos permita obter taxas de incidência de úlcera de córnea nas diferentes faixas etárias.

Quanto ao sexo, houve maior incidência de úlcera de córnea em pacientes do sexo masculino (63,9%), dado também observado no estudo anterior (Lima e cols.⁽¹²⁾).

Em relação aos microrganismos isolados neste estudo, *S. aureus* foi a bactéria que apresentou a maior incidência (22,1% das amostras), vindo a seguir *Pseudomonas* sp. (7,6%) e *S. pneumoniae* (2,7%). Comparando-se com os resultados obtidos em trabalho realizado neste laboratório anteriormente, (Lima e cols.⁽¹²⁾), demonstrou-se que não houve alteração do perfil de microrganismos isolados das úlceras de córnea neste serviço.

Em relação aos 24 usuários de lentes de contato, o patógeno mais frequentemente isolado foi *Pseudomonas* sp. (8 pacientes – 33,3% dos casos), e depois *S. aureus* (3 pacientes – 12,5%). Estes dados corroboram com os resultados de vários trabalhos já publicados (Asbell e cols.⁽²⁾; Baum e cols.⁽³⁾; Brightbill⁽⁴⁾; Cohen e cols.⁽⁵⁾; Galantine e cols.⁽⁶⁾; Hassman e cols.⁽⁸⁾; Lemp e cols.⁽¹⁰⁾;

Lima e cols.⁽¹²⁾; Mondino e cols.⁽¹³⁾; Spoor e cols.⁽¹⁸⁾ e Weissman e cols.⁽²⁰⁾).

Os primeiros casos de úlcera de córnea por *Acanthamoeba* sp. já publicados por Nosé e cols.⁽¹⁶⁾, estão incluídos neste estudo e não aparecem em nenhum trabalho anterior deste laboratório. Para os casos de úlcera de córnea por *Acanthamoeba* sp., o fator predisponente identificado em ambos foi a utilização de lente de contato gelatinosa.

A incidência de úlcera micótica em nosso meio é pequena, ao contrário de outras localidades como o sul da Flórida (EUA) (Liesegang e cols.⁽¹¹⁾) e Índia (Joseph⁽⁹⁾; Srinivasan e cols.⁽¹⁹⁾), e em nosso meio foi de 3,8%, sendo *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp. os fungos de maior incidência. Em estudo anterior, o número de isolamentos positivos para *Fusarium* sp. foi maior que o de *Aspergillus* sp. (Lima e cols.⁽¹²⁾).

Comparando-se os resultados de antibiogramas do estudo anterior (Lima e cols.⁽¹²⁾) com os do presente, observamos que houve algumas alterações, principalmente em relação a *S. aureus* e *S. pneumoniae*. Agentes antimicrobianos que apresentavam 100% de eficiência contra *S. aureus* e *S. pneumoniae* como a cefalotina no estudo anterior (Lima e cols.⁽¹²⁾),

neste estudo atual apresenta sensibilidade de 82,2% e 85,7%, respectivamente, para estes microrganismos. A gentamicina praticamente manteve a sua ação de inibir o crescimento "in vitro" de *S. aureus* (87,9% sensível a este antibiótico) em relação ao estudo anterior; este aminoglicosídeo manteve também boa ação contra bactérias Gram negativas (*Moraxella* sp. e *Proteus* sp. foram 100% sensíveis à gentamicina, ao passo que *Pseudomonas* sp. foi 90% sensível a ela). Observamos que houve aumento de resistência de *S. aureus* e *S. pneumoniae* à tobramicina (apresentaram 79,3% e 71,4% de sensibilidade a este antimicrobiano neste estudo, contra 91% e 80% de sensibilidade em estudo anterior). Com relação às bactérias Gram negativas, *Pseudomonas* sp. e *Proteus* sp., que eram 100% sensíveis à tobramicina no estudo anterior, neste estudo apresentaram níveis de sensibilidade de 85% e 85,7%. Ressalta-se que a tobramicina foi lançada no mercado brasileiro em 1984 e a sua utilização pode ter mudado os padrões de sensibilidade. A amicacina perdeu sua eficácia frente às bactérias Gram negativas, pois em estudo anterior estas eram 100% sensíveis a este antibiótico e, em nosso estudo atual, *Pseudomonas* sp. foi 55% e *Proteus* sp. 42,9% sensíveis à amicacina, embora este não seja um antibiótico comumente utilizado em oftalmologia, pois não está disponível no mercado. Não foram analisadas culturas para bactérias anaeróbicas, visto que este não era um procedimento de rotina neste laboratório no período analisado. Observamos que, em relação ao estudo anterior, houve alterações na sensibilidade das bactérias aos diferentes antibióticos testados.

SUMMARY

Some ethiological aspects of corneal ulcers in 263 patients that were submitted to corneal culture in the Laboratório de Microbiologia Ocular da Escola Paulista de Medicina were analysed.

Positive cultures were obtained in 132 of the samples, where bacterias were isolated in 41,8% and fungi in 3,8%. Acanthamoeba sp. was isolated in 2 samples. Staphylococcus aureus was the most frequent bacteria isolated (22,1%) and among Gram negative bacteria, Pseudomonas sp. was isolated in 7,6%.

Comparing the results of this study with those performed before at the same laboratory, we demonstrate an increase of bacterial resistance to antibiotics like cefalotin, tobramycin and ampicillin, while gentamicin keeps the same level of sensibility.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES M.R., JOSÉ N.K. - Úlcera de córnea em crianças. *Arq. Bras. Oftal.* 1980, 43 (4):131-3
- ASBELL P., STENSON S. - Ulcerative keratitis: Survey of 30 years laboratory experience. *Arch. Ophthalmol.* 1982, 100:77-80
- BAUM J., BORUCHOFF S.A. - Extended-wear contact lenses and Pseudomonal corneal ulcers. *AJO* 1987, 101: 572-3
- BRIGHTBILL F.S. - Central corneal ulcers. *Annals of Ophthal.* 1972, April: 331-7
- COHEN E.J., LAIBSON P.R., ARENTSEN J.J., CLEMONS C.S. - Corneal ulcers associated with cosmetic extended wear soft contact lenses. *Ophthalmol.*, 1987 Feb. 94 (2): 109-14
- GALANTINE P.G., COHEN E.J., LAIBSON P.R., ADAM C.P., MICHAUD R., ARENTSEN J.J. - Corneal ulcers associated with contact lens wear. *Arch. Ophthalmol.* 1984, 102: 891-4
- GRODEN L., BRINSEN J.H. - Outpatient treatment of microbial corneal ulcers. *Arch. Ophthalmol.* 1986, 104: 84-6
- HASSMAN G., SUGAT J. - Pseudomonas corneal ulcer with extended wear soft contact lenses for myopia. *Arch. Ophthalmol.*, 1983 101:1549-50
- JOSEPH M. - Fungus corneal ulcers (letter). *Arch. Ophthalmol.* 1984,102: 1583
- LEMP M.A., BLACKMAN M.J., WILSON L.A., LEVEILLE A.S. - Gram negative corneal ulcers in elderly aphacic eyes with extended wear lenses. *Ophthalmol.* 1984 91 (1): 60-3
- LIESEGANG T.J., FORSTER R.K. - Spectrum of microbial keratitis in South Florida. *AJO*, 1980 90:38-47
- LIMA A.L.H., NISHI M., LOTTEMBERG C.L., GUIDUGLI T. - Úlcera de córnea em serviço de referência. *Arq. Bras. Oftal.* 1988 51 (3): 118-120
- MONDINO B.J., WEISSMAN B.A., FARB M.D., PETIT T.H. - Corneal ulcers associated with daily wear and extended wear contact lenses. *AJO* 1986, 102: 58-65
- MOORE M.B., McCULLY J.P., LUCKENBACH M., GELENDER H., NEWTON C., McDONALD M.B., VISVESVARA G.S. - Acanthamoeba keratitis associated with a soft contact lenses. *AJO* 1985, 100: 396-403
- MUSCH D.C., SUGAR A., MEYER R.F. - Demographic and predisposing factors in corneal ulceration. *Arch. Ophthalmol.* 1983 oct. 101: 1545-8
- NOSÉ W., SATO E.H., FREITAS D., RIBEIRO M.R., FIRONDA A.S., KWITKO S., BELFORT Jr. R., BURNIER Jr. M., FONT R. - Úlcera de córnea por *Acanthamoeba*. *Arq. Bras. Oftal.* 1988, 51 (6): 223-6
- SANTOS C., PARKER J., DAWSON C.B. - Bilateral fungal corneal ulcers in a patient with AIDS - Related complex (letter). *AJO* 1987 102 (1): 118-9
- SPOOR T.C., HARTEL W.C., WYNN P., SPOOR D.C. - Complications of continuous wear soft contact lenses in a nonreferral population. *Arch. Ophthalmol.* 1984, 102: 1312-3
- SRINIVASAN M., SHARMA S. - Nocardia esteroides as a cause of corneal ulcers. *Arch. Ophthalmol.* 1987, 105: 464
- WEISSMAN B.A., MONDINO B.J., PETIT T.H., HOFBAUER J.D. - Corneal ulcers associated with extended wear soft contact lenses. *AJO* 1984, 97: 476-81