

# Microbiota fúngica conjuntival: estudo comparativo entre pacientes com AIDS, pacientes infectados pelo HIV e pacientes HIV-negativos antes da era do HAART

*Fungal microbiota: comparative study between patients with acquired immunodeficiency syndrome, patients infected with human immunodeficiency virus and immunocompetent individuals before the HAART era*

Procópio Miguel dos Santos <sup>(1)</sup>

Cristina Muccioli <sup>(2)</sup>

Regina Cândido Ribeiro dos Santos <sup>(1)</sup>

Suy Anne Rebouças Martins <sup>(3)</sup>

Olga Fischman <sup>(4)</sup>

Rubens Belfort Jr. <sup>(5)</sup>

## RESUMO

Foi pesquisada a presença de fungos na conjuntiva ocular de 23 pacientes com AIDS, 24 pacientes infectados pelo HIV, ambos de controle ambulatorial e 48 indivíduos HIV negativos, durante um ano, nos meses de fevereiro, abril, julho e outubro. O fungo mais isolado foi *Penicillium* sp, seguido de *Aspergillus* sp, *Candida* sp e *Rhodotorula* sp.

Embora sem diferença significativa, em todas as coletas foi verificado um crescimento maior de fungos na conjuntiva dos portadores de AIDS, seguido pelo grupo infectado pelo HIV e em menor número nos indivíduos HIV-negativos.

**Palavras-chave:** Flora fúngica; Conjuntiva; AIDS; HIV.

## INTRODUÇÃO

A presença de fungos na conjuntiva, mesmo os saprófitas, representa constante ameaça para os olhos, porque esses microrganismos, definidos como oportunistas, podem provocar infecções oculares severas, em situações como: baixa de resistência orgânica, uso prolongado de medicações imunossupressoras ou antibióticos e trauma ocular entre outros <sup>1</sup>.

É estimado que três em quatro pacientes portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) desenvolverá uma ou mais anormalidades oculares no curso da doença. Teoricamente todo fungo, especialmente os de regiões geográficas endêmicas, podem causar infecções oportunistas em pacientes com AIDS <sup>2</sup>.

Infecções fúngicas e por microbactérias estão entre as mais comuns infecções oportunistas que ocorrem nos pacientes adultos infectados com o vírus da imunodeficiência humana <sup>3</sup>, principalmente antes do uso de tratamentos com combinações de drogas que podem proporcionar uma melhora considerável da função imune dos referidos pacientes <sup>4</sup>.

Em virtude do pequeno número de trabalhos sobre a flora fúngica conjuntival, em pacientes com AIDS e infectados pelo HIV de controle ambulatorial, foi projetada a presente pesquisa com propósito de comparar a flora micótica destes pacientes com a de indivíduos HIV negativos ao longo de um ano.

## PACIENTES, MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de material do fórnice conjuntival inferior de 47 pacientes HIV

Trabalho realizado no Setor de Micologia, Disciplina de Biologia Celular, Depto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia e Setor de Patologia Externa e Úvea do Depto. de Oftalmologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

<sup>(1)</sup> Mestre e Doutor pela UNIFESP e Assistente Superior da FHDF.

<sup>(2)</sup> Mestre e Doutora pela UNIFESP e Chefe do Setor de Úvea do Depto. de Oftalmologia da UNIFESP.

<sup>(3)</sup> Residente de Oftalmologia da UNIFESP e ex-residente do Hospital de Base de Brasília.

<sup>(4)</sup> Profª. Adjunta do Setor de Micologia, Disciplina de Biologia Celular, Depto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, UNIFESP.

<sup>(5)</sup> Prof. Titular do Depto. de Oftalmologia, UNIFESP.

**Endereço para correspondência:** Dr. Procópio Miguel dos Santos - HIGS Qd. 704 Bl. "B" C-28 - Brasília (DF) CEP 70331-753.

positivos com e sem AIDS e 48 indivíduos HIV negativos, foram coletadas durante um ano, nos meses de fevereiro, abril, julho e outubro, no Laboratório de Microbiologia Ocular do Departamento de Oftalmologia da UNIFESP e processadas no Setor de Micologia da UNIFESP. O grupo I (GI) era constituído por 23 pacientes portadores de AIDS de controle ambulatorial, 20 do sexo masculino e 3 do sexo feminino, entre 20 a 55 anos (média de 37 anos e 5 meses). O grupo II (G II) foi formado por 24 pacientes infectados pelo HIV, também de controle ambulatorial, 14 do sexo masculino e 10 do sexo feminino, entre 26 e 47 anos (média de 36 anos e 5 meses). O grupo controle (G III) foi composto por 48 indivíduos HIV negativos, sendo 25 doadores voluntários do Banco de Sangue do Hospital São Paulo e 23 funcionários da UNIFESP, confirmados HIV negativos. Suas idades variaram entre 17 e 54 anos (média de 35 anos e 5 meses).

Foi coletado material da conjuntiva ocular de todos os envolvidos no estudo utilizando zaragoas estéreis e o material foi semeado, de acordo com técnicas rotineiras para obtenção de colônias, em placas de Petri contendo ágar-Sabouraud-dextrose com gentamicina. As placas foram mantidas em temperatura ambiente, com observação diária quanto à presença ou não de crescimento de colônias, durante 30 dias, a partir da semeadura.

A identificação dos fungos foi feita através de suas características macro e microscópicas e quando necessário, foram utilizadas provas fisiológicas. Para análise dos resultados foram aplicados os testes de análise de variância por postos de Friedman<sup>4</sup> e análise de variância por postos de Kruskal-Wallis<sup>5</sup>.

## RESULTADOS

A tabela 1 mostra a freqüência dos fungos isolados, nos diferentes meses do estudo, nos três grupos. A média dos

fungos isolados da conjuntiva, nos diferentes meses do ano é apresentada na tabela 2. Embora sem diferença estatística, a média de fungos isolados foi maior nos pacientes com AIDS, seguidos pelos infectados pelo HIV e menor nos indivíduos HIV negativos, em todos os meses estudados.

*Penicillium* sp foi o gênero mais isolado, em todos os grupos. *Candida* sp foi isolada em todos os meses pesquisados, nos portadores de AIDS; também foi o fungo leveduriforme mais isolado, nos diferentes meses do ano.

## DISCUSSÃO

Embora sem diferença significativa, a média de fungos isolados na conjuntiva dos pacientes portadores de AIDS foi maior, seguido pelo grupo HIV soro-positivos. Estes achados sugerem que, em pacientes acometidos pela imunodepressão, existe maior predisposição para o crescimento de fungos na conjuntiva ocular. Segundo Warnock<sup>6</sup> as profundas alterações da função imunológica dos indivíduos portadores de AIDS e infectados pelo HIV favorecem a infecção fúngica.

No presente estudo, a média de fungos isolados nos portadores de AIDS e HIV soro-positivos assintomáticos de controle ambulatorial não foi significativamente maior do que nos indivíduos imunocompetentes, tais achados concordam com o estudo realizado por CHA e col. (1990)<sup>7</sup> em pacientes com AIDS, internados para tratamento de infecção sistêmica e/ou neoplásicas. Assim pode-se concluir que, não existe diferença na microbiota fúngica do paciente imunodeprimido internado e o de controle ambulatorial.

O gênero *Penicillium* sp foi o fungo mais isolado durante as quatro coletas do ano, nos três grupos de indivíduos

Tabela 1 - Freqüência de fungos Leveduriformes e filamentosos isolados na conjuntiva de pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (GI), pacientes infectados pelo HIV (GII) e indivíduos HIV negativos antes da era do HAART, de acordo com o mês da coleta do material, na cidade de São Paulo.

Microrganismo	Fevereiro			Abril			Julho			Outubro			Total
	GI N%	GII N%	GIII N%	GI N%	GII N%	GIII N%	GI N%	GII N%	GIII N%	GI N%	GII N%	GIII N%	
<i>C. albicans</i>	1(4,3)	1(4,2)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,1)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,3)	1(4,2)	1(2,8)	6
<i>C. guilliermondii</i>	1(4,3)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,1)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	1(2,8)	1(4,3)	0(0,0)	0(0,0)	4
<i>C. parapsilosis</i>	0(0,0)	1(4,2)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	3
<i>C. tropicalis</i>	2(8,7)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1
<i>Geotrichum</i> sp	1(4,3)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1
<i>Rhodotorula</i> sp	0(0,0)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	1(4,1)	1(2,8)	1(4,3)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	2(4,2)	7
<b>Fungos Filamentosos</b>													
<i>Acremonium</i> sp	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,1)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,3)	0(0,0)	0(0,0)	2
<i>Alternaria</i> sp	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,3)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1
<i>Aspergillus</i> sp	2(8,7)	1(4,2)	3(6,2)	4(17,4)	1(4,1)	1(2,8)	3(13,0)	1(4,2)	1(2,8)	1(4,3)	2(8,7)	1(2,8)	18
<i>Cladosporium</i> sp	0(0,0)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,2)	1(2,8)	1(4,3)	0(0,0)	1(2,8)	5
<i>Fusarium</i> spp	0(0,0)	1(4,2)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,2)	0(0,0)	3
<i>Paecilomyces</i> sp	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	2(8,7)	1(4,1)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,2)	0(0,0)	1(4,3)	0(0,0)	0(0,0)	5
<i>Penicillium</i> sp	2(8,7)	3(12,5)	5(10,4)	5(21,7)	1(4,1)	5(10,4)	3(13,0)	2(8,3)	3(6,2)	3(13,0)	2(8,3)	2(4,2)	36
<i>Phialophora</i> sp	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,3)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	2
Fungos Filamentosos não esporulado	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,3)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(4,2)	0(0,0)	4

\* O percentual foi tomado em relação ao número total dos pacientes em cada grupo

Tabela 2- Média de fungos isolados da conjuntiva de pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (G I), pacientes infectados com HIV (HIV+) (G II) Indivíduos HIV- (G III) nas quatro coletas realizadas, na cidade de São Paulo.

	Fevereiro	Abril	Julho	Outubro
<b>Média</b>				
<b>AIDS</b>	0,39	0,52	0,39	0,39
<b>HIV +</b>	0,29	0,29	0,21	0,29
<b>HIV</b>	0,23	0,23	0,19	0,15

  

<b>Análise de Variância por postos de Friedman</b> (T <sub>1</sub> X T <sub>2</sub> X T <sub>3</sub> X T <sub>4</sub> )			
G I		G II	
X <sup>2</sup> calc.=0,46(p>0,05)		X <sup>2</sup> calc.=0,16(p>0,05)	
		G III	
		X <sup>2</sup> calc.=0,50(p>0,05)	

  

<b>Análise de Variância por postos de Kruskal-Wallis</b> G I x G II x G III			
T <sup>1</sup>	T <sup>2</sup>	T <sup>3</sup>	T <sup>4</sup>
Hcalc.=0,92(p>0,05)	Hcalc.=2,40(p>0,05)	Hcalc.=1,01(p>0,05)	Hcalc.=2,09(p>0,05)

estudados, na presente investigação. Estes resultados concordam com SCARPI e col.(1985)<sup>8</sup> que encontraram maior prevalência de *Penicillium* sp na conjuntiva de indivíduos sadios da região canavieira do estado de São Paulo. CHA e col. (1990)<sup>7</sup> também isolaram *Penicillium* sp mais frequentemente, na conjuntiva de portadores de AIDS hospitalizados na cidade de São Paulo.

Santos e col. (1997)<sup>9</sup> fazendo um estudo da variação sazonal da microbiota fúngica da conjuntiva de pacientes infectados pelo HIV e com AIDS, isolaram mais *Penicillium* sp durante o outono. Na presente pesquisa, o mesmo paciente com AIDS e o infectado pelo HIV e indivíduo HIV negativo foi submetido a quatro diferentes coletas para pesquisa de fungos, o que não ocorreu com os trabalhos dos autores citados anteriormente. Mesmo assim, pode-se sugerir que o fungo *Penicillium* sp tem certa predileção para desenvolver saprofiticamente na conjuntiva ocular tanto de imunodeprimido como de imonocompetente.

No meio ambiente, *Penicillium* sp foi o segundo fungo mais isolado por SCARPI e col. (1985)<sup>8</sup>, indicando que o meio ambiente pode contaminar a conjuntiva transitoriamente. Assim, a grande freqüência de isolamento do referido fungo, na presente investigação, pode ter ocorrido devido à contaminação ambiental<sup>10</sup>.

Não houve isolamento de um mesmo fungo por mais de duas vezes seguidas no mesmo paciente, supondo flora fúngica transitória, já observada por outros pesquisadores em estudos anteriores<sup>11</sup>. A presença destes fungos na conjuntiva, mesmo saprófitas, representa uma ameaça constante para os olhos desses indivíduos imunodeprimidos, porque a baixa de imunidade propicia a agressão por esses fungos oportunistas<sup>12</sup>. Também, certas espécies de *Candida*, são os agentes de infecção oportunista mais comuns em portadores de AIDS, podendo ocorrer em torno de 80 a 90%<sup>13</sup>.

Neste estudo, o segundo fungo mais frequentemente isolado foi *Aspergillus* sp, em terceiro lugar, *Candida* sp, e em quarto lugar *Rhodotorula* sp. Em uma pesquisa realizada por COSTA e col.(1975)<sup>14</sup>, *Rhodotorula* sp, foi o gênero de fungo mais isolado pelos referidos pesquisadores, em conjuntiva de indivíduos normais. De acordo com Williamson e col. (1968)<sup>15</sup> espécies destes fungos parecem ser habitantes comuns da parte externa de olhos sadios. Por outro lado, outros autores<sup>16</sup> relatam que, *Candida* sp, *Aspergillus* sp e *Fusarium* sp são os principais agentes etiológicos de úlcera corneana.

Nesta investigação, *Cephalosporium* sp e *Paecilomyces* sp, apareceram em quinto lugar. Segundo Azevedo (1962)<sup>17</sup>, *Cephalosporium* sp é um fungo anemófilo importante na cidade de São Paulo em ambientes hospitalares. Jones (1981)<sup>18</sup> admitiu que o *Paecilomyces* sp é um fungo que pode causar endoftalmite.

Para os pacientes imunodeprimidos, uma colonização maior de fungos na conjuntiva associada a outros fatores locais como olho seco, representa uma ameaça constante ao aparecimento de infecção fúngica conjuntival e corneana. Estudos futuros poderão elucidar melhor a relação entre o aumento da população fúngica conjuntival e o aparecimento de infecção fúngica ocular externa.

#### SUMMARY

Samples from the ocular conjunctiva of 23 patients with AIDS, 24 patients infected with human immunodeficiency virus (HIV) and 48 immunocompetent individuals were taken during the months of February, April, July and October. During the year an increase in fungi of the conjunctiva of the AIDS patients, followed by patients infected with HIV and a

*smaller percentage in healthy people was observed. The most frequently isolated fungus was Penicillium sp followed by Aspergillus sp, Candida sp and Rhodotorula sp.*

**Keywords:** *Fungal flora; Conjuntiva; AIDS; HIV.*

---

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. O'Day DM, Burd EM, Fungal keratitis and conjunctivitis. In: Smolin G, Thoft RA. The cornea. 3.ed. Boston; New York: Little, Brown, 1994.p.229-52.
2. Mines JA, Kaplan HJ. AIDS: The disease and its ocular manifestations. Int. Ophthalmol Cli 1986;26(2):73-115.
3. Spencer PM, Jackson GG. Fungal and mycobacterial infections in patients infected with the human immunodeficiency virus. J Antimicrob Chemo 1989; 23(A):107-125.
4. Horn GVD, Meenken C, Danner AS, Reiss P, Smet MD. Effects of protease inhibitors on the course of CMV retinitis to CD4+ lymphocyte responses in HIV+ patients. Br J Ophthalmol 1998;82:988-90.
5. Siegel S. Estatística no paramétrica. México, D.F. Trillas 1975.p.346.
6. Warnock DW. Introduction to the management of fungal infection in the compromised patient. In: Warnock DW & Richardson MD, Fungal infection in the compromised patient. 2 ed. John Wiley & sons. New York 1991.p.23-53.
7. Cha SB, Fischman O, Barros PSM, Mikoves R. Microbiota fúngica conjuntival de pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida. Arq Bras Oftal 1990;53(2):80-90.
8. Scarpi MJ, Belfort JR R, Gompertz OF, Microbiota fúngica de conjuntiva normal em trabalhadores no corte de cana-de-açúcar. Rev Bras Oftalmol 1985;44:57-65.
9. Santos PM, Santos RCR, Muccioli C, Novo NF, Scarpi MJ, Gompertz OF. Variação sazonal da microbiota fúngica da conjuntiva de pacientes HIV soropositivos. Arq Bras Oftal 1997;60(5):508-13.
10. Sehgal SC, Dhawan S, Chhiber S, Sharma M, Talwar P. Frequency and significance of fungal isolations from conjunctival sac and their role in ocular infections. Mycopathologia 1981;73:17-9.
11. Ando N, Takatori K. Fungal flora of the conjunctival sac. Am J Ophthalmol 1982;94:67-74.
12. Wind CA, Pollack FM. Keratomycosis due to *Curvularia lanata*. Arch Ophthalmol 1970;84:694-6.
13. Holmberg K, Meyre R. Fungal infections um patients with AIDS and AIDS-related complex. Scand J Inf Dis 1986;18:179-92.
14. Costa ML, Galvão PG, Lage J. Flora micótica da conjuntiva de indivíduos normais. Rev Bras Oftal 1975;24(4):675-82.
15. Williamson J, Gordon A M, Wood R, McK Syer A, Yahya AO. Fungal flora of the conjunctival sac in health and disease. Influence of topical and systemic steroids. Brit J Ophthalmol 1968;52:127-37.
16. Vieira LA, Belfort Jr R. Ceratite micótica. In: Belfort Jr R, Kara-José N, Córnea Clínica - Cirúrgica. 1 ed. Roca. São Paulo. 1997;189-203.
17. Azevedo ML. Investigações preliminares sobre a microflora ocular. Arq Bras Oftalmol 1962;25:41-7.
18. Jones DB. Fungal keratitis. In: Duane ID, Clinical ophthalmology. Philadelphia. Harper & Row 1981;4:1-7.