

INVESTIGAÇÕES

OCULAR (*)

Dr. Marcello L. de Azevedo (**) — S. Paulo

Em condições normais, os fundos de saco conjuntivais, as vias lacrimais e os orifícios glandulares palpebrais constituem locais adequados para o desenvolvimento de fungos, pois encontram condições uniformes de umidade, calor e proteção luminosa favoráveis ao saprofitismo. Acresce ainda, o fato de estarem a conjuntiva e anexos permanentemente em contato direto com o ar ambiente, no qual existe um teor de esporos maior ou menor, na dependência de situações geográficas e tipo de flora predominante nas diversas épocas do ano. Essas mesmas condições favorecem também, o saprofitismo bacteriano, criando-se um equilíbrio biológico entre floras micótica e bacteriana, suscetível de romper-se em determinadas condições, especialmente sob o efeito de antibióticos.

A investigação da flora bacteriana em conjuntivas normais tem sido extensamente estudada, desde os trabalhos de LINDNER, no século passado, sendo conhecida a presença de certos bacilos, como o da xerose, por exemplo, já em conjuntivas de recém-nascidos.

A investigação da micoflora, entretanto, somente foi estudada em conjuntivas normais a partir de 1934, por FAZAKAS, e mais recentemente por MITSUI e HANABUSA em 1955 e HAMMEKE e ELLIS em 1960.

As investigações iniciais de FAZAKAS (4), incluíram pesquisas de fungos na conjuntiva, córnea, bordas palpebrais e vias lacrimais de olhos normais, tendo esse autor encontrado em 992 pessoas, culturas positivas em 253 (25,5%).

MITSUI e HANABUSA (7) estudaram o efeito prolongado de corticosteróides sobre a flora micótica conjuntival, obtendo 42 culturas positivas em 62 pacientes com uso tópico de corticosteróide, atingindo percentagem de 67%.

HAMMEKE e ELLIS (5) estudaram 156 adultos, 52 crianças e 52 lactentes, todos com olhos normais. No 1.º grupo (adultos), obtiveram 32 culturas positivas, ou sejam 10,3%. No 2.º grupo (crianças), acharam 5 positivas, isto é, 4,8%. No 3.º grupo (lactentes), houve apenas 1 cultura positiva, ou seja, 0,1%.

(*) Agradecemos a valiosa colaboração do Prof. Carlos da Silva Lacaz (Dep. de Microbiologia da Faculd. Med. Univ. de S. Paulo), na identificação dos fungos e elucidação de problemas micológicos.

(**) Da Clínica Oftalmológica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Serviço do Prof. Cyro de Rezende.

Em nosso meio, nunca foi feita uma investigação nesse sentido, registrando-se na literatura, apenas casos isolados em que se encontraram fungos em olhos portadores de processos patológicos variados.

MATERIAL E MÉTODO

Estudamos os dois olhos em 100 pessoas de ambos os sexos, com idades variando de 3 a 86 anos, predominando adultos. Dividimos o nosso material em 3 grupos.

1.º grupo: 45 pessoas com processos inflamatórios oculares (conjuntivites, ceratites, úlceras de córnea, abscessos de órbita e vias lacrimais).

2.º grupo: 12 pessoas com olhos normais.

3.º grupo: 43 pessoas submetidas à cirurgia ocular, e que se mantiveram com ambos os olhos ocluídos por mais de 2 dias.

O método usado foi o da semeadura do material colhido com alça de platina, previamente aquecida ao rubro, retirando-se aquele material dos fundos de saco conjuntivais inferiores, da profundidade das úlceras porventura existentes na córnea, e do pús de abscessos endoculares ou orbitários.

O material foi sempre semeado em ágar Sabouraud-sólido, contido em tubos de ensaio formando superfície inclinada, e mantidos à temperatura ambiente, bem como em Sabouraud-líquido, adicionado de penicilina (20 U.O./cm³) e estreptomicina (30 mcg/cm³), contidos em tubos de ensaio e mantidos à temperatura de 37° C. O material semeado em ambos os meios foi observado sempre por mais de 20 dias.

RESULTADOS

No 1.º grupo, constituído por 45 doentes com processos inflamatórios dos olhos e anexos, obtivemos 10 culturas positivas, sendo 9 em Sabouraud-sólido e 1 em Sabouraud-líquido.

Os fungos encontrados foram:

N.º de casos	Diagnóstico	Fungo	Meio cult.
1	Conjuntivite cr.	<i>Helminthosporium</i> sp	Sab. sólido
1	Conjuntivite cr.	<i>Penicillium</i> sp	Sab. sólido
1	Conjuntivite cr.	<i>Torulopsis</i> sp	Sab. sólido
1	Conjuntivite ag.	<i>Pullularia</i> sp	Sab. sólido
1	Endoft. pos-cir. catarata	<i>Cladosporium</i> sp	Sab. sólido
1	Úlcera de córn.	<i>Mucor</i> sp	Sab. líquido
1	Úlcera de córn.	<i>Mycelia sterila</i>	Sab. sólido
1	Conjuntivite cr.	<i>Mycelia sterila</i>	Sab. sólido
1	Conjuntivite cr.	<i>Mycelia sterila</i>	Sab. sólido
1	Endoft. pos- cir. catarata	<i>Mycelia sterila</i>	Sab. sólido

TOTAL: 10

% : 22,2%

N 2.º grupo, constituído por 12 pessoas com olhos normais, e seleccionadas ao acaso, no Ambulatório da Clínica Oftalmológica do Hospital das Clínicas, não obtivemos nenhuma cultura positiva.

N.º de casos	Diagnóstico	Fungo	Meio cult.
12	Normal	—	Sab. sólido e Sab. líquido

TOTAL: 12

% : 0,0%

No 3.º grupo, constituído por 43 pessoas submetidas à cirurgia ocular, sendo a maioria cirurgia da catarata, e que se mantiveram com ambos os olhos ocluídos por mais de 2 dias, obtivemos 7 culturas positivas, todas resultantes de material retirado do olho oposto àquele operado. As culturas se desenvolveram todas em Sabouraud-sólido, e os fungos encontrados foram os seguintes:

N.º de casos	Cirurgia	Fungo	Meio cult.
5	Cir. catarata	<i>Cladosporium</i> sp	Sab. sólido
2	Cir. catarata	<i>Mycelia sterila</i>	Sab. sólido

TOTAL: 7

% : 16,2%

COMENTÁRIOS

A análise de nossos resultados demonstra que em nenhum dos grupos cultivou-se um fungo patogênico. Esses resultados concordam com os de HAMMEKE e ELLIS (5), bem como com os de MITSUI e HANABUSA (7), e parcialmente com os de FAZAKAS (4), que encontrou em suas culturas 4,1% de cogumelos patogênicos.

Os gêneros por nós cultivados, com exceção do *Helminthosporium*, fazem parte dos fungos anemófilos existentes no ar da cidade de São Paulo, onde LACAZ e colab. (6) encontraram, entre outros, o *Penicillium* (83,7%), *Cladosporium* (73,4%), *Torulopsis* (20,4%), *Mucor* (12%), *Pullularia* (8,1%)

Pesquisas que estamos efetuando atualmente sobre o grau de contaminação por fungos, no ar das enfermarias e salas cirúrgicas do Serviço de Oftalmologia do Hospital das Clínicas (1), demonstram que os cogumelos existentes nesses ambientes hospitalares são os mesmos encontrados por LACAZ e colab. (6), acrescentando-se apenas algumas Leveduras brancas e certos *Fungi Imperfecti*, cujos gêneros não foram identificados.

Evidenciam, pois, essas comparações, a dependência da micoflora ocular com os fungos anemófilos do ambiente. Há entretanto, certa predileção de alguns fungos para se desenvolverem saprofiticamente sobre os

tecidos oculares, com exclusão de outros. Os cogumelos do gênero **Rhodotorula**, por exemplo, existem no ar de São Paulo na proporção de 63,2% (6), e igualmente incidem em alta percentagem no ambiente hospitalar que está sendo por nós estudado (1); entretanto, esse gênero não foi cultivado em nenhum dos grupos que constituem a presente investigação. O gênero **Penicillium** aparece na estatística de LACAZ e colab. (6) como o mais frequente (83,7%) e também existe no ambiente hospitalar ora em estudo (1), tendo sido cultivado apenas uma vez em um caso de conjuntivite crônica, pertencente ao primeiro grupo.

A incidência, no terceiro grupo, de 5 casos com culturas positivas para **Cladosporium** sp, e 1 caso no primeiro grupo, demonstra evidente predileção desse gênero para com os tecidos oculares. Como vimos anteriormente, no terceiro grupo as culturas positivas provieram tôdas dos olhos ocluídos não operados, normais em todos os casos examinados. A oclusão do olho oposto àquele operado, é feita quase sempre sem os mesmos rigores de assepsia, e sem adição de colírios ou pomadas antibióticas. A incidência bastante elevada do **Cladosporium** nesses olhos ocluídos (11,6% — 3.º grupo), em ambiente do mesmo modo altamente contaminado por esse cogumelo, demonstra a importância do mesmo como possível agente etiológico de endoftalmites pós-operatórias.

Essa hipótese adquire maior importância ao analisarmos o único caso positivo para **Cladosporium** no primeiro grupo: tratava-se de indivíduo do sexo masculino, com 65 anos, branco, operado de catarata por extração extra-capsular, abertura com faca de von Graefe, e que 24 horas após já apresentava o olho operado muito irritado, com secreção purulenta acompanhada de deiscência da sutura corneana. Hcive piora rápida da supuração, apesar da medicação antibiótica instituída, levando à evisceração no 8.º dia do pós-operatório. O material purulento organizara-se na câmara anterior, destacando-se em grandes pedaços quando apanhado com a pinça. O segmento anterior do olho parecia estar todo transformado em massa purulenta. Após esvaziamento dessa massa anterior, o vítreo posterior fluíu aparentemente íntegro, dando impressão de ter sido apenas o terço anterior a porção atingida pelo abscesso. O exame bacteriológico do pús revelou a presença de *Micrococcus epidermidis*, com provas de patogenidade negativas. A cultura do pús em meio Sabouraud-sólido foi positiva para **Cladosporium**.

A evolução desse caso apresenta semelhança absoluta com as descrições existentes na literatura de casos com endoftalmite pós-operatória a fungos na cirurgia da catarata, diferindo apenas em um aspecto: a instalação do abscesso no pós-operatório imediato, contrariando o conceito de ser a complicação sempre tardia, pelo menos surgindo a partir do décimo quinto dia em diante. A sintomatologia e os sinais clínicos desse caso, a resistência aos tratamentos, a negatividade bacteriológica para germes

patogênicos e a positividade da cultura para *Cladosporium*, sugerem ter sido esse fungo o agente etiológico da endoftalmite. Reforça ainda essa suposição, a verificação feita recentemente de ser o vítreo excelente meio de cultura para o *Cladosporium* (2).

Ainda no primeiro grupo, existe outro caso de endoftalmite pós-cirurgia da catarata, cujo material purulento, retirado diretamente da câmara anterior por punção, foi positivo para fungo, sem contudo ter sido possível a sua identificação (*Mycelia sterila*). Esse caso foi complicação tardia, tendo se instalado o abscesso no vítreo cerca de 2 meses após o ato cirúrgico, e evoluindo inexoravelmente para a enucleação. Não temos dúvida ter sido o fungo o agente etiológico atuante nessa complicação.

Quanto aos demais casos do primeiro grupo, acreditamos ter sido o fungo apenas um contaminante secundário, talvez contribuindo para a cronificação das conjuntivites. A sua atuação seria, pois, simbiótica com o verdadeiro agente etiológico.

O segundo grupo não nos parece significativo, pelo diminuto número de casos que o constitui, necessitando prosseguir-se a uma investigação mais ampla, sob o mesmo critério, para permitir quaisquer conclusões.

Os estudos até agora feitos sobre fungos em oftalmologia, demonstram que nessa especialidade, o conceito de fungo não patogênico e fungo patogênico é muito relativo, porquanto a grande maioria dos cogumelos causadores da ominosa complicação micótica pós-operatória na cirurgia da catarata, é constituída por fungos não patogênicos. Aliás, esse conceito difunde-se atualmente por toda a medicina, havendo inúmeros casos descritos de fungemias mortais causadas por "fungos inocentes".

Ainda no terceiro grupo, a explicação cabível para a positividade das culturas originar-se, em todos os casos, dos olhos ocluídos homólogos àqueles operados, talvez resida no fato de não terem esses olhos sido manuseados, enquanto os olhos operados foram sempre trabalhados para limpeza do campo operatório.

Os fungos crescem saprofiticamente sobre os revestimentos externos do olho na superfície dos epitélios, provavelmente utilizando-se das células exofeliadas para a sua nutrição. Temos verificado, em estudos de citologia conjuntival (3), que os esfregaços de material retirado com espátula das regiões fúndicas, contêm micélios freqüentemente, sendo estes sempre extracelulares. É possível, pois, que a lavagem dos fundos de saco conjuntivais com soro fisiológico seja suficiente para a remoção dos cogumelos.

CONCLUSÕES

1.º — Em nenhum caso investigado neste trabalho foi isolado cogumelo patogênico.

2.º — Há correlação nítida entre os fungos que constituem a flora anemófila de São Paulo e os fungos encontrados em nossos casos.

3.º — Parece haver evidente predileção do **Cladosporium** para com os tecidos oculares, tanto pelo revestimento externo do globo quanto pelo humor vítreo.

4.º — A possibilidade de ser o **Cladosporium** um dos agentes etiológicos das endoftalmites pós-operatorias na cirurgia da catarata, parece altamente sugestiva pelas pesquisas realizadas neste trabalho.

RESUMO

Uma investigação sôbre a presença de fungos nos olhos foi feita em 100 pessoas. Houve correlação entre os fungos anemófilos dos ambientes com aqueles encontrados tanto em olhos com processos patológicos quanto em molhos normais. O aspecto mais interessante da investigação foi o achado de culturas positivas para o fungo **Cladosporium** em 7 pacientes operados de catarata em um grupo de 43 doentes (16,7%), assim como a presença desse mesmo fungo em 1 caso de abcesso do vítreo num pós-operatório imediato de cirurgia da catarata. Parece haver evidente predileção do **Cladosporium** para com os tecidos oculares, tanto do revestimento externo do globo quanto pelo humor vítreo.

ABSTRACT

PRELIMINARY INVESTIGATIONS ABOUT OCULAR MYCOTIC FLORA

One hundred persons have had both eyes investigated for fungi. Material was divided in three groups.

I — 45 persons with ocular diseases (conjunctivitis, corneal ulcers, orbital and lachrymal abscesses, endophthalmitis).

II — 12 persons with normal eyes, choosed at random from the clinics and wards.

III — 43 persons submitted to cataract surgery having both eyes occluded for two days or more.

The method was as follows: the conjunctival sac of both eyes were swabbed with a platinum wire and the material strocked across a solid Sabouraud-slant, and then across a liquid Sabouraud media (containing penicillin 20 O.U./cm³ and chloramphenicol 30 mcg/cm³), the former maintained at normal temperature, the latter at 37°C. When there was a discharge, material was collected with the platinum loop and then strocked across both media described. All positive cultures were allowed to grow up to sufficient size, 20 days at least, after which they were isolated and identified as to genus.

Results: I — cultures from 45 persons with ocular diseases were positive in 10 (22.2%). Fungi isolated **Helminthosporium**, **Penicillium**, **Tetralopsis**, **Pullularia**, **Cladosporium**, **Mucor**, **Mycelia sterila**.

II — cultures from 12 persons with normal eyes were negative in all (0.0%).

III — cultures from 43 patients submitted to cataract surgery were positive in 7 (16.2%). All the positive cultures were obtained from the opposite eye, that is, from that one that was not operated upon. Fungi isolated: **Cladosporium** (5 times), **Mycelia sterila** (2 times).

Comments: in neither case examined it was isolated a pathogenic fungi. All the genus cultivated, except the genus **Helminthosporium**, are encountered in the anemophilous flora in the city of São Paulo. It is interesting to observe that the fungus flora in the wards and surgical rooms (Hospital das Clínicas) is the same, with few exceptions. As we have seen in the third group, positive cultures were obtained seven times (16.2%), being the genus **Cladosporium** responsible five times (11.6%). The preference of **Cladosporium** for growing up in normal occluded eyes with exclusion of other fungi that exist in the same conditions on the air is remarkable. In the first group it was this very genus **Cladosporium** the etiologic agent of a vitreous abscess complicating the post-surgical course of a cataract surgery. Considering the high contamination of the air by the genus **Cladosporium**, its remarkable preference for infecting normal occluded eyes and its capacity for growing up in the vitreous, as we have noted in experiences in course of development (2), it is highly suggestive that this fungus can play an etiologic role in cataract post-operative endophthalmitis.

BIBLIOGRAFIA

1. AZEVEDO, M.L.: Fungos no ar ambiente de Enfermarias e Salas Cirurgicas de um Serviço Oftalmológico. (em preparação)
2. AZEVEDO, M.L. e LACAZ, C.S.: O Vítreo como meio natural de cultura para Fungos (em preparação)
3. AZEVEDO, M.L.: Citologia Ocular. O método de Papanilocau em oftalmologia. (em preparação)
4. FAZAKAS, A.: Ueber die von Bindehaut, Hornhaut, Lidrand und Tränenwegen gezuchteten Pilze. Arch. f. Ophth., 133: 461-466, 1934
Zusammenfassender Bericht über meine ophthalmologischen Pilzuntersuchungen. Ophthalmologica, 126:91-109, 1953
5. HAMMEKE, J.C. and ELLIS, P.P.: Mycotic Flora of the Conjunctiva. Am. J. Ophth., 49:1174-1178, 1960
6. LACAZ, C.S., MENDES, E., PINTO, R.J.R., CARDOSO, T.J.B. e LUCHETTI, L.C.H.: Fungos anemófilos nas cidades de São Paulo e Santos (Brasil); inquérito preliminar com extratos de fungos em pacientes com alergia do trato respiratório. Rev. Hosp. Clin., 13:187-193, 1958
7. MITSUI, Y. and HANABUSA, J.: Corneal Infections after Cortisone Therapy. Brit. J. Ophth., 39:244-250, 1955