



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde

Pós-Graduação em Cirurgia

José Ricardo Pires Diniz

Microbiota bacteriana da conjuntiva em portadores de degeneração macular relacionada à idade exsudativa comparada com a de portadores de catarata

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Cirurgia.

Orientador-Interno

Dr. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Titular do Departamento de Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da UFPE

Orientador-Externo

Dra. Célia M. M. Barbosa de Castro

Profa. Adjunto do Departamento de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da UFPE

Recife - PE

2009

Diniz, José Ricardo Pires.

Microbiota bacteriana da conjutiva em portadores de degeneração macular relacionada à idade exsudativa comparada com a de portadores de catarata / José Ricardo Pires Diniz. – Recife : O Autor, 2009.

Xiii + 58 folhas : il., tab. e quadros.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Cirurgia, 2009.

Inclui bibliografia, anexos e apêndices.

1. Cirurgia nos olhos. 2. Flora. 3. Túnica conjuntiva.
4. Degeneração macular. 5. Catarata. I. Título.

617.711

CDU (2.ed.)

UFPE

617.77

CDD (21.ed.)

CCS2009-146

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

Relatório da Defesa de Dissertação do Dr. José Ricardo Pires Diniz, Aluno de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Área de Concentração: Cirurgia: Clínica e Experimental.

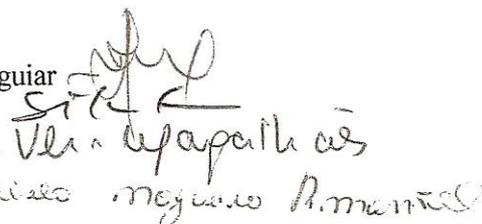
Às oito horas do dia doze de maio de dois mil e nove no Auditório Murilo La Greca do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, tiveram início os trabalhos de defesa de tese do Dr. José Ricardo Pires Diniz, para obtenção do grau de Mestre em Cirurgia. A comissão Julgadora – eleita pelo Colegiado do Programa e homologada pela Câmara de Pesquisa e Pós-graduação – foi integrada pelos professores: Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE (Presidente da Banca Examinadora); Dr. Sílvio da Silva Caldas Neto, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr^a. Vera Magalhães da Silveira, Doutora do Departamento de Medicina Tropical; e, para suplentes: interno: Dr. Salvador Vilar Correia Lima, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; e, finalmente, externo, Dr^a. Liana Maria Vieira de Oliveira Ventura, Doutora da FAV; tendo, como orientador interno, o Dr. Carlos Teixeira Brandt, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE. A tese apresentada pelo Mestrando José Ricardo Pires Diniz versou sobre: **“MICROBIOTA BACTERIANA DA CONJUNTIVA NO PRÉ-OPERATÓRIO IMEDIATO EM PACIENTES COM DEGENERACÃO MACULAR RELACIONADA À IDADE SUBMETIDOS À INJEÇÃO INTRAVÍTREA DE ANTIANGIOGÊNICO COMPARADA COM PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA DE CATARATA”**. Após, a explanação de 30(Trinta) minutos, Pelo candidato, justificando a escolha, o objetivo da pesquisa, a metodologia empregada e os resultados obtidos, baseados na análise estatística, ilustrados com data show, foram realizadas as argüições na seguinte ordem: Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar (Presidente da Banca Examinadora); Dr. Sílvio da Silva Caldas Neto; Dr^a. Vera Magalhães da Silveira; todas as argüições foram feitas no tempo regulamentar, e respondidas pelo candidato. Ao término das mesmas, a Comissão Julgadora proferiu o seguinte resultado: Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar (Presidente da Banca Examinadora), menção “Apurada”, Prof. Dr. Sílvio da Silva Caldas Neto, menção “APROVADO”, Prof. Dr^a. Vera Magalhães da Silveira, menção “APROVADO”. Nada mais havendo a registrar foram encerrados os trabalhos e, para constar, elaborei o presente relatório que vai por mim, Isabela Nogueira Pimentel, Secretária, assinados depois do Senhor Presidente, e demais integrantes da Comissão Examinadora. Recife, 12 de maio de 2009.

Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Dr. Sílvio da Silva Caldas Neto

Prof. Dr^a. Vera Magalhães da Silveira

Sra. Isabela Nogueira Pimentel



Universidade Federal de Pernambuco

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. José Thadeu Pinheiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DIRETOR SUPERINTENDENTE

Prof. George da Silva Telles

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

CHEFE

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO

COORDENADOR

Prof. Carlos Teixeira Brandt

VICE-COORDENADOR

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

CORPO DOCENTE

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

Prof. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Cláudio Moura Lacerda de Melo

Prof. Edmundo Machado Ferraz

Prof. Fernando Ribeiro de Moraes Neto

Prof. Frederico Teixeira Brandt

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

Prof. Sílvio Caldas Neto

DEDICATÓRIA

*À minha esposa, **Renata**,
minha cara-metade, companheira inseparável. Pela sua
paciência e incentivo para me tornar uma pessoa melhor.*

*Aos meus pais, **Paulo e Beth**,
por terem me ajudado a chegar até aqui. Por serem os
pais presentes de sempre, com quem eu posso contar.*

AGRADECIMENTOS

A **DEUS, meu SENHOR**, por me honrar com o cumprimento desta importante etapa da minha vida.

Aos meus irmãos **Paulo, Gustavo e Graça**, pela amizade e lealdade de sempre.

A minha amiga e cunhada, **Daniela**, pela ajuda e incentivo no meu crescimento profissional.

A todos meus familiares, **tios, cunhados, cunhadas, sobrinhos e sogros**, pelo suporte e compreensão.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Carlos Brandt**, pelo incentivo e orientação nesse trabalho, e pelo exemplo de dedicação ao ensino.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Célia Castro**, pelo apoio e orientação nesse trabalho.

Ao **Prof. Edmilson Mazza**, pelos ensinamentos de análise estatística.

A **Fátima Diniz, Judith e Rafael**, pela seriedade, profissionalismo e disponibilidade na análise laboratorial das amostras.

Ao amigo **Marcus Matos**, pelas suas observações e sugestões para crescimento deste trabalho.

Aos colegas **Kléper Leitão e Marcos Eugênio de Souza**, pela grande ajuda na coleta das amostras.

Aos amigos do mestrado, **Carol Celino e Cecília Remígio**, por compartilharem as ansiedades e os momentos de alegria durante todo o curso.

Aos diretores da Fundação Altino Ventura, **Dr. Marcelo Ventura, Dra. Liana Ventura e Dr. Ronald Cavalcanti**, pelo incentivo e apoio durante toda minha caminhada na Oftalmologia.

A **todos** funcionários da Fundação Altino Ventura, em especial à **Vera**, da biblioteca, pela paciência e disponibilidade de sempre.

A **todos** que colaboraram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Apresentação do problema.....	01
1.2 Justificativa.....	03
1.3 Objetivos.....	04
1.3.1 Geral.....	04
1.3.2 Específicos.....	04
2. LITERATURA.....	05
2.1 Microbiota conjuntival.....	05
2.1.1 Constituição.....	05
2.1.2 Fatores que interferem no perfil da microbiota conjuntival.....	07
2.1.3 Métodos de isolamento bacteriano.....	08
2.2 Degeneração macular relacionada à idade.....	10
2.2.1 Conceito.....	10
2.2.2 Classificação.....	10
2.2.3 Tratamento.....	11
2.2.4 Injeção intravítrea de antiangiogênico e endoftalmite infecciosa.....	14
2.3 Catarata.....	14
2.3.1 Conceito e classificação.....	14
2.3.2 Cirurgia de catarata.....	16
2.3.3 Endoftalmite pós-facectomia e microbiota.....	16

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	19
3.1 Local de estudo.....	19
3.2 Tipo de estudo.....	19
3.3 População e seleção dos grupos.....	19
3.4 Critérios para seleção dos grupos.....	20
3.4.1 Critérios de inclusão.....	20
3.4.2 Critérios de exclusão.....	21
3.5 Procedimentos.....	22
3.5.1 Procedimentos técnicos.....	22
3.5.1.1 Exame oftalmológico.....	22
3.5.1.2 Coleta das amostras e análise laboratorial.....	23
3.5.2 Procedimentos analíticos.....	26
3.5.3 Procedimentos éticos.....	26
4. RESULTADOS.....	27
4.1 Cultura de secreção conjutival.....	27
4.2 Antibiograma.....	29
5. DISCUSSÃO.....	31
5.2 Justificativa de testar a hipótese.....	31
5.3 Desenho do estudo.....	32
5.4 Tamanho da amostra.....	33
5.5 Caracterização da amostra.....	34
5.6 Metodologia.....	36
5.7 Aspectos relacionados aos resultados.....	37
5.7.1 Perfil bacteriano.....	37
5.7.2 Antibiograma.....	39
5.8 Considerações finais.....	41
6. CONCLUSÕES.....	42
REFERÊNCIAS.....	43

APÊNDICE.....	54
Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	54
ANEXO.....	57
Anexo 1 – Carta de aprovação do Comitê de Ética	57
Normatização da dissertação.....	58

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AIDS	<i>acquired immunodeficiency syndrome</i> (síndrome da imunodeficiência adquirida)
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i> (infusão de cérebro e coração)
°C	graus Celsius
CIM	concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DMRI	degeneração macular relacionada à idade
EPR	epitélio pigmentar da retina
EUA	Estados Unidos da América
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
MC	microbiota da conjuntiva
mm	milímetros
MNVSR	membrana neovascular sub-retiniana
nm	nanômetros
OCT	<i>Optical Coherence Tomography</i> (tomografia de coerência óptica)
PDT	photodynamic therapy (terapia fotodinâmica)
PVPI	iodopovidona
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
StaCoN	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
UFC	unidade formadora de colônias
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i> (fator de crescimento endotelial vascular)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Espécies bacterianas isoladas do saco conjuntival de 16 olhos do grupo I (DMRI) e 27 olhos do grupo II (catarata).....	28
Tabela 2	Padrão de sensibilidade das colônias bacterianas isoladas do saco conjuntival dos pacientes do grupo I (DMRI) e grupo II (catarata) segundo antibióticos testados.....	29
Tabela 3	Padrão de sensibilidade das 25 colônias de <i>Staphylococcus aureus</i> isoladas do saco conjuntival de ambos os grupos estudados.....	30

RESUMO

Objetivo: Avaliar a microbiota bacteriana da conjuntiva e sua sensibilidade aos antibióticos em portadores de degeneração macular relacionada à idade (DMRI) exsudativa, comparando com a de portadores de catarata. **Métodos:** Realizou-se estudo prospectivo, observacional, analítico, com corte transversal em duas populações de estudo. Foram constituídos dois grupos: grupo I (DMRI exsudativa ativa com indicação de injeção intravítrea de bevacizumab) com 16 olhos de 16 pacientes (oito do sexo masculino e oito do feminino) com média de idades de 71,3±9,9 anos; grupo II (catarata em pré-operatório para cirurgia) com 27 olhos de 27 pacientes (nove do sexo masculino e 18 do feminino) com média de idades de 67,6±7,9 anos. Os grupos foram homogêneos em relação à idade ($p=0,180$) e ao sexo ($p=0,280$). Foi realizada coleta de secreção do fundo de saco inferior da conjuntiva, através de *swab*, e imediatamente colocado em tubo contendo meio líquido BHI (*brain heart infusion*). As amostras foram processadas conforme técnicas laboratoriais padrão e realizado antibiograma de cada colônia isolada. **Resultados:** Houve crescimento de 17 colônias bacterianas no grupo I, com um olho não apresentando crescimento e 30 colônias no grupo II. Houve maior frequência de bactérias Gram positivas nos dois grupos: 14/17 colônias (82,3%) no grupo I e 29/30 colônias (96,7%) no grupo II, com predomínio de *Staphylococcus aureus* em ambos os grupos, com oito amostras (47,1%) e 17 (56,7%), respectivamente. *Staphylococcus* coagulase negativa foi a segunda bactéria mais identificada, com 23,5% no grupo I e 20,0% no grupo II. Nenhuma diferença de frequência entre os grupos alcançou significância estatística. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na sensibilidade das bactérias aos antibióticos testados entre os dois grupos, entretanto houve tendência para maior resistência à oxacilina nos portadores de DMRI ($p=0,081$). **Conclusão:** Não houve diferença na distribuição das bactérias e sensibilidade aos antibióticos da microbiota conjuntival em portadores de DMRI exsudativa, comparada com a de catarata.

Descritores: Flora; Túnica conjuntiva; Degeneração macular; Catarata.

ABSTRACT

Purpose: To evaluate the conjunctiva bacterial microbiota and its antibiotic sensibility in exsudative age-related macular degeneration (ARMD) patients, comparing to the microbiota of cataract patients. **Methods:** It was done a prospective, observational, analytic study, with cross section in two study populations. Two groups were organized: group I (active exsudative ARMD with indication of intravitreal injection of bevacizumab) with 16 eyes from 16 patients (eight males and eight females) with mean age of 71.3 ± 9.9 years; group II (cataract in the pre-operative for surgery) with 27 eyes from 27 patients (nine males and 18 females) with mean age of 67.6 ± 7.9 years. The groups were similar in relation to age ($p=0.180$) and sex ($p=0.280$). The inferior conjunctiva sac was swabbed, and the material immediately put in a tube with liquid culture media BHI (*brain heart infusion*). Samples were processed according to standard laboratory techniques and antibiogram was determined for each bacterial colony. **Results:** There was growth of 17 bacterial colonies in group I, with one eye showing no growth and 30 colonies in group II. There were more Gram positive bacteria in both groups: 14/17 colonies (82.3%) in group I and 29/30 colonies (96.7%) in group II, with *Staphylococcus aureus* predominance in both groups, with eight samples (47.1%) and 17 (56.7%), respectively. Coagulase negative *Staphylococcus* was the second most frequent identified bacteria, with 23.5% in group I and 20.0% in group II. None of the differences between the groups reached statistical significance. It was not observed statistically significant difference on bacterial antibiotic sensibility between the two groups, however there was a tendency to more resistance to oxacilin in the bacteria profile of ARMD patients ($p=0.081$). **Conclusion:** There was no difference in the distribution of bacteria and antibiotic sensibility of the conjunctival microbiota in exsudative ARMD patients, as compared to cataract patients.

Keywords: Flora; Conjunctiva; Macular degeneration; Cataract.

INTRODUÇÃO

1. Apresentação do problema

A endoftalmite infecciosa pós-operatória, embora rara, é uma das mais graves complicações da cirurgia intraocular, com pobre prognóstico visual. Apresenta incidência variável de 0,07 a 0,265% em cirurgias de catarata^{0,2}.

Acredita-se que, na maior parte dos casos, a fonte do agente infeccioso sejam bactérias da própria microbiota conjuntival (MC) dos pacientes operados³⁻⁶. Este fato é bem comprovado em relação à cirurgia de catarata (facectomia) e sugere-se que uma vez se reduzindo ou eliminando as colônias bacterianas na superfície ocular, poderia haver uma diminuição da incidência de endoftalmite pós-operatória. Várias medidas são propostas neste sentido, dentre elas o uso de iodopovidona (PVPI) no pré-operatório, uso de antibióticos tópicos peri-operatório e isolamento dos cílios^{7,8}.

Injeções intravítreas de agentes terapêuticos têm se tornado terapia padrão para uma série de doenças envolvendo a retina^{9,10}. Dentre estas, destaca-se a degeneração macular relacionada à idade (DMRI), uma das principais causas de cegueira legal em pacientes acima de 60 anos no mundo ocidental¹¹. Na sua forma exsudativa ou neovascular, onde há crescimento de vasos sanguíneos no espaço sub-retiniano denominado membrana neovascular sub-retiniana (MNVSR), drogas

como ranibizumab e bevacizumab têm revolucionado o tratamento nos últimos anos, aumentando exponencialmente o número de injeções intravítreas^{12,13}.

Com o aumento das injeções intravítreas para DMRI, cresce também a preocupação com as complicações associadas. Existe um risco inerente ao procedimento de endoftalmite infecciosa^{9,10}. Endoftalmite pós-injeção intravítrea tem um incidência variável na literatura. Se for considerado o risco por procedimento, a incidência é aparentemente semelhante aos índices pós-facectomia, em torno de 0,02 a 0,05%¹⁴⁻¹⁶. Entretanto, se for considerado o risco por olho ao longo do tempo, a incidência pode chegar a níveis mais elevados de 1,0 e até 2,0% em algumas casuísticas. Este fato pode ser explicado em parte porque no tratamento com ranibizumab, por exemplo, são indicadas injeções intravítreas mensais e, em alguns casos, chegando a repetição do procedimento por até 24 meses consecutivos^{12,17}.

A profilaxia de endoftalmite pós-injeção intravítrea é baseada nos estudos direcionados para cirurgia de catarata. Existem poucos estudos na literatura abordando profilaxia de endoftalmite em injeção intravítrea^{9,18-20}. Especula-se que bactérias da MC poderiam ganhar acesso direto ao vítreo no momento da injeção, carregada pela ponta da agulha, causando endoftalmite¹⁴.

1.2 Justificativa

É reconhecida a importância da MC na fisiopatologia da endoftalmite infecciosa³⁻⁶. Saber que bactérias são as mais prevalentes e o perfil de resposta das mesmas aos diferentes antibióticos é de importância tanto na profilaxia quanto no tratamento da endoftalmite em qualquer procedimento cirúrgico intraocular²¹.

Outrossim, sabe-se que grande parte do conhecimento de endoftalmite provém de pesquisas relacionadas à cirurgia de catarata. A MC em portadores de catarata é bem estabelecida na literatura. Não há, porém, pesquisas abordando diretamente MC em portadores de DMRI exsudativa.

Some-se a isso o fato que a DMRI ainda não tem sua fisiopatologia totalmente esclarecida. Acredita-se atualmente numa modificação genética que leva à ativação anormal do sistema complemento que, em última análise, gera uma resposta inflamatória no tecido sub-retiniano. As drusas e lesões nas células do epitélio pigmentar da retina (EPR) seriam consequência desta inflamação local²².

Se a DMRI tem componente inflamatório na sua fisiopatologia, esta alteração poderia, em tese, estar presente em outros locais do organismo, levando, por exemplo, a modificações no microambiente da conjuntiva e consequente alteração da microbiota local.

O objetivo do presente estudo foi então de investigar a possível influência da DMRI exsudativa na distribuição das bactérias da MC e sua resposta aos antibióticos, comparando com a microbiota de portadores de catarata.

1.3 Objetivos

1.3.1 Geral

Avaliar a microbiota bacteriana da conjuntiva em portadores de degeneração macular relacionada à idade (DMRI) exsudativa, comparando com a de portadores de catarata.

1.3.2 Específicos

- ❖ Descrever as freqüências das bactérias cultivadas do saco conjuntival em pacientes com DMRI exsudativa, comparando-as com as isoladas de pacientes com catarata;
- ❖ Determinar e comparar a sensibilidade aos antibióticos das culturas bacterianas positivas de ambos os grupos estudados.

LITERATURA

2.1 Microbiota conjuntival

2.1.1 Constituição

A presença de microorganismos na conjuntiva humana foi estabelecida já no século XIX. Acreditava-se na época que somente bactérias aeróbias compunham a microbiota normal²³. Em 1935, foi evidenciada a existência de microbiota aeróbia e também facultativa na conjuntiva normal²⁴. Só em 1975, ficou demonstrada a presença de bactérias anaeróbias estritas²⁵.

Staphylococcus coagulase negativa (StaCon), *Corynebacterium* sp. e *Staphylococcus aureus* são as espécies bacterianas mais encontradas na microbiota conjuntival normal²⁶. Existe certa variação nos estudos de frequência relativa, mas a maioria é concordante no que se refere à bactéria mais prevalente, o StaCon^{21,26-31}.

Os StaCon representam um grupo de bactérias onde são identificadas treze espécies, isoladas por diferentes métodos de identificação. *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus* são as mais comumente citadas do grupo pelo seu potencial patogênico. É questionável, porém, a validade clínica desses métodos para diferenciar as bactérias do grupo. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) parece ser clinicamente mais importante do que a identificação individual de cada espécie bacteriana³².

Bactérias consideradas patogênicas também são encontradas, mas em frequências reduzidas. Fazem parte deste grupo: *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus sp.*, *Haemophilus influenza*, *Haemophilus sp.*, diplococos Gram negativos, entre outras²⁶.

Com a melhoria dos métodos de isolamento e identificação de bactérias anaeróbias e fungos, tem-se observado cada vez mais estes microorganismos na MC normal^{33,34}. Das bactérias anaeróbias, o *Propionibacterium acnes* tem se mostrado o mais prevalente na maioria dos estudos, chegando a níveis de 86% do total de bactérias anaeróbias^{35,36} e de 33% numa casuística com bactérias aeróbias e anaeróbias²¹.

Quanto aos fungos, podem ser encontrados na MC normal em taxas que variam de zero até 28%³⁷. São considerados habitantes transitórios da microbiota, dependendo de fatores ambientais para serem encontrados, como exposição ao campo e estações do ano. Usualmente, o fungo não permanece no saco conjuntival, muito menos cresce em condições normais. Mas sua presença, mesmo que transitória, tem importância. Caso haja desequilíbrio no sistema imunológico, como em doenças crônicas, uso de corticoterapia e antibioticoterapia tópica, pode passar a causar doenças^{34,37-39}.

A fonte de bactérias do saco conjuntival parece ser a pele das pálpebras. Este conceito vem do fato que há grande similaridade na microbiota da pele desta região, quando comparada a MC. Isto se reflete na grande frequência de anaeróbios presentes na conjuntiva ocular, semelhante ao que acontece na pele. E quando a conjuntiva é comparada com outras membranas mucosas do corpo humano, como a nasofaringe, cavidade oral, trato gastro-intestinal e orifícios genito-urinários, há nítidas diferenças nos organismos cultivados. Os *Propionibacterium sp.*, por

exemplo, freqüentemente encontrados na MC, dão lugar aos bacteróides e as bifidobactérias³⁵.

É importante ressaltar que a variedade de microorganismos da MC encontra-se em equilíbrio fisiológico entre seu mecanismo patogênico (competição nutritiva, inibição metabólica e produção enzimática) e o sistema imunológico de seu hospedeiro. Conseqüentemente, a conjuntiva abriga uma rica microbiota comensal. A presença desta, junto com a ação física das pálpebras e o efeito imunológico da lágrima, impede a colonização de bactérias patogênicas. No entanto, infecções de estruturas externas dos olhos não são raras, seja por resultado de microorganismos agressores ou por crescimento descontrolado de bactérias devido à quebra do equilíbrio imunológico do hospedeiro. Doenças como conjuntivite e úlcera de córnea podem surgir a partir daí⁴⁰.

Microbiota conjuntival tem sido relacionada também como principal fonte de bactérias para infecções intraoculares pós-operatória e pós-traumática^{3-6,30}. Nas endoftalmites pós-facectomia, bactérias cultivadas a partir do vítreo foram geneticamente iguais às bactérias da microbiota da conjuntiva, pálpebra e mucosa nasal em 82% dos casos³.

2.1.2 Fatores que interferem no perfil da microbiota conjuntival

Vários fatores podem interferir no perfil da MC:

- ❖ Idade⁴¹;
- ❖ Doenças que afetam a imunidade, como *diabetes mellitus*^{42,43}, hanseníase³⁹, síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)³⁶ e uso de drogas imunossupressoras⁴⁴;

- ❖ Condições oculares, como uso de lentes de contato⁴⁵, alergia⁴⁶, usuários de hipotensor ocular para glaucoma²¹, infecção ativa, uso indiscriminado de antibióticos e/ou corticóides^{34,37};
- ❖ Fatores ambientais, como exposição ao meio rural com consequente maior frequência de fungos, distribuição sazonal^{31,37,47,48}, pacientes internados em UTI⁴⁹;
- ❖ Outras doenças por mecanismos variados, como dermatite atópica⁵⁰ e doença de *Behçet*⁵¹.

2.1.3 Métodos de isolamento bacteriano

Vários métodos são descritos para recuperação e identificação da MC. Há diferenças desde o instrumento de coleta da secreção conjuntival, transporte da amostra até o meio de cultura utilizado. A escolha do método parece interferir nas frequências encontradas dos tipos bacterianos e também na quantidade de amostras estéreis em paciente com conjuntiva normal^{26,52}.

Alguns instrumentos podem ser utilizados para coletar a amostra: alça de platina, *swab* alginatado, *swab* seco e *swab* umedecido com soro fisiológico⁵². É importante observar a necessidade de se realizar a coleta sem aplicação de colírio anestésico, já que o mesmo pode alterar a microbiota, por seu poder antibacteriano⁵³.

A amostra pode ser semeada num meio de cultura ou ser colocada num meio de transporte para posterior semeadura. O meio de transporte é útil nos casos onde o processamento da amostra é feito em laboratórios distantes do local da coleta, fato este que ocorre com certa frequência⁵⁴.

O meio de transporte mais utilizado é o de *Stuart*. Trata-se de um meio semi-sólido, altamente redutor, isento de nutrientes, que inibe reações enzimáticas autodestrutivas, especialmente a oxidação que pode provocar a morte bacteriana. Dependendo da espécie bacteriana, os microorganismos podem manter viabilidade por mais de 72 horas a uma temperatura ambiente de 15 a 30°C⁵⁴.

Diferentes meios de cultura podem ser utilizados para o isolamento dos elementos da MC e o uso de vários meios de cultura ao mesmo tempo pode aumentar a chance de recuperação bacteriana^{55,56}. Os principais meios são sólidos, como ágar sangue hemácias de carneiro, ágar chocolate e ágar *Sabouraud* ou meios líquidos, como BHI (*brain heart infusion*) e caldo de tioglicolato. Na tabela abaixo, há a composição e também as bactérias mais frequentemente recuperadas para cada meio⁵⁶⁻⁵⁶.

Quadro 1: Meios de cultura utilizados para isolamento de microorganismos da microbiota conjuntival e suas características.

Meio	Composição	Uso principal
Ágar sangue	Nutrientes de coração, peptona A, sangue de carneiro e cloreto de sódio	Muitas bactérias aeróbias, não-fastidiosas, verificação de hemólise de <i>Streptococcus</i> e <i>Staphylococcus</i> , identificação presuntiva de <i>Haemophilus spp.</i>
Ágar chocolate	Peptona A e C, amido de milho, fosfato de sódio, hidrogenofosfato de potássio e cloreto de sódio	Microorganismos fastidiosos como <i>Haemophilus spp.</i> , <i>Neisseria spp.</i> , <i>Moraxella spp.</i>
Ágar Sabouraud	Ágar peptona, glicose e cloreto de sódio	Fungos
Brain Heart Infusion (BHI)	Nutrientes de cérebro e coração, peptona, dextrose, fosfato de sódio e cloreto de sódio	<i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Meningococcus</i> , fungos como <i>Histoplasma capsulatum</i> e <i>Blastomyces dermatidis</i>
Caldo de tioglicolato	Peptona C, peptona S, glicose, cloreto de sódio, tioglicolato de sódio, cisteína, sulfato de sódio, ágar, carbonato de sódio, hemina e vitamina K ₁	Microorganismos aeróbios, microaerófilos e anaeróbios

2.2 Degeneração macular relacionada à idade

2.2.1 Conceito

Degeneração macular relacionada à idade (DMRI) é uma doença caracterizada por alterações degenerativas na parte central da retina, chamada mácula. Anteriormente chamada de degeneração macular senil, recebe este nome por afetar tipicamente pacientes na faixa etária acima dos 55 anos de idade⁵⁹. Caracteriza-se por perda em graus variados da acuidade visual central, sendo a principal causa de cegueira em pacientes idosos nos Estados Unidos da América (EUA)¹¹. No Brasil, também é listada como uma das principais causas de cegueira irreversível⁶⁰.

É mais frequente em indivíduos da etnia caucasiana. Existe uma relação direta do risco de doença com o aumento da idade. No estudo Framminghan, 6,4% dos pacientes com 65 a 74 anos e 19,7% dos pacientes com mais de 75 anos apresentavam sinais de DMRI⁶¹.

É considerada uma doença de causa multifatorial, não existindo um único elemento causador direto da doença. Vários fatores são implicados na sua fisiopatologia e considerados fatores de risco: histórico familiar positivo, tabagismo, cor de íris clara, catarata e cirurgia de catarata, hipertensão arterial sistêmica, hipercolesterolemia, sexo feminino e doença cardiovascular^{59,62}.

2.2.2 Classificação

É classificada em duas formas distintas: forma não-neovascular ou atrófica e a forma neovascular ou exsudativa⁵⁹.

A forma atrófica, também conhecida como DMRI seca, se caracteriza essencialmente pela presença de drusas, que são lesões redondas, amareladas localizadas ao nível do epitélio pigmentar da retina (EPR). Há também outras anormalidades do EPR, como atrofia geográfica e áreas de hiperpigmentação. Representa cerca de 90% dos casos de DMRI e é associada com perda visual menos grave que a forma neovascular, usualmente mais lenta, levando anos para seu desenvolvimento^{59,63}.

Já na forma neovascular, também chamada de DMRI úmida, existe um crescimento de vasos sanguíneos no espaço sub-retiniano, denominado membrana neovascular sub-retiniana (MNVSR). A MNVSR estende-se anteriormente através de um defeito na membrana de *Bruch* para o espaço abaixo do EPR e/ou da retina neurosensorial, levando ao acúmulo de líquidos no espaço sub-retiniano, sangue ou lipídios. Esses efeitos secundários da MNVSR, adicionados a presença de tecido cicatricial ou fibroso, são o que levam a perda da visão central. Ao contrário da forma seca, a DMRI exsudativa leva a perda visual mais rápida, ocorrendo em dias ou semanas e mesmo pouco frequente, é responsável pela maioria dos casos de cegueira legal por DMRI^{59,64}.

2.2.3 Tratamento

Não existe um tratamento efetivo para a forma seca da DMRI já estabelecida. Atenção é focada para a prevenção da doença. Exames periódicos e ensino aos pacientes sobre os sinais precoces da doença são recomendados. Suplementação dietética com antioxidantes como vitamina A, vitamina E, zinco e luteína também têm sido propostos. Em um estudo populacional, houve menos

progressão da DMRI em pacientes que fizeram uso de suplementação dietética em casos selecionados^{63,63}.

Para a forma neovascular, é necessário inicialmente o reconhecimento do tipo de MNVSR e também sua localização. Com o auxílio da angiografia fluorescente, as MNVSR podem ser clássicas, onde se define claramente toda área da lesão já nas fases iniciais do exame e ocultas, onde a MNVSR fica obscurecida por descolamento fibrovascular do EPR ou vazamento de fluorescência de fonte indeterminada. Sobre a localização, é fundamental definir se a MNVSR atinge o centro da mácula, isto é, é subfoveal ou se não ameaça a fóvea, dita extrafoveal⁵⁹.

Para os casos de localização extrafoveal, MNVSR clássicas ou clássicas com componente oculto, porém de limites definidos, o tratamento de eleição permanece a fotocoagulação por laser térmico. Já para os casos subfoveais ou justafoveais onde não há segurança nos limites da lesão, terapia fotodinâmica com verterporfirina (PDT) ou terapia com antiangiogênicos são indicados^{59,66}.

O PDT é realizado através da administração da verterporfirina endovenosa e ativação da mesma por irradiação de laser de diodo de 689 nanômetros (nm), atingindo seletivamente a MNVSR. É indicado para MNVSR predominantemente clássica, mas é pouco utilizado atualmente pelo seu custo elevado e menor eficácia de tratamento em relação à terapia com antiangiogênicos⁵⁹.

Recentemente, foram introduzidos na prática oftalmológica drogas que atuam bloqueando a ação do fator de crescimento endotelial vascular (Vascular Endotelial Growth Factor – VEGF). O VEGF é considerado fundamental na angiogênese ocular e tem papel direto na formação e crescimento das MNVSR. Pegaptanib sódico e ranibizumab são exemplos destas medicações e ambos são administrados por injeções intravítreas periódicas^{67,68}.

O pegaptanib sódico (Macugen®, Pfizer) foi o primeiro a ser lançado no mercado, tendo sua liberação para uso em janeiro de 2005 nos EUA. Age especificamente sobre a isoforma 165 do VEGF, em tese o isômero mais associado com MNVSR em humanos. Apresenta eficácia semelhante ao PDT, com a vantagem adicional de não ter restrições quanto ao subtipo de MNVSR. São indicadas injeções intravítreas a cada seis semanas por um período de 12 meses⁶⁷.

O ranibizumab (Lucentis®, Novartis Ophthalmics) é um fragmento de anticorpo que se liga e inibe todas isoformas do VEGF. Tem se tornado um tratamento comum para DMRI, inclusive mudando o paradigma da DMRI exsudativa, já que além de estabilizar a doença, os pacientes passaram a ter melhora visual com o tratamento. No estudo original de aprovação da medicação, 34% dos pacientes obtiveram ganho de acuidade visual significativa mantido após dois anos de tratamento com injeções intravítreas mensais⁶⁸.

Já o bevacizumab (Avastin®, Genentech) é um anticorpo monoclonal que inibe todas as isoformas do VEGF humano. Inicialmente aprovado para o tratamento de câncer metastático colo-retal, passou a ser utilizado por via intravítrea para tratamento da DMRI exsudativa com resultados promissores⁶⁹. Ganhou popularidade no meio médico, mesmo sem aprovação oficial dos órgãos regulamentadores. Isto se deve em parte a eficácia semelhante quando comparado ao ranibizumab, e também a enorme diferença de custos: o bevacizumab tem um custo por dose cerca de 20 vezes menor que o ranibizumab⁶⁸.

2.2.4 Injeção intravítrea de antiangiogênico e endoftalmite infecciosa

A injeção intravítrea, por si só, carrega um risco potencial de endoftalmite infecciosa. Acredita-se que bactérias da microbiota conjuntival do paciente poderiam ganhar acesso direto ao vítreo no momento da injeção, carregadas pela ponta da agulha, causando endoftalmite. E como a inoculação é direta no vítreo, a quantidade de bactérias necessárias para provocar endoftalmite seria bem menor se comparada com a cirurgia de catarata^{9,14}.

Endoftalmite associada à injeção de pegaptanib sódico ocorreu numa frequência de 1,3% por paciente e de 0,16% por injeção⁶⁷. Quanto ao ranibizumab, foram encontradas frequências de 1,6% por paciente e de 0,25% por injeção⁶⁸.

Em um estudo com quase 20.000 injeções de antiangiogênicos no período de três anos, ocorreu endoftalmite confirmada por cultura positiva em dois casos (0,010%). Bactérias Gram positivas foram identificadas: *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus sanguinis*⁷⁰. Outras séries não chegaram a isolar bactérias nas culturas, sendo consideradas endoftalmite suspeitas, sem confirmação bacteriológica^{14,15}. O número reduzido de casos de endoftalmite e também estudos que incluem casos suspeitos não permitem maiores conclusões sobre as características microbiológicas das endoftalmite associadas a injeções de antiangiogênicos⁷⁰.

2.3 Catarata

2.3.1 Conceito e classificação

O cristalino do globo ocular é uma lente biconvexa, de aproximadamente 20 dioptrias, transparente, elástica e avascular, que está localizada entre a face

posterior da íris e a face anterior do corpo vítreo. Ele permite que o olho focalize na retina as imagens de objetos em diferentes distâncias, desde os mais próximos até os localizados no infinito (além de seis metros), alterando sua conformação, a partir da contração e do relaxamento do músculo ciliar, durante o processo de acomodação⁷¹.

Qualquer opacificação do cristalino recebe o nome de catarata. Esta, dependendo da intensidade e localização, pode levar a graus variados de baixa visual. É classificada em diversos tipos, dependendo das causas que a provocaram. Pode ser congênita ou adquirida. Dentre as adquiridas, a mais comum é a catarata senil, tipicamente associada ao envelhecimento. Outras adquiridas menos frequentes são: catarata do diabético, secundária à hipocalcemia, ao uso de corticóides, associada à galactosemia e a dermatoses, pós-trauma⁷².

Catarata senil é atualmente a principal causa de cegueira no mundo, apesar de ser uma causa reversível com cirurgia. Nos países mais desenvolvidos, onde há acesso mais fácil à assistência médica, a catarata senil deixa de ser a principal causa de cegueira¹¹.

Apesar de se reconhecer que a idade é o fator preponderante na formação da catarata senil, sua patogenia ainda não está completamente esclarecida. Acredita-se que seja um processo multifatorial. O efeito da participação da idade na gênese da catarata senil terá maior ou menor destaque, na dependência de outros fatores cumulativos eventualmente consorciados, conhecidos ou não. Discute-se se tem efeito cataratogênico a exposição à luz ultravioleta na faixa de 295 a 400 nm ou às radiações ionizantes⁷³.

2.3.2 Cirurgia de catarata

A cirurgia de catarata, também chamada de facectomia, envolve a retirada do cristalino opacificado e implante de uma lente intraocular, para restaurar o poder dióptrico do olho. Existem duas técnicas cirúrgicas que podem ser utilizadas: a extracapsular e a facoemulsificação^{4,74}.

Na extracapsular, o cristalino é retirado quase por inteiro, havendo necessidade de uma incisão média de oito a 10 milímetros (mm). Já na facoemulsificação, técnica de eleição para a maioria dos casos, é utilizado um aparelho que quebra a catarata em pedaços menores com energia de ultrassom e aspira estes pedaços. A cirurgia é feita com pequenas incisões, menores que três mm, auto-selantes, que não necessitam suturas. Há menores índices de complicações, recuperação imediata do paciente e possibilidade de anestesia tópica⁷⁴.

2.3.3 Endoftalmite pós-facectomia e microbiota

Na maioria dos casos de endoftalmite pós-facectomia, bactérias da superfície ocular e anexos do paciente são responsáveis pela infecção³⁻⁵. Estas podem ganhar acesso à câmara anterior durante a cirurgia por via direta pela incisão ou via indireta aderidas à lente intraocular^{4,75,76}.

A técnica cirúrgica da facectomia não parece influenciar a taxa de contaminação bacteriana da câmara anterior ao final da cirurgia^{77,78}. A facoemulsificação, apesar de ser realizada com menor incisão e constante infusão de líquido com pressão positiva, não mostra menores taxas de contaminação quando comparada à extracapsular. O tempo cirúrgico prolongado, porém, que em

geral está mais associado à técnica extracapsular, é que pode determinar aumento das taxas de contaminação⁷⁷.

Causas exógenas de endoftalmite, como instrumentos cirúrgicos, soluções de irrigação, contaminantes do sistema de ventilação de ar condicionado e viscoelástico têm sido consideradas raras no EUA. Estas tendem a causar infecção em série, de caráter epidêmico, isto é, vários casos num mesmo dia, local e sessão cirúrgica⁷⁵.

Nas endoftalmites agudas, de ocorrência até seis semanas pós-cirurgia, a grande maioria das bactérias identificadas são Gram positivas, em torno de 94%. Destas, *Staphylococcus coagulase negativa* (StaCon) são encontradas em 70% dos casos e o *Staphylococcus epidermidis* é o organismo mais frequentemente isolado, assim como ocorre na MC normal^{79,80}. Os StaCon têm capacidade de aderir e proliferar em superfícies poliméricas, encontradas por exemplo, nas lentes intraoculares implantadas na cirurgia de catarata. Uma vez aderido, secretam uma matriz viscosa extracelular (*biofilm*) que os protege da ação de antibióticos e da resposta imunológica do hospedeiro³⁰.

Outras bactérias Gram positivas também são isoladas: *S. aureus* em 9,9%; *Streptococcus sp.* em 9,0% e *Enterococcus sp.* em 2,2%. Já os Gram negativos são menos frequentes, encontrados em torno de 6,0% dos casos. Estes incluem: *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*, *Moraxella sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Xanthomas sp.* e *Morganella sp.* Infecções mistas, isto é, com mais de uma bactéria identificada, têm sido descritas em 10% dos casos^{79,80}.

Nas endoftalmites tardias, com mais de seis semanas pós-cirurgia, o *Propionibacterium acnes* é o microorganismo mais frequente⁸⁰. Típico constituinte da MC normal, origina uma inflamação crônica persistente e recorrente que responde

de forma positiva e transitória ao tratamento tópico com corticosteróide⁷⁵. Outros organismos associados à endoftalmite tardia, em geral de baixa virulência, são *Staphylococcus epidermidis*, *Actinomyces sp.*, cândidas e diferentes espécies de *Corynebacterium sp.*⁸¹.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Local de estudo

A pesquisa foi realizada na Fundação Altino Ventura (FAV), onde o atendimento aos pacientes é feito através do Sistema Único de Saúde (SUS). A cultura e antibiograma das amostras foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), órgão suplementar da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

3.2 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo prospectivo, observacional, analítico, com corte transversal em duas populações de portadores de DMRI e catarata.

3.3 População e seleção dos grupos

Foram constituídos dois grupos:

- ❖ Grupo I (DMRI exsudativa): 16 olhos / 16 pacientes com indicação de tratamento por injeção intravítrea de antiangiogênico para DMRI exsudativa. Foram oito pacientes do sexo feminino e oito do sexo masculino, com média de idade de 71,3 anos, desvio-padrão de 9,9;

- ❖ Grupo II (catarata): 27 olhos / 27 pacientes em pré-operatório de cirurgia de catarata. Foram 18 pacientes do sexo feminino e nove do masculino, com média de idade de 67,6 anos, desvio-padrão de 7,9.

Os dois grupos foram homogêneos em comparação à média de idade com $p=0,180$ e também em relação ao sexo, com $p= 0,280$, apesar de maior predomínio de mulheres no grupo II (66,7%).

3.4 Critérios para seleção dos grupos

3.4.1 Critérios de inclusão

- ❖ Grupo I
 - ✓ Idade superior a 50 anos e menor ou igual a 82 anos;
 - ✓ Presença de MNVSR subfoveal ativa secundária a DMRI, com diagnóstico confirmado por angiografia fluorescente e tomografia de coerência óptica (OCT), com algumas características que configuravam indicação de tratamento por injeção intravítrea de bevacizumab: MNVSR predominantemente clássicas (mais de 50% do total de área com MNVSR) ou MNVSR minimamente clássica (área menor que 50% de componente clássico) ou oculta sem componente clássico se houver sinais de progressão da doença recente, isto é, perda de uma linha de visão na tabela de Snellen, aumento igual ou maior que 10% de área ativa da MNVSR documentado por angiografia e aparecimento de novo sangramento sub-retiniano^{82,83};

- ✓ MNVSR de no máximo 12 discos de área;
- ✓ Presença de líquido sub-retiniano, maculopatia cística ou espessura da mácula central >250 micras no OCT.

❖ Grupo II

- ✓ Paciente portadores de catarata em pré-operatório para cirurgia de catarata, sem sinais de DMRI (drusas ou atrofia do EPR ou sinais de MNVSR).

3.4.2 Critérios de exclusão

Foram considerados critérios de exclusão para ambos os grupos:

- ❖ Uso de antibiótico tópico ou sistêmico nos últimos seis meses;
- ❖ Cirurgia ocular nos últimos seis meses;
- ❖ Sinais de infecção ocular ou sistêmica ativa;
- ❖ Uso de prótese no olho contralateral;
- ❖ Usuários de lentes de contato;
- ❖ Portadores de olho seco e/ou alergia ocular crônica que usem colírios de forma regular;
- ❖ Portadores de diabetes *mellitus*;
- ❖ Portadores de glaucoma usuários de colírio hipotensor.

❖ Grupo I

- ✓ Tratamento prévio para DMRI por terapia fotodinâmica associada à verterporfirina ou terapia com antiangiogênico (bevacizumab, ranibizumab ou pegaptanib).

❖ Grupo II

- ✓ Presença de catarata com opacificação que impedisse exame adequado de fundoscopia.

3.5 Procedimentos

3.5.1 Procedimentos técnicos

3.5.1.1 Exame oftalmológico

Todos pacientes foram submetidos a exame oftalmológico completo em data anterior ao procedimento cirúrgico:

- ❖ Aferição da acuidade visual foi realizada, após refração, com a melhor correção óptica para cada paciente. Utilizou-se a tabela de optótipo de *Snellen*, a seis metros de distância do paciente;
- ❖ Avaliação da biomicroscopia do segmento anterior do olho com lâmpada de fenda, modelo SL3E da marca *Topcon*®;
- ❖ Aferição da pressão intraocular com tonômetro de aplanção tipo *Goldmann*, acoplado à lâmpada de fenda, após instilação prévia de uma gota de colírio anestésico (*visonest*®) e uma gota de colírio de fluoresceína;
- ❖ Realização da biomicroscopia do segmento posterior com lente de 90 dioptrias (*Volk*®) e lâmpada de fenda, para avaliação do polo posterior, com detalhes da mácula e nervo óptico;

- ❖ Realização da oftalmoscopia binocular indireta, através de oftalmoscópio de marca *Keeler*®, e lente de 20 dioptrias (*Volk*®), para avaliação da periferia da retina após midríase medicamentosa.

Todos pacientes do grupo I foram submetidos também a retinografia e angiografia fluorescente (Retinógrafo TRC-50 IA, *software Imagenet for Windows*, versão 1.53, *Topcon*®) e OCT (*Stratus OCT*TM, versão do *software* 4.1, *Carl Zeiss Meditec, Inc*), para confirmação do tipo de MNVSR e indicação de tratamento.

3.5.1.2 Coleta das amostras e análise laboratorial

A coleta do material foi realizada no período de novembro de 2008 a fevereiro de 2009, no dia marcado da cirurgia, pré-operatório imediato, na sala de espera anexa ao bloco cirúrgico, antes da administração de qualquer colírio ou manuseio ocular. Utilizou-se um *swab* (haste com algodão estéril) para se coletar o conteúdo do fundo de saco conjuntival inferior. Foi solicitado ao paciente que olhasse para cima, com o primeiro e segundo dedos de uma das mãos seguravam-se as pálpebras, evertendo a inferior. Com a outra mão, aplicava-se a extremidade do *swab* com movimento de rotação e deslizamento sobre a superfície da conjuntiva palpebral e fundo de saco conjuntival inferiores no sentido medial para lateral e lateral para medial, sem tocar nas margens palpebrais e cílios.

Os *swabs* foram colocados imediatamente em um tubo de ensaio contendo dois mililitros de meio de cultura líquido BHI (*Brain Heart Infusion*) e enviados para o laboratório no máximo duas horas após coleta. Todo o material microbiológico ficou

imerso no meio de cultura e o tubo permaneceu hermeticamente fechado até análise laboratorial.

No laboratório (LIKA), o material foi incubado em estufa bacteriológica a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por até cinco dias. Os tubos eram observados a cada 24 horas para verificar o crescimento de bactérias pela turvação do meio. O material dos tubos que apresentaram turvação foi semeado em meio Ágar Sangue (BBL™ *Blood agar base-infusion agar*) hemácias de carneiro à 5% e Ágar Levine (BBL™ *Levine eosin methylene blue agar*) para isolamento e identificação das bactérias. Caso não houvesse crescimento bacteriano no período de cinco dias, as culturas eram consideradas negativas.

As bactérias foram identificadas primariamente quanto ao tipo, pela coloração de Gram. Para os cocos Gram positivos, foi utilizado o teste da catalase para diferenciar os estafilococos (catalase positiva) de estreptococos (catalase negativa). As espécies de estafilococos foram identificadas através de uma prova de aglutinação em látex (Staphclin®, da Laborclin), quando positiva indicava crescimento de *S. aureus* e quando negativa era realizado o teste de sensibilidade a novobiocina. Este quando sensível indicava crescimento de *Staphylococcus epidermidis* e quando resistente, crescimento de *Staphylococcus saprophyticus*.

Os *Streptococcus* foram primeiramente diferenciados pela hemólise visualizada no meio Ágar Sangue. Como todos *Streptococcus* isolados foram alfa-hemólise, os testes utilizados foram crescimento em meio bile esculina® (Laborclin), crescimento em meio NaCl a 6,5% (Laborclin) em BHI e teste de sensibilidade a optoquina (Sensibiodisc-ID®, Cecon). A partir destes testes, puderam ser identificados *Enterococcus sp*, *Streptococcus do grupo D*, *Streptococcus do grupo viridans* ou *Streptococcus pneumoniae*.

Para a identificação de Bacilos Gram positivos esporulados, foi levado em conta o crescimento em aerobiose e a presença de esporos visualizados pela coloração de Gram.

As bactérias Gram negativas foram identificadas através da coloração de Gram e pelo crescimento no meio Ágar Levine, meio seletivo para Gram negativo. Foram realizados testes bioquímicos para identificação específica da bactéria (Kit para enterobactérias[®], Laborclin).

Para as culturas positivas, foi realizado antibiograma no meio *Mueller Hinton* (Difco[™] *Mueller Hinton agar*). Fazia-se uma suspensão bacteriana em salina levando a uma turbidez comparada com a escala 0,5 de *Mac Farland* ($1,5 \times 10^8$ UFC). O *swab* era embebido nesta solução e então rolado em toda a superfície do meio Mueller Hinton para o semeio bacteriano.

Os antibióticos testados no antibiograma foram: tobramicina (10 µg), gentamicina (10 µg), cefalotina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), vancomicina (30 µg), neomicina (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), moxifloxacina (5 µg), oxacilina (1 µg), ofloxacina (5 µg) e cefotaxima (30 µg). O teste de sensibilidade foi realizado através da técnica de difusão em disco⁸⁴, onde discos de antibióticos eram colocados na superfície do meio e sua sensibilidade medida pelo tamanho dos halos em volta do disco, conforme normas do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*)⁸⁵.

3.5.2 Procedimentos analíticos

Os resultados foram expressos em variáveis qualitativas, segundo suas frequências absolutas e relativas. As variáveis quantitativas foram representadas pelas médias e desvios padrão.

Para as variáveis qualitativas, foi utilizado o teste Qui-quadrado de *Pearson* ou o teste Exato de *Fisher* quando as condições para utilização do teste *Qui-quadrado* não foram verificadas. Para as variáveis quantitativas, foi utilizado o teste t de *Student* para amostras independentes com variâncias iguais, a fim de se verificar as diferenças entre as médias. A verificação da hipótese de igualdade de variâncias foi realizada através do teste F de *Levene*.

Os dados foram digitados numa planilha do Excel (*Microsoft Word 2007*) e utilizou-se o programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), versão 13. Como limite de confiabilidade, foi aceito $p < 0,05$ para rejeição da hipótese de nulidade.

3.5.3 Procedimentos éticos

Este projeto foi aprovado no comitê de Ética da Fundação Altino Ventura, com carta de aprovação número 006/08, em 12 de setembro de 2008 (anexo I). Todos pacientes que participaram do estudo assinaram consentimento livre e esclarecido (apêndice A), após explicação e entendimento. Não houve prejuízo aos mesmos, já que a coleta de secreção do saco conjuntival não representou risco aos olhos dos pacientes.

RESULTADOS

4.1 Cultura de secreção conjuntival

Houve positividade da cultura de secreção conjuntival em 15 das 16 amostras (93,7%) do grupo I (DMRI) e em todas as 27 amostras (100,0%) do grupo II (catarata). No grupo I, houve crescimento de uma espécie bacteriana por amostra em 15 olhos (93,7%), sendo que em um desses casos foram identificadas cepas diferentes de *S. aureus*, inclusive com antibiogramas diferentes. Em outro olho (6,2%), houve crescimento de duas espécies bacterianas. Já no grupo II, foram identificadas duas bactérias por olho em três casos (11,1%), enquanto nos demais olhos uma bactéria por olho (88,9%).

Houve maior frequência de bactérias Gram positivas nos dois grupos: 14 colônias dentre 17 (82,3%) no grupo I e 29 dentre 30 colônias (96,7%) no grupo II. Não houve diferença entre as frequências dos dois grupos. $p = 0,128$ (Gráfico 1).



Figura 1. Distribuição das bactérias cultivadas dos sacos conjuntivais dos olhos do grupo I (DMRI) e do grupo II (catarata) segundo coloração de GRAM.

Staphylococcus aureus e *StaCon* foram as bactérias mais frequentemente isoladas nas culturas de ambos os grupos. No grupo I, foram isoladas oito colônias (47,1%) de *S. aureus* e quatro (23,5%) de *StaCon*. No grupo II, foram 17 colônias de *S. aureus* e seis (20,0%) de *StaCon*. Não houve diferença estatisticamente significativa nas frequências destas duas bactérias entre os dois grupos, com $p=0,526$ e $1,000$, respectivamente. Outras bactérias foram isoladas com menores frequências, como bactérias Gram negativas: *Morganella morganii*, *Citrobacter sp.* e *Klebsiela pneumoniae* em um olho cada (5,9%) no grupo I e *Morganella morganii* em um caso (3,3%), no grupo II (Tabela 1).

Tabela 1: Espécies bacterianas isoladas do saco conjuntival de 16 olhos do grupo I (DMRI) e 27 olhos do grupo II (catarata).

Bactérias isoladas	Grupos				p
	I (16 olhos)		II (27 olhos)		
	n	%	n	%	
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	47,1	17	56,7	0,526 ⁽¹⁾
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	4	23,5	6	20,0	1,000 ⁽²⁾
<i>Morganella morganii</i>	1	5,9	1	3,3	
<i>Citrobacter sp.</i>	1	5,9	0	0,0	
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	1	5,9	0	0,0	
<i>Streptococcus grupo D</i>	1	5,9	1	3,3	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	5,9	1	3,3	
<i>Streptococcus viridans</i>	0	0,0	1	3,3	
<i>Bacillus sp.</i>	0	0,0	3	10,0	
Total	17	100,0	30	100,0	

Legenda: n= número de colônias bacterianas isoladas; %= frequência relativa em percentual.

(1): Através do teste do Qui-quadrado de Pearson

(2): Através do teste exato de Fisher

4.2 Antibiograma

Dos vários antibióticos testados, moxifloxacino e ofloxacino foram os únicos em que as bactérias de ambos os grupos apresentaram 100% de sensibilidade. Quando comparadas as sensibilidades das bactérias entre os dois grupos, não houve diferença estatisticamente significativa para qualquer antibiótico. Houve menor sensibilidade das bactérias do grupo I à oxacilina (70,6%) quando comparada às bactérias do grupo II (93,3%), porém, esta diferença não se mostrou significativa ($p=0,081$) (Tabela 2).

Tabela 2. Padrão de sensibilidade das colônias bacterianas isoladas do saco conjuntival dos pacientes do grupo I (DMRI) e grupo II (catarata) segundo antibióticos testados.

Antimicrobianos	Grupos				$p^{(1)}$
	I (n=17)		II (n=30)		
	n	%	n	%	
Tobramicina	15	88,2	27	90,0	1,000
Gentamicina	15	88,2	28	93,3	0,613
Cefalotina	15	88,2	29	96,7	0,544
Cloranfenicol	17	100,0	27	90,0	0,292
Vancomicina	16	94,1	29	96,7	1,000
Neomicina	15	88,2	27	90,0	1,000
Ciprofloxacino	17	100,0	29	96,7	1,000
Moxifloxacino	17	100,0	30	100,0	*
Oxacilina	12	70,6	28	93,3	0,081
Ofloxacino	17	100,0	30	100,0	*
Cefotaxima	16	94,1	30	100,0	0,362

Legenda: I= grupo I; II= grupo II; n= número de colônias bacterianas testadas; S= número de colônias sensíveis; %= frequência relativa em percentual.

(*): Não foi possível determinar devido à ausência de uma das categorias.

(1): Através do teste Exato de Fisher.

Quando se avaliou sensibilidade aos antibióticos das colônias de *S. aureus* em cada grupo de estudo, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Todas as bactérias em ambos os grupos foram sensíveis aos antibióticos cefalotina, vancomicina, moxifloxacino e ofloxacino (Tabela 3).

Tabela 3: Padrão de sensibilidade das 25 colônias de *Staphylococcus aureus* isoladas do saco conjuntival de ambos os grupos estudados.

Antimicrobianos	<i>Staphylococcus aureus</i> (n= 25)				p ⁽¹⁾
	Grupo I (n=8)		Grupo II (n=17)		
	n	%	n	%	
Tobramicina	7	87,5	15	88,2	1,000
Gentamicina	7	87,5	16	94,1	1,000
Cefalotina	8	100,0	17	100,0	*
Cloranfenicol	8	100,0	15	88,2	1,000
Vancomicina	8	100,0	17	100,0	*
Neomicina	7	87,5	16	94,1	1,000
Ciprofloxacino	8	100,0	16	94,1	1,000
Moxifloxacino	8	100,0	17	100,0	*
Oxacilina	7	87,5	16	94,1	1,000
Ofloxacino	8	100,0	17	100,0	*
Cefotaxima	7	87,5	17	100,0	0,320

Legenda: n= número de colônias bacterianas testadas; %= frequência relativa em percentual

(*): Não foi possível determinar devido à ausência de uma das categorias.

(1): Através do teste Exato de Fisher.

DISCUSSÃO

5.1 Justificativa de se testar hipótese

É reconhecida a importância das bactérias da MC na etiologia da endoftalmite. Isto é bem comprovado nos casos de endoftalmite pós-cirurgia de catarata, onde bactérias isoladas a partir de amostras vítreas são geneticamente iguais às bactérias da MC dos pacientes doentes³⁻⁵.

Nas injeções intravítreas para DMRI, entretanto, esta relação direta ainda não foi comprovada de forma evidente. Acredita-se que um possível mecanismo seja a contaminação da ponta da agulha no momento que se penetra o globo ocular, carreando bactérias para o vítreo a partir da MC⁶.

Há escassez de dados na literatura sobre MC em portadores de DMRI exsudativa com indicação de injeção intravítrea de antiangiogênico. As recomendações de profilaxia antibiótica são baseadas na sua maioria nos estudos direcionados para cirurgia de catarata^{7,8,27-29}. Supõe-se que a microbiota dos portadores de DMRI se apresente de forma semelhante à dos portadores de catarata, fato que, apesar de não comprovado na prática, poderia justificar a extrapolação dos resultados.

Entretanto, sabe-se que a DMRI é uma doença de fisiopatologia ainda não totalmente esclarecida. Acredita-se, atualmente, que a inflamação local na retina desempenhe papel fundamental no desenvolvimento das lesões típicas da doença, como drusas e MNVSR²². Além disso, doenças sistêmicas como hipertensão arterial

sistêmica, hipercolesterolemia e doença cardiovascular também são implicados na fisiopatologia da DMRI^{59,62}.

Especulou-se que, por seu caráter inflamatório e possível componente sistêmico da doença, poderia levar a alterações na microbiota local da conjuntiva. Assim ocorrem com outras doenças sistêmicas com componente vascular e inflamatório, como diabetes^{42,43} e doença de *Behçet*⁵¹. A DMRI poderia ser então mais um fator modificador da constituição da MC, com consequências diretas sobre profilaxia antibiótica na injeção intravítrea.

5.2 Desenho do estudo

Realizou-se estudo observacional em duas amostras de conveniência em indivíduos portadores de DMRI e catarata. Este tipo de estudo, ao contrário do estudo experimental ou de intervenção, não permite a interferência do pesquisador no sentido de escolher quem é exposto ou não à variável independente. A natureza é que determina se o indivíduo tem ou não determinada doença⁸⁶. Cabe ao pesquisador observar se a exposição à variável independente traz alguma modificação nas variáveis dependentes.

No presente estudo, a DMRI exsudativa foi considerada variável independente, enquanto o perfil da MC e sua resposta de antibiograma foram as variáveis dependentes.

Foi qualificado também como de corte transversal, onde é feito um retrato instantâneo de duas populações. Isto foi possível porque a variável independente em questão é uma doença crônica e não se objetivou avaliar a interferência de fatores modificadores da MC que requerem tempo para terem efeito, como uso de antibióticos tópicos, condição esta que exigiria um estudo longitudinal.

5.3 Tamanho da amostra

O tamanho da amostra depende diretamente da natureza da variável e do grau de dispersão do fenômeno que se avalia. No presente estudo, avaliou-se a influência da DMRI exsudativa sobre a distribuição de bactérias na MC, comparando com a microbiota de portadores de catarata.

Sabe-se que a DMRI é a principal causa de cegueira nos países desenvolvidos, sendo responsável por 50% dos casos de cegueira legal nos EUA em 2002, aproximadamente 347.000 pessoas¹¹. No Brasil, não existem dados atualizados da prevalência real da doença⁶⁰.

Acrescente-se que os dados disponíveis são referentes a casos de cegueira provocados por DMRI, incluindo as formas seca e exsudativa. E no estudo foi avaliado um subtipo de DMRI específico: DMRI exsudativa com doença em atividade e critérios pré-definidos para se indicar o tratamento com antiangiogênico^{82,83}.

Quanto à distribuição das bactérias da MC, esta é relativamente conhecida no pré-operatório de cirurgia de catarata, com predomínio de bactérias Gram positivas nos diferentes estudos^{21,26,28-32,40}. Não há, porém, dados da MC nos pacientes com DMRI.

A falta de dados de prevalência de DMRI exsudativa no estado de Pernambuco e o desconhecimento da MC em portadores de DMRI justificam a escolha de uma amostra de conveniência.

Ressalta-se também a dificuldade de se obter amostra maior de pacientes, principalmente casos de DMRI exsudativa ativa, já que se trata de um subtipo específico de menor frequência da doença. Além disso, houve necessidade da observação de muitos critérios de exclusão, fato que dificultou até mesmo a

formação do grupo de portadores de catarata, condição bem mais frequente que a DMRI.

5.4 Caracterização da amostra

A constituição da microbiota conjuntival sofre influência de diversas condições. Houve preocupação no estudo de se tentar retirar possíveis fatores contribuintes para modificação da microbiota, através da ampliação dos critérios de exclusão.

Histórico de uso de antibiótico tópico ou sistêmico e cirurgia ocular nos últimos seis meses foram considerados critérios de exclusão, por reconhecidamente modificarem a MC^{27-29,40}. Presença de sinais de infecção ocular ou sistêmica ativa também foi considerada, inclusive sendo mandatória a suspensão da cirurgia nesta condição pelos riscos de endoftalmite.

Qualquer situação ocular de uso crônico de colírio também foi colocada como variável de confusão e excluída do estudo. Sabe-se que o conservante presente em alguns colírios, como o cloreto de benzalcônio, tem efeito bactericida e altera a MC⁵³. Portadores de alergia ocular crônica, olho seco e glaucoma não foram incluídos no estudo.

Em relação ao glaucoma, há colírios que não possuem preservativo na sua fórmula. Por isso, levam a menos alterações na superfície ocular e possivelmente menor interferência na MC⁸⁷. Em um estudo comparando a MC no pré-operatório de cirurgia antiglaucomatosa e de catarata, houve diferença estatística apenas na prevalência de *Corynebacterium sp*, considerada bactéria lábil e raramente

patogênica, com relevância clínica limitada²¹. Mesmo assim, optou-se por excluir qualquer paciente glaucomatoso independente do tipo de colírio em uso.

Diabetes *mellitus* é uma doença multifatorial que também altera a MC^{42,43}. Diabetes tipo II é o fator isoladamente que mais modifica a MC, enquanto a duração da doença e a presença ou ausência de retinopatia diabética não apresentam significância estatística⁴³. No presente estudo, todos os pacientes diabéticos com histórico de medicação hipoglicemiante ou presença de sinais de retinopatia à fundoscopia eram excluídos da amostra.

A idade reconhecidamente é um fator modificador independente da MC. Desde o nascimento, a partir da transferência de bactérias no canal do parto até idades mais avançadas onde ocorre aumento da positividade das culturas, há variações nos constituintes da MC^{40,41}. Os grupos do estudo tiveram médias de idade semelhantes. Não houve, portanto, influência do fator idade na distribuição de bactérias da MC nesta avaliação.

É discutível na literatura o papel do sexo na constituição da MC. Em um estudo de grande amostra, homens tiveram maior quantidade de bactérias que as mulheres em todas as faixas etárias. Houve também maiores frequências de *StaCon*, *Streptococcus pneumoniae* e bacilos Gram negativos nos homens em relação às mulheres⁴¹. Em outro estudo com larga série de casos, não houve diferença na MC relacionada com o sexo⁸⁸.

Na presente avaliação, o sexo feminino foi mais frequente que o masculino no grupo II, de portadores de catarata, com 66,7%. Apesar disso, esta diferença não foi estatisticamente significativa. Esta maior frequência de mulheres no pré-operatório de cirurgia de catarata, inclusive, é concordante com o relatado na literatura⁴¹.

5.5 Metodologia

A escolha do meio de cultura líquido BHI foi feita pelo fato de se tratar de um meio enriquecido por nutrientes, que permite o crescimento de muitas bactérias, inclusive de bactérias consideradas fastidiosas, como os Gram positivos *Streptococcus sp.* e *Staphylococcus sp.*, Gram negativo *Meningococcus sp.* e até fungos⁵⁶. Também por ser líquido, apresenta diferentes níveis de oxigênio que permitem tanto o crescimento de bactérias aeróbias como também bactérias anaeróbias facultativas⁸⁹.

Além disso, o saco conjuntival não parece abrigar uma grande quantidade de bactérias em condições normais, apesar disso ainda não ter sido comprovado³². O fato de se usar um meio de cultura de enriquecimento como BHI pode ter facilitado o crescimento das bactérias, mesmo presentes em pequenas quantidades. Isto pode justificar em parte a alta frequência de positividade das culturas em ambos os grupos, que chegou a 100% de crescimento nos olhos do grupo II. Esta taxa de positividade varia muito na literatura, chegando a níveis tão baixos como 25% e parece depender do método utilizado para cultura^{52,54}.

Um aspecto limitante na metodologia utilizada foi a ausência de técnica específica para cultura de anaeróbios estritos. Isto se deveu ao fato da técnica apresentar alto custo financeiro e requerer condições especiais para sua realização. Bactérias como *Propionibacterium acnes*, anaeróbio estrito mais frequentemente isolado³⁵, *Peptostreptococcus* e *Propionibacterium granulosum* deixaram de ser identificadas nesta avaliação.

5.6 Aspectos relacionados aos resultados

5.6.1 Perfil bacteriano

Houve predomínio de bactérias Gram positivas em ambos os grupos estudados, dado concordante com a literatura pesquisada^{21,26,28-32,40}. Não houve, porém, diferença estatisticamente significativa na proporção dessas bactérias entre os dois grupos. Ressalta-se que essas bactérias também são as mais frequentes em casos de endoftalmite pós-facectomia^{79,80}, corroborando com a origem delas a partir da MC.

Das bactérias Gram positivas isoladas, duas destacaram-se: *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativa*, que são, em geral, as bactérias mais frequentes da MC. Usualmente, porém, o StaCon é o mais frequente com percentuais variando de 52 a 79%^{21,26-31}. O fato de ter encontrado maior frequência de *S. aureus* no estudo piloto realizado em pacientes com DMRI exsudativa foi um dos fatores motivadores para se realizar esta investigação, mais ainda quando se comparou com um estudo de 2005 na mesma Instituição, que revelava predominância de StaCon em torno de 71% dos casos²⁷.

Entretanto, a comparação da frequência destas duas bactérias, *S. aureus* e StaCon, nos grupos de estudo não mostrou diferença estatisticamente significativa. Se os grupos foram semelhantes nesta distribuição, ficou então a pergunta dos motivos da maior frequência de *S. aureus* nos pacientes estudados, contrariando boa parte da literatura, que mostra frequências menores variando de 5 a 12%^{21,26-31}.

Na realidade, o desenho do estudo não permite responder esta pergunta, e sim se a MC dos grupos avaliados eram iguais ou diversas. Porém, algumas considerações podem ser feitas.

Primeiro, existe grande variação de metodologia empregada nos diversos estudos, que termina influenciando a distribuição das bactérias da MC²⁶. Séries mais antigas, por exemplo, mostram maiores frequências de *S. aureus*, superando o StaCon⁴⁰. Possíveis imperfeições na metodologia empregada no presente estudo, como a falta de método específico para se recuperar anaeróbios estritos, não interferiram na distribuição bacteriana dos dois grupos, já que ambos ficaram sujeitos a esta variável. Por outro lado, o tamanho reduzido da amostra também pode ter contribuído para representação menos consistente da distribuição das bactérias da MC.

Duas condições são descritas na literatura como associadas a maiores frequências de *S. aureus* na MC: diabetes *mellitus*⁴² e dermatite atópica⁵⁰. Diabetes foi critério de exclusão da amostra. Já a dermatite atópica, com suas lesões típicas de pele, apresenta alta prevalência de *S. aureus* na pele, chegando até 90%, o que em pacientes normais não passa de 10%. Como a pele é fonte de bactérias para MC, esta alta prevalência também se repete na conjuntiva⁵⁰. Apesar de não ter sido colocada diretamente como critério de exclusão, os pacientes do estudo tiveram uma inspeção sistêmica, a fim de se detectar lesões de pele infectadas, o que provavelmente excluiu os possíveis casos associados com dermatite atópica.

Existem poucos artigos na literatura nacional mostrando os tipos de bactérias associadas à endoftalmite pós-cirúrgica. Dois levantamentos, ambos em São Paulo, no período de 1985 a 93⁹⁰ e de 1993 a 98⁹¹, revelaram o *S. aureus* como bactéria mais frequente causadora de endoftalmite. Neles foram incluídos casos de endoftalmite de outras etiologias, como pós-trauma, úlcera de córnea e transplante de córnea. Mas mesmo quando se isolou os casos pós-cirurgia de catarata, o *S. aureus* permaneceu bem mais frequente, com 63,3% no período até 1993⁹⁰. Estes

dados vão contra o encontrado na literatura internacional, que aponta o StaCon como bactéria mais frequente^{79,80}.

Como as bactérias que causam endoftalmite têm origem na MC³⁻⁶, o achado do presente estudo sugere um possível maior papel do *S. aureus* como agente bacteriano causador de endoftalmite em nosso meio, tanto para cirurgia de catarata como para injeção intravítrea em DMRI exsudativa. Porém, não existem levantamentos recentes de etiologia da endoftalmite na instituição do estudo, o que poderia de fato contribuir para melhor avaliação destes achados.

Quanto às demais bactérias isoladas, como os Gram negativos, *Streptococcus*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Bacillus sp.*, suas reduzidas frequências não permitiram maiores conclusões em relação a qualquer diferença entre os dois grupos. Necessitaria de amostra maior para se ter uma melhor definição deste grupo de bactérias.

5.6.2 Antibiograma

De uma maneira geral, observou-se boa resposta das bactérias isoladas em ambos os grupos aos antibióticos testados. Não foi observada diferença estatisticamente significativa no padrão de resposta a cada antibiótico entre os dois grupos. Vale ressaltar o caso da oxacilina, que mostrou diferença de sensibilidade das bactérias de 22,7% entre os dois grupos, contudo sem ter significância estatística ($p=0,081$). É possível que com amostra maior fosse confirmada uma diferença significativa.

A resistência à oxacilina representa grande preocupação para os oftalmologistas, pois usualmente está associada à resistência aos antibióticos beta-lactâmicos e pode apresentar um padrão de resistência múltipla a outros

antimicrobianos, como as quinolonas e os aminoglicosídeos. Em um levantamento em São Paulo de 2000 a 2003, onde se avaliou StaCon da MC de pacientes no pré-operatório, foi observada resistência crescente à oxacilina ao longo do tempo⁹².

Moxifloxacino e ofloxacino, dois antibióticos comumente usados na prática oftalmológica como agentes profiláticos em cirurgias, foram os que se mostraram com 100% de sensibilidade das bactérias em ambos os grupos. Este dado reveste-se de importância, já que é fundamental para escolha do antibiótico adequado para profilaxia de endoftalmite.

Recentemente, foi observado em São Paulo e nos EUA aumento da resistência bacteriana às fluorquinolonas de segunda geração, no caso a ciprofloxacino e ofloxacino e maior eficácia das fluorquinolonas de quarta geração, como moxifloxacino e gatifloxacino⁹³⁻⁹⁵ Nesta avaliação, todas quinolonas testadas apresentaram respostas semelhantes, não se observando a referida maior resistência ao ciprofloxacino e ao ofloxacino.

Isolou-se o *S. aureus* de cada grupo com os diferentes antibióticos testados para verificar se, além de frequências semelhantes, apresentavam padrão de respostas semelhantes também aos antibióticos. Considerada bactéria patogênica, apesar de habitante da MC normal⁹⁶, havia o receio de esta bactéria ter maior resistência aos antibióticos usados em Oftalmologia. As respostas foram semelhantes nos dois grupos, sem demonstrar diferenças significantes e, de uma maneira geral, foram obtidas boas sensibilidades no antibiograma.

É bom ressaltar que os achados de sensibilidade aqui mostrados são achados laboratoriais e não necessariamente implicam sensibilidade da bactéria ao antibiótico *in vivo*. Estes devem servir como uma orientação geral, já que a eficácia na prática depende da real concentração inibitória mínima atingida no tecido

desejado. Como o olho é o órgão alvo, tem que ser considerado sua penetração na córnea, conjuntiva, humor aquoso e até no vítreo.

5.7 Considerações finais

Os resultados obtidos não mostraram diferenças significantes entre a microbiota conjuntival de portadores de DMRI exsudativa e de catarata. Esta observação tem seu valor por permitir que se aplique o mesmo raciocínio de utilização de antibióticos para eliminação de bactérias da MC no pré-operatório de cirurgia de catarata para pacientes que serão submetidos à injeção intravítrea de antiangiogênico por DMRI exsudativa.

O tema endoftalmite e sua relação com as bactérias da MC, tal sua implicação na profilaxia e tratamento, desperta interesse em toda comunidade oftalmológica. Isto vale especialmente no caso de DMRI exsudativa, onde há reduzido conhecimento na literatura sobre o tema. Propõe-se aumentar a amostra de ambos os grupos, para que dados que ficaram próximos de significância estatística, como frequência de bactérias Gram positivas e sensibilidade bacteriana à oxacilina entre os dois grupos, sejam mais consistentes.

Vale ressaltar também o valor do exame cultura de secreção conjuntival. Este exame, que já foi considerado rotina no pré-operatório, foi abandonado da propedêutica pré-operatória pela melhoria da técnica cirúrgica e diminuição da incidência de endoftalmite nos últimos 20 anos. As diferenças no perfil da MC encontradas nestes pacientes quando comparadas aos dados da literatura reforçam a necessidade de se realizar avaliações periódicas pela cultura de secreção conjuntival nos centros oftalmológicos, já que orientam possíveis mudanças de profilaxia e tratamento de complicações infecciosas.

CONCLUSÕES

A análise dos resultados encontrados permite concluir que:

- ❖ Não houve diferença na distribuição das bactérias da microbiota conjuntival em portadores de DMRI exsudativa, comparada com a de portadores de catarata.
- ❖ Não houve diferença no padrão de resposta das bactérias aos antibióticos testados em ambos os grupos de estudo.

REFERÊNCIAS

1. Lemley CA, Han DP. Endophthalmitis: a review of current evaluation and management. *Retina*. 2007;27(6):662-80.
2. Moshirfar M, Feiz V, Vitale AT, Wegelin JA, Basavanthappa S, Wolsey DH. Endophthalmitis after uncomplicated cataract surgery with the use of fourth-generation fluoroquinolones: a retrospective observational case series. *Ophthalmology*. 2007;114(4):686-91.
3. Speaker MG, Milch FA, Shah MK, Eisner W, Kreiswirth BN. Role of external bacterial microbiota in the pathogenesis of acute postoperative endophthalmitis. *Ophthalmology*. 1991;98(5):639-49.
4. Leong JK, Shah R, McCluskey PJ, Benn RA, Taylor RF. Bacterial contamination of the anterior chamber during phacoemulsification cataract surgery. *J Cataract Refract Surg*. 2002;28(5):826-33.
5. Bannerman TL, Rhoden DL, McAllister SK, Miller JM, Wilson LA. The source of coagulase-negative staphylococci in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A comparison of eyelid and intraocular isolates using pulsed-field gel electrophoresis. *Arch Ophthalmol*. 1997;115(3):357-61.
6. De Caro JJ, Ta CN, Ho HK, Cabael L, Hu N, Sanislo SR, et al. Bacterial contamination of ocular surface and needles in patients undergoing intravitreal injections. *Retina*. 2008;28(6):877-83.
7. Ciulla TA, Starr MB, Masket S. Bacterial endophthalmitis prophylaxis for cataract surgery: an evidenced based update. *Ophthalmology*. 2002;109(1):13-24.

8. Hammoudi DS, Abdoell M, Wong DT. Patterns of perioperative prophylaxis for cataract surgery in Canada. *Can J Ophthalmol.* 2007;42(5):681-8.
9. Ta CN. Topical antibiotics in intraocular injections. *Arch Ophthalmol.* 2007;125(7):972-4.
10. Jager RD, Aiello LP, Patel SC, Cunningham ET Jr. Risks of intravitreal injection: a comprehensive review. *Retina.* 2004;24(5):676-98.
11. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, Kocur I, Pararajasegaram R, Pokharel GP, et al. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ.* 2004;82(11):844-51.
12. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2006;355(14):1419-31.
13. Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, Giust MJ. Intravitreal bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 2006;113(3):363-372.
14. Pilli S, Kotsolis A, Spaide RF, Slakter J, Freund KB, Sorenson J, et al. Endophthalmitis associated with intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapy injections in an office setting. *Am J Ophthalmol.* 2008;145(5):879-82.
15. Mason JO, White MF, Feist RM, Thomley ML, Albert MA, Persaud TO, et al. Incidence of acute onset endophthalmitis following intravitreal bevacizumab (avastin) injection. *Retina.* 2008;28(4):564-7.
16. Fintak DR, Shah GK, Blinder KJ, Regillo CD, Pollack J, Heier JS, et al. Incidence of endophthalmitis related to intravitreal injection of bevacizumab and ranibizumab. *Retina.* 2008;28(10):1395-9.

17. Heier JS, Antoszyk AN, Pavan PR, Leff SR, Rosenfeld PJ, Ciulla TA, et al. Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a phase I/II multicenter, controlled, multidose study. *Ophthalmology*. 2006;113(4):633. e1-4.
18. Kowalski RP, Romanowski EG, Mah FS, Yates KA, Gordon YJ. Topical 0.5% moxifloxacin prevents endophthalmitis in an intravitreal injection rabbit model. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2008;24(1):1-7.
19. Rodrigues EB, Maia M, Penha FM, Dib E, Bordon AF, Magalhães Júnior O, Farah ME. Técnica para injeção intravítrea de drogas no tratamento de doenças vítreoretinianas. *Arq Bras Oftalmol*. 2008;71(6):902-7.
20. Scott IU, Flynn HW Jr. The role of topical antibiotics prophylaxis for intravitreal injections. *Arch Ophthalmol*. 2007;125(7):974-6
21. De Kaspar HM, Kreidl KO, Singh K, Ta CN. Comparison of preoperative conjunctival bacterial microbiota in patients undergoing glaucoma or cataract surgery. *J Glaucoma*. 2004;13(6):507-9.
22. Gehrs KM, Anderson DH, Johnson LV, Hageman GS. Age-related macular degeneration - emerging pathogenetic and therapeutic concepts. *Ann Med*. 2006;38(7):450-71.
23. Lawson A. The bacteriology of the normal conjunctival sac, and its practical bearing on the utility of antiseptics in ophthalmic surgery. *Br Med J*. 1898;2:486-7.
24. Khorazo D, Thompson R. The bacterial microbiota of the normal conjunctiva. *Arch Ophthalmol*. 1935;18:1114-6.
25. Matuura H. Anaerobes in the bacterial microbiota of the conjunctival sac. *Jpn J Ophthalmol*. 1971;15:116-24.

26. Rubio EF. Bacterias conjuntivales em preoperatorios de pacientes com cataratas: cambio em los últimos 50 años. Arch Soc Esp Oftalmol. 2004;79(1):13-9.
27. Arantes TEF, de Castro CMMB, Cavalcanti RF, Severo MS, Diniz MFA, Urtiga RWD. Microbiota bacteriana conjuntival após uso tópico de ciprofloxacino e gatifloxacino em cirurgia de catarata. Arq Bras Oftalmol. 2008;71(2):191-6.
28. De Kaspar HM, Kreutzer TC, Aguirre-Romo I, Ta CN, Dudichum J, Bayrhof M, et al. A prospective randomized study to determine the efficacy of preoperative topical levofloxacin in reducing conjunctival bacterial microbiota. Am J Ophthalmol. 2008;145(1):136-142.
29. Ta CN, Sinnar S, He L, Myung D, De Kaspar HM. Prospective randomized comparison of 1-day versus 3-day application of topical levofloxacin in eliminating conjunctival microbiota. Eur J Ophthalmol. 2007;17(5):689-95.
30. Locatelli CI, Kwitko S, Simonetti AB. Conjunctival endogenous microbiota in patients submitted to cataract surgery. Braz J Microbiol. 2003;34:203-9.
31. Marcon AS, Barbosa MP, Vasques CL, Marcon IM, Dorneles IC, Kader ITA, et al. Microbiota aeróbia e anaeróbia normal da conjuntiva e borda palpebral de indivíduos hígidos. Arq Bras Oftalmol. 1996;59(3):289-94.
32. Burns RP. Indigenous microbiota of the lids and conjunctiva. In: Tasman W, Jaeger EA, editors. Duane's Clinical Ophthalmology: volume 2. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. p.1-5.
33. Campos MSQ, Sato EH, Nosé W, Mós EM, Santos MAA. Microbiota anaeróbia do saco conjuntival humano normal. Arq Bras Oftalmol. 1989;52(6):193-5.
34. Ando N, Takatori K. Fungal microbiota of the conjunctival sac. Am J Ophthalmol. 1982;94:67-74.

35. McNatt J, Allen SD, Wilson LA, Dowell Jr VR. Anaerobic microbiota of the normal human conjunctival sac. *Arch Ophthalmol.* 1978;96:1448-50.
36. Campos MSQ, Silva LQCD, Rehder JRCL, Lee MB, O'Brien T, McDonnell PJ. Anaerobic microbiota of the conjunctival sac in patients with AIDS and with anophthalmia compared with normal eyes. *Acta Ophthal.* 1994; 72(2): 241-5.
37. 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(1):17-9.
38. Cha SB, Fischman O, Barros PSM, Mikoves R. Microbiota fúngica conjuntival de pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). *Arq Bras Oftalmol.* 1990;53(2):80-90.
39. Santos PM, Melo CM, Martins SAR, Chaves AA, Sá DSP, Santos RCR. Estudo da microbiota fúngica da conjuntiva ocular em portadores de hanseníase e seus comunicantes. *Arq Bras Oftalmol.* 2006;69(6):915-8.
40. Osato MS. Normal ocular microbiota. In: Pepose JS, Holland GN, Wilhelmus KR, eds. *Ocular infection and immunity.* St. Louis: Mosby; 1996. p.191-9.
41. Rubio EF. Influence of age on conjunctival bacteria of patients undergoing cataract surgery. *Eye.* 2006;20(4):447-54.
42. Bilen H, Ates O, Astam N, Uslu H, Akcay G, Baykal O. Conjunctival microbiota in patients with type 1 or type 2 diabetes mellitus. *Adv Ther.* 2007;24(5):1028-35.
43. Martins EN, Alvarenga LS, Höfling-Lima AL, Freitas D, Zorat-Yu MC. Aerobic bacterial conjunctival microbiota in diabetic patients. *Cornea.* 2004;23(2):136-42.
44. Miller B, Ellis P. Conjunctival flora in patients receiving immunosuppressive drugs. *Arch Ophthalmol.* 1977;95:2012-4.

45. Fleiszig SM, Efron N. Microbial microbiota in eyes of current and former contact lens wearers. *J Clin Microbiol.* 1992;30(5):1156-61.
46. Libório AM, Nishiwaki-Dantas MC, Mimica LMJ, Dantas PEC, de Lima ALH. Microbiota conjuntival em pacientes com alergia ocular. *Arq Bras Oftalmol.* 2005;68(6):824-7.
47. Rubio EF. Climatic influence on conjunctival bacteria of patients undergoing cataract surgery. *Eye.* 2004;18(8):778-84.
48. Capriotti JA, Pelletier JS, Shah M, Caivano DM, Ritterband DC. Normal ocular microbiota in healthy eyes from a rural population in Sierra Leone. *Int Ophthalmol.* 2009;29:81-4.
49. Araújo WF, Yamazaki ES, Suzuki Jr ERS, Cuevas IAB, Grupenmacher F. Estudo da microbiota da microbiota conjuntival em pacientes internados em UTI. *Rev Bras Oftal.* 2001;60(11):771-5.
50. Nakata K, Inoue Y, Harada J, Maeda N, Watanabe H, Tano Y, et al. A high incidence of *Staphylococcus aureus* colonization in the external eyes of patients with atopic dermatitis. *Ophthalmology.* 2000;107(12):2167-71.
51. Gündüz A, Gündüz A, Cumurcu T, Seyrek A. Conjunctival microbiota in Behçet patients. *Can J Ophthalmol.* 2008;43(4):476-9.
52. Fahmy JA, Möller S, Bentzon MW. Bacterial flora of the normal conjunctiva. II. Methods of obtaining cultures. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1975;53(2):237-53.
53. Oguz H, Oguz E, Sobaci G, Aslan G. The antibacterial effect of topical anesthetic proparacaine on conjunctival microbiota. *Int Ophthalmol.* 1999;23:117-20.
54. Nogueira DC, Ueda SMY, Murça MAS, Hida WT, Felberg S, Serruya L, et al. Comparação entre dois meios de coleta e transporte para estudo da microbiota conjuntival de indivíduos normais. *Arq Bras Oftalmol.* 2007;70(6):929-34.

55. Barza M, Pavan PR, Doft BH, Wisniewski SR, Wilson LA, Han DP, et al. Evaluation of microbiological diagnostic techniques in postoperative endophthalmitis in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. *Arch Ophthalmol.* 1997;115(9):1142-50.
56. Moeller CTA, Branco BC, Yu MCZ, Farah ME, Santos MAA, Höfling-Lima AL. Evaluation of normal ocular bacterial microbiota with two different culture media. *Can J Ophthalmol.* 2005;40:448-53.
57. Wilhelmus KR. Laboratory tests in the diagnosis of ocular infections. In: Tasman W, Jaeger EA, editors. *Duane's Clinical Ophthalmology: volume 2.* Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. p.1-16.
58. ANVISA. Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos. [Citado 2009 mar 9] Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_4_2004.pdf.
59. Regillo C, Chang TS, Johnson MW, Kaiser PK, Scott IU, Spaide R, et al. Acquired diseases affecting the macula. In: Liesegang JT, Skuta GL, Cantor Lb, editors. *Basic and Clinical Science Course: section 12.* San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2005. p.51-95.
60. Araújo Filho A, Salomão SR, Berezovsky A, Cinoto RW, Morales PH, Santos FR, et al. Prevalence of visual impairment, blindness, ocular disorders and cataract surgery outcomes in low-income elderly from a metropolitan region of São Paulo - Brazil. *Arq Bras Oftalmol.* 2008; 71(2):246-53.
61. Kini MM, Leibowitz HM, Colton T, Nickerson RJ, Ganley J, Dawber TR. Prevalence of senile cataract, diabetic retinopathy, senile macular degeneration, and open-angle glaucoma in the Framingham eye study. *Am J Ophthalmol.* 1978;85(1):28-34.

62. Santos LP, Diniz JR, Leão AC, Sena MF. Degeneração macular relacionada à idade: prevalência e fatores de risco em dois centros oftalmológicos de referência em Pernambuco. *Arq Bras Oftalmol.* 2005;68(2):229-33.
63. Maturi RK. ARMD, Nonexudative. *eMedicine Specialties.* [Internet]. 2007 [Citado 2009 mar 11]. Disponível em: <http://emedicine.medscape.com/article/1223154-overview>.
64. Rodrigues EB, Rossi EE, Grumann Junior E, Meyer CH, Ho AC. Tratamento da forma neovascular da degeneração macular relacionada à idade com drogas antiangiogênicas. *Arq Bras Oftalmol.* 2006;69(5):756-65.
65. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Arch Ophthalmol.* 2001;119(10):1417-36.
66. Comer GM, Ciulla T. ARMD, Exudative: Treatment & Medication. *eMedicine Specialties.*[Internet].2008 [Citado 2009 mar 11]. Disponível em: <http://emedicine.medscape.com/article/1226030-treatment>.
67. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET Jr, Feinsod M, Guyer DR. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2004;351(27):2805-16.
68. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2006;355(14):1419-31.
69. Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for neovascular

- age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2005;36(4):331-5.
70. Moshfeghi AA. Rate of endophthalmitis after anti-VEGF intravitreal injection. *Retina Today*. [Internet]. 2008 [Citado 2009 mar 17]; 75-6. Disponível em: www.retinatoday.com/issues/0308/0308_18.pdf.
71. Rezende Filho F, Rezende F. Anatomia cirúrgica. In: Dias FR, editor. *Cirurgia da catarata*. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica, 2000. p. 9-16.
72. Rezende F. Tipos de cataratas. In: Dias FR, editor. *Cirurgia da catarata*. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica, 2000. p. 33-9.
73. Medeiros A, Gonçalves ER. Cristalino – Embriologia, anatomia e biomicroscopia. In: Padilha MA, editor. *Catarata*. 2. edição. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2008. p. 1-36.
74. Oliveira FB. Facecomia: Técnicas. In: Padilha MA, editor. *Catarata*. 2. edição. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2008. p. 157-67.
75. Vieira AC, de Freitas D, Padilha MA. Endoftalmite em cirurgia de catarata. In: Padilha MA, editor. *Catarata*. 2. edição. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2008. p. 543-56.
76. Assia EI, Jubran RZ, Solberg Y, Keller N. The role of intraocular lenses in anterior chamber contamination during cataract surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1998;236(10):721-4.
77. Koç F, Akçam Z, Kuruoğlu S, Oge I, Günaydin M. Does surgical technique influence cataract surgery contamination?. *Eur J Ophthalmol*. 2001;11(1):31-6.
78. Beigi B, Westlake W, Mangelschots E, Chang B, Rich W, Riordan T. Peroperative microbial contamination of anterior chamber aspirates during extracapsular cataract extraction and phacoemulsification. *Br J Ophthalmol*. 1997;81(11):953-5.

79. Han DP, Wisniewski SR, Wilson LA, Barza M, Vine AK, Doft BH, et al. Spectrum and susceptibilities of microbiologic isolates in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. *Am J Ophthalmol.* 1996;122(1):1-17.
80. Recchia FM, Busbee BG, Pearlman RB, Carvalho-Recchia CA, Ho AC. Changing trends in the microbiologic aspects of postcataract endophthalmitis. *Arch Ophthalmol.* 2005;123(3):341-6.
81. Fox GM, Joondeph BC, Flynn HW Jr, Pflugfelder SC, Roussel TJ. Delayed-onset pseudophakic endophthalmitis. *Am J Ophthalmol.* 1991;111(2):163-73.
82. Regillo CD, Brown DM, Abraham P, Yue H, Ianchulev T, Schneider S, et al. Randomized, double-masked, sham-controlled trial of ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration: PIER Study year 1. *Am J Ophthalmol.* 2008;145(2):239-248.
83. Bashshur ZF, Haddad ZA, Schakal A, Jaafar RF, Saab M, et al. Intravitreal bevacizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a one-year prospective study. *Am J Ophthalmol.* 2008;145(2):249-256.
84. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *Am J Clin Pathol* 1966; 45: 493-6.
85. Wikler MA, Hindler JF, Cockerill FR, Patel JB, Bush K, Powell M, et al. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard – Tenth edition. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
86. Haddad N. Metodologia de estudos em ciências da saúde: como planejar, analisar e apresentar um trabalho científico. 1. edição. São Paulo: Roca; 2004.
87. Campagna P, Macri A, Rolando M, Calabria G. Chronic topical eye preservative-free beta-blocker therapy effect on the ocular surface in glaucomatous patients. *Acta Ophthalmol Scand Suppl.* 1997;224:53.

88. Locatcher-Khorazo D, Seegal BC. Microbiology of the eye. Saint Louis: Mosby; 1972.
89. Forney JE, Miller JM. Quality control of culture media. In: Lennete EH, Balows A, Hausler WJ Jr, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. Washington: American Society for Microbiology; 1985. p. 1054-65.
90. Chaib AR, de Freitas D, Scarpi MJ, Guidugli T. Pesquisa laboratorial em endoftalmite. Arq Bras Oftalmol. 1997;60(3): 250-7.
91. Schirmbek T, Romão E, Rodrigues MLV, Figueiredo JFC. Endoftalmite: uma análise de 58 casos. Arq Bras Oftalmol. 2000;63(1):34-44.
92. Gayoso MFA, Oliveira ADD, Azevedo PA, Yu MCZ, Höfling-Lima AL, Francisco W. Suscetibilidade antimicrobiana in vitro dos Staphylococcus coagulase negativa oculares. Arq Bras Oftalmol. 2007;70(6):924-8.
93. Höfling-Lima AL, Belfort Júnior R, Moeller CTA, Castelo Branco B, Souza LB, Freitas D. In vitro antibiotic susceptibilities of ocular bacteria isolates from the cornea and conjunctiva to moxifloxacin, gatifloxacin and other fluoroquinolones. Arq Bras Oftalmol. 2004;67(6):883-6.
94. Mather R, Karenchak LM, Romanowski EG, Kowalski RP. Fourth generation fluoroquinolones: new weapons in the arsenal of ophthalmic antibiotics. Am J Ophthalmol. 2002;133(4):463-6.
95. De Kaspar HM, Koss MJ, He L, Blumenkranz MS, Ta CN. Antibiotic susceptibility of preoperative normal conjunctival bacteria. Am J Ophthalmol. 2005;139(4):730-3.
96. Rubio EF, Rodríguez CT. Portadores crônicos de bacterias conjuntivales patógenas: Posible riesgo em la cirugía de cataratas. Arch Soc Esp Oftalmol. 2004;79(10): 485-91.

APÊNDICE

Apêndice A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Protocolo

Paciente nº _____

Iniciais do Paciente : _____

Título do Estudo : Microbiota bacteriana da conjuntiva em portadores de degeneração macular relacionada à idade exsudativa comparada com a de portadores de catarata.

Centro de Estudo : Fundação Altino Ventura

1. Explicação do Estudo:

Endoftalmite infecciosa é uma das complicações mais graves da cirurgia intraocular. Pode ocorrer tanto após cirurgia de catarata, como após injeção intravítrea de antiangiogênico (prática comum atual para tratamento de degeneração macular relacionada à idade - DMRI). Acredita-se que bactérias da própria microbiota conjuntival normal do paciente ganhem acesso a parte interna do olho e provoquem a infecção. Então atenção é necessária aos componentes desta microbiota bacteriana, e sua resposta aos diferentes antibióticos que são usados como agente profiláticos.

Este estudo tem como objetivo avaliar a microbiota bacteriana da conjuntiva ocular em portadores de DMRI com indicação de injeção intravítrea de antiangiogênico, comparando com a microbiota de portadores de catarata no pré-operatório para cirurgia.

2. Participação no Estudo:

A sua participação consistirá em permitir a coleta de material do olho a ser submetido à injeção intravítrea de antiangiogênico (Grupo 1) e à cirurgia de catarata (Grupo 2).

O exame será realizado pelo oftalmologista responsável pelo estudo e no período pré-operatório imediato de ambas as cirurgias. Será coletado material (secreção) da parte externa do olho, inferiormente no saco conjuntival, sem tocar cílios ou pálpebras, utilizando-se um swab (haste com algodão estéril). Este

procedimento causa um leve desconforto, mas que em geral é bem tolerado pelos pacientes.

Os pacientes seguirão normalmente suas programações cirúrgicas (tanto para cirurgia de catarata, como para injeção intravítrea de antiangiogênico) e este exame em nada atrapalha ou acrescenta qualquer risco adicional à sua cirurgia. Inclusive é considerado exame pré-operatório de rotina em alguns serviços para conhecimento da microbiota conjuntival e instituição de profilaxia antibiótica adequada.

Caso aceite participar desta pesquisa, está garantindo que poderá desistir a qualquer momento, bastando para isso, informar a sua decisão de desistência, da maneira mais conveniente. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador, com a Instituição (Fundação Altino Ventura) ou ao seu tratamento.

3. Benefícios:

O benefício potencial desta pesquisa é permitir um melhor conhecimento da microbiota conjuntival nestes grupos de pacientes, possibilitando escolha adequada de profilaxia antibiótica e até mesmo terapêutica de uma possível endoftalmite.

4. Confidencialidade:

Os resultados do estudo poderão ser publicados, porém o seu nome e a sua identidade nunca serão revelados, de forma que você não poderá ser identificado e a sua identidade será mantida em sigilo.

A sua participação é voluntária. As informações obtidas serão analisadas sem divulgação ou identificação dos participantes, sendo utilizadas apenas nessa pesquisa. Caso esses dados interessem a alguma outra pesquisa, você será consultado e os dados só serão fornecidos com a sua autorização.

6. Garantia de acesso:

Você terá a garantia de que terá acesso ao pesquisador responsável, para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. José Ricardo Diniz, que pode ser encontrado no endereço da Rua da Soledade, n.º 170, Bairro - Boa Vista (Fundação Altino Ventura) e pelo telefone (81) 99761298. Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, (CEP) - Rua da Soledade 170, Boa Vista, CEP: 50070-040, fone (81) 3302-4300, FAX: (81) 3421-8971, Email: fav@fundacaoaltinoventura.org.br

7. Consentimento

Eu entendi a descrição do estudo e aceito livremente participar deste estudo como voluntário. Eu tive a oportunidade de perguntar ao meu entrevistador as minhas dúvidas e recebi respostas satisfatórias.

Nome (sujeito da pesquisa).....

Assinatura.....

Data da assinatura.....

Nome (testemunha).....

Assinatura.....

Data da assinatura.....

Nome (pesquisador).....

Assinatura.....

Data da assinatura.....

ANEXO

Anexo 1



Comitê de Ética em Pesquisa
Fundação Altino Ventura

Recife, 12 setembro de 2008.

CARTA DE APROVAÇÃO N.º 006/08

REGISTRO CEP-FAV N.º 036/08

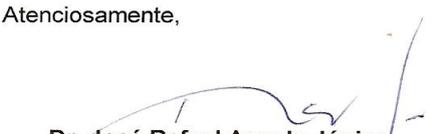
Ilmo. Dr.
José Ricardo Diniz (Pesquisador)
Instituição: Fundação Altino Ventura
Disciplina/Departamento: Oftalmologia
Ref.: Projeto de Pesquisa
Tema: Efeitos sobre a flora conjuntival após uso de antibióticoterapia profilática consecutiva com fluorquinolona (FQ4G) de quarta geração em pacientes submetidos a injeção intra-vítrea.

O Comitê de Ética em Pesquisa analisou e aprovou o projeto acima mencionado, bem como a documentação constituída pelo projeto de pesquisa, ficha de encaminhamento, folha de rosto, termo de consentimento livre e esclarecido, formulário de pesquisa e planilha de custos.

Conforme resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde são deveres do pesquisador:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.
4. Apresentar primeiro relatório parcial em: 60 dias

Atenciosamente,


Dr. José Rafael Arruda Júnior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
da Fundação Altino Ventura

Normatização da Dissertação

Esta dissertação está de acordo com:

International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References Updated February 2006

Last reviewed: 22 May 2007

Last updated: 25 April 2007

First published: 09 July 2003

Metadata | Permanence level: Permanent: Dynamic Content

Copyright, Privacy, Accessibility

U.S. National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda,

MD 20894

National Institutes of Health, Health & Human Services

www.icmje.org/

www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html