

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E
PARASITÁRIAS**

EUNICE STELLA JARDIM CURY

**CERATITE MICROBIANA: DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E EVOLUÇÃO
CLÍNICA**

CAMPO GRANDE

2015

EUNICE STELLA JARDIM CURY

**CERATITE MICROBIANA: DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E EVOLUÇÃO
CLÍNICA**

Dissertação ao Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Marilene Rodrigues Chang

CAMPO GRANDE

2015

EUNICE STELLA JARDIM CURY

CERATITE MICROBIANA: DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E EVOLUÇÃO CLÍNICA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Mestre, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Marilene Rodrigues Chang

A banca examinadora, após a avaliação do trabalho, atribui ao candidato a
NOTA/CONCEITO _____

Campo Grande, 23 de Março de 2015

BANCA EXAMINADORA

NOTA/CONCEITO

Dra Marilene Rodrigues Chang (Presidente)

Dra. Sônia Maria Fernandes Fitts (Titular)

Dra. Ana Cláudia Alves Pereira (Titular)

Dra. Anamaria Mello Miranda Paniago (Suplente)

A meus queridos pais, Jorge Benjamin Cury (*in memoriam*) e Stella Jardim Cury, em quem me espelhei para seguir em frente, enfrentar os obstáculos e, sobretudo acreditar em meus sonhos. Obrigada por sempre poder contar com vocês.

Às minhas amadas filhas, Letícia e Débora, como um exemplo de que nunca é tão tarde que não possamos empreender novos voos, ousar, recomeçar.

À minha irmã Elenir, pelo carinho e apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Marilene Rodrigues Chang, pelas horas de dedicação para o desenvolvimento deste trabalho e confiança em mim depositada.

À Prof^a. Dr^a. Elenir Rose Jardim Cury Pontes, pelas orientações em relação à análise estatística.

Ao programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, seu corpo docente, funcionários, sempre empenhados em proporcionar as condições necessárias para desenvolvimento das atividades.

Aos amigos e companheiros de longas horas de estudo, apoio nas atividades, que tornaram nossa jornada mais amena, em especial ao sexteto carinhosamente denominado “Mestrado *et al.*”, composto por mim e minhas queridas: Anna Letícia Miranda, Edy Firmina Pereira, Luciana Nebot, Nara Múria Tosta Carneiro, Samara Villas- Bôas Graeff.

À minha família, por todas as palavras de incentivo e carinho, onde encontrei toda a sustentação afetiva nesta trajetória.

A todos que me acompanharam neste período de minha vida, encorajando-me nos momentos de cansaço, com palavras e atitudes de apoio.

RESUMO

Ceratite microbiana é um processo inflamatório da córnea, de natureza infecciosa, que pode ser causada por bactérias, fungos, vírus e protozoários. É considerada uma das principais causas de cegueira, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. O objetivo deste estudo foi investigar casos de ceratite microbiana não-viral, segundo o agente etiológico, assim como identificar possíveis fatores associados à sua ocorrência, evolução clínica e tratamento. Trata-se de um estudo epidemiológico do tipo caso-controle. Foi realizada uma pesquisa em um centro especializado em Oftalmologia, na cidade de Campo Grande/MS, a fim de obter dados dos pacientes com afecções oculares, diagnosticados no período de 2009 a 2013. Os pacientes foram divididos em dois grupos: a) **casos** – pacientes com ceratite em observação clínica, pela biomicroscopia, b) **controles** – pacientes com outras afecções oculares que não ceratite. Foram identificados 64 casos de ceratite microbiana, destes, 42,2% foram causados por bactérias, principalmente *Pseudomonas aeruginosa*, 39,1% por fungos, com maior porcentagem de *Fusarium spp* (14,1%) e em 6,3% por protozoário (*Acanthamoeba*). Foi encontrado um caso de ceratite por *Microsporidia* em paciente imunocompetente, agente este recentemente reclassificado como fungo. Os resultados obtidos mostram associação entre atividade laboral ligada à agropecuária, uso de lentes de contato e a ocorrência de ceratite. Nos pacientes com ceratite, os sintomas mais relatados foram dor e fotofobia. Moxifloxacina (34,4%), anfotericina B (31,3%) e natamicina (28,1%), foram os medicamentos mais utilizados nos casos com ceratite (n=64). A ceratite evoluiu para perfuração de córnea em 15,6% dos casos e em 10,9% foi indicado transplante. Os pacientes com ceratite apresentam maior gravidade na evolução clínica que os pacientes com outras afecções oculares que não ceratite, sendo por isso imprescindível a rápida identificação do agente etiológico, a fim de subsidiar a escolha da terapêutica mais adequada.

Palavras-chave: Ceratite infecciosa/ Córnea/ Infecções oculares

ABSTRACT

Microbial keratitis is a corneal inflammatory process, of infectious nature, which can be caused by bacteria, fungi, virus and protozoa. It is considered a major cause of blindness in developed countries as well as developing countries. The aim of this study was to investigate cases of non-viral microbial keratitis, according to the etiological agent, and identify possible factors associated with its occurrence, clinical course and treatment. This is a case-control epidemiological study. Research was carried out in a center specialized in Ophthalmology in the city of Campo Grande / MS in order to obtain data of patients with eye disorders from 2009 to 2013, which were divided into two groups: a) cases - patients with keratitis in clinical observation, the slit lamp examination, b) controls - patients with other eye disorders that are not keratitis. Of 64 patients with microbial keratitis, 42.2% were caused by bacteria, mainly *Pseudomonas aeruginosa*, 39.1% by fungi, higher percentage of *Fusarium* spp (14.1%) and 6.3% by protozoan (*Acanthamoeba*). A case of microsporidial keratitis was found in an immunocompetent patient, this agent recently reclassified as fungus. The results show an association between work activities linked to agriculture and livestock raising, use of contact lenses and the occurrence of keratitis. In patients with keratitis (n=64), the most common symptoms were pain and photophobia, and the most used medicines were 4th generation fluoroquinolones (34.4%), amphotericin B (31.3%) and natamycin (28.1%). Keratitis evolved to corneal perforation in 15.6% of cases and 10.9% was indicated transplant. Patients with keratitis have more severe clinical evolution, so it is essential rapid identification of the etiologic agent in order to support the choice of the most appropriate drug therapy.

Key-words: Infectious keratitis / Cornea/ Eye Infections

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 – Desenho ilustrativo das diferentes camadas da córnea.....	15
Tabela 1 – Número e porcentagem de pacientes segundo variáveis sócio-demográficas nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.....	33
Tabela 2 – Número e porcentagem de pacientes segundo variáveis clínicas nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.....	34
Tabela 3 – Fatores associados à ocorrência de ceratite, Campo Grande/MS – 2014.....	35
Tabela 4 – Número e porcentagem de pacientes segundo manifestações clínicas e medicação prévia administrada nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.....	36
Tabela 5 – Número e porcentagem de pacientes segundo amostra analisada para exame microscópico nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.....	37
Tabela 6 – Número e porcentagem de pacientes segundo resultados de exames microbiológicos nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.....	38
Tabela 7 – Número e porcentagem de pacientes segundo microorganismos identificados nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.....	40
Tabela 8 – Número e porcentagem de pacientes segundo os medicamentos utilizados após exame clínico e coleta de material para diagnóstico laboratorial nos grupos com e sem ceratite, Campo Grande/MS – 2014.....	41
Tabela 9 – Número e porcentagem de pacientes segundo evolução clínica nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ASD	Ágar Sabouraud Dextrose
BHI	Brain Heart Infusion
BGN	Bacilo Gram-negativo
CIM	Concentração Inibitória Mínima
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FLA	Free-Living <i>amoeba</i> - Ameba de vida livre
KA	Ceratite por <i>Acanthamoeba</i>
KOH	Hidróxido de Potássio
LASIK	<i>Laser in situ keratomileusis</i>
LC	Lentes de contato
MDR	Multidrogas resistentes
PIO	Pressão intraocular
PHMB	Polyhexametileno biguanida

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Fisiopatologia da ceratite.....	14
2.2 Ceratite bacteriana.....	17
2.3 Ceratite fúngica.....	20
2.3.1 Ceratite por Microsporidia.....	22
2.4 Ceratite por Acanthamoeba.....	24
3 OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo geral.....	28
3.2 Objetivos específicos.....	28
4 METODOLOGIA	29
4.1 Tipo de pesquisa, local e período de estudo.....	29
4.2 Sujeitos da pesquisa.....	29
4.3 Procedimentos para coleta de dados.....	29
4.4 Fatores associados à ocorrência de ceratite.....	30
4.5 Manifestações clínicas.....	30
4.6 Espécimes clínicos e exames microbiológicos.....	30
4.7 Procedimentos terapêuticos pós-coleta de material biológico e evolução clínica	31
4.8 Organização e análise de dados.....	32

4.9 Aspectos éticos.....	32
5 RESULTADOS.....	33
5.1 Fatores associados à ocorrência de ceratite	33
5.2 Manifestações clínicas e medicação prévia dos pacientes.....	35
5.3 Diagnóstico Laboratorial	37
5.4 Procedimentos terapêuticos pós-coleta e evolução clinica	41
6 DISCUSSÃO.....	43
7 CONCLUSÕES.....	52
8 REFERÊNCIAS.....	53
APÊNDICE A: Formulário para coleta de dados.....	67
APÊNDICE B: Formulário para coleta de dados na vigência de ceratite.....	68
ANEXO A: Termo de autorização para pesquisa em prontuário.....	70
ANEXO B: Parecer consubstanciado do CEP-UFMS.....	71
GLOSSÁRIO.....	74

1 Introdução

Ceratite microbiana representa importante causa de morbidade ocular em todo o mundo, principalmente quando tardiamente diagnosticada. Sua gravidade varia conforme a virulência do agente envolvido e condições clínicas do paciente. Pode ser causada por bactérias, fungos, protozoários e vírus ou associação desses micro-organismos (CAO et al., 2014).

A doença é caracterizada por ser um processo inflamatório agudo com lesão tecidual, presença de infiltrado epitelial e estromal, os quais conferem defeito macroscópico observado na córnea. Com a perda de epitélio, normalmente é formado um tecido cicatricial responsável pela opacidade. As complicações do processo infeccioso podem causar cegueira e evisceração do olho acometido. Na atualidade, ceratite é uma das principais indicações de transplantes de córnea em todo o mundo, principalmente entre pessoas que vivem no meio rural e de baixa escolaridade. (CAO et al., 2014; NEVES; BOTEON; SANTIAGO, 2010; PADMAJA; NAGESWARA RAO, 2014).

Estudos prévios descrevem que ceratite infecciosa normalmente ocorre em situações de caráter oportunista e multifatorial. As principais condições de risco descritas para o desenvolvimento de ceratite são: modificação da microbiota normal da conjuntiva por utilização de corticosteróides tópicos, presença de ceratite herpética, uso de lentes de contato (LC), destruição do epitélio da córnea por trauma, cirurgias, doenças oculares prévias ou diminuição da resistência do hospedeiro e uso de drogas imunossupressoras (BHARATHI et al., 2009; HÖFLING-LIMA et al., 2005).

A análise do raspado da córnea ou lentes de contato representa importante ferramenta para o diagnóstico diferencial, por meio de procedimentos como exames microscópicos após colorações específicas, cultura para bactérias, fungos e protozoários. A identificação do agente etiológico permite a instituição do tratamento adequado (KONDA et al., 2014).

Em um país de dimensões continentais como é o Brasil, com grandes diversidades sociais, econômicas, geográficas e culturais, o perfil dos achados

microbiológicos apresenta muitas variações entre as regiões. Há grandes áreas de atividade em agropecuária contrastando com regiões muito industrializadas. Em áreas de grande extensão territorial agropecuária como no Estado de Mato Grosso do Sul, existe ainda dificuldade de acesso aos centros especializados para o diagnóstico e tratamento de infecções oculares (GENARO et al., 2011; LANA; MASCARO; ARAÚJO, 2011; MARUJO et al., 2013).

Até o momento não se conhece a frequência nem se sabe quão grave são os casos de ceratite na população Sul-Matogrossense.

Sob este aspecto, a fim de entender melhor a dinâmica desta infecção que acomete a visão e que pode resultar na evisceração ocular, este trabalho se propôs a estudar pacientes portadores de afecções oculares, com e sem ceratite, de modo a identificar diferenças em relação à etiologia, procedimentos para diagnóstico, tratamento e evolução clínica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fisiopatologia da ceratite

O olho é um órgão praticamente impermeável aos agentes externos, desde que sua integridade esteja preservada. As lágrimas contêm diversas substâncias que atuam na defesa ocular como as imunoglobulinas, lactoferrina, interferon e lisozima. As pálpebras e os cílios, efetuam a ação mecânica do piscar de olhos, e protegem a córnea frente aos micro-organismos e partículas presentes nas margens palpebrais. Qualquer desequilíbrio nessa estrutura pode predispor à ocorrência de infecções não virais (BHARATHI et al., 2009).

A córnea é um tecido altamente especializado, responsável por quase três quartos das funções ópticas do olho, além de promover a proteção contra a invasão de micro-organismos. É constituída por cinco camadas (Figura 1), que lhe conferem resistência mecânica e proteção ao olho. O epitélio é a camada mais externa, seguida da membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet e endotélio (KANSKI & BOWLING, 2012).

A córnea não apresenta vasos sanguíneos e os nutrientes são supridos por meio da difusão dos leitos capilares periféricos, presentes no limbo. Os metabólitos são removidos através do humor aquoso na parte posterior e pelo filme lacrimal na parte anterior. A inervação da córnea é realizada por um plexo subepitelial e um plexo de estroma, supridos pela primeira divisão oftálmica do nervo trigêmeo, razão pela qual os processos patológicos provocam muita dor, fotofobia e lacrimejamento (MOORE; DALLEY; AGUR, 2011).

Ceratite é considerado um processo inflamatório da córnea, de natureza infecciosa ou não, caracterizada pela presença de lesão única ou múltipla, e de infiltrado supurativo sobrejacente a um defeito do epitélio (IBRAHIM; BOASE; CREE, 2009).

Cerca de 8 a 10 horas após a injúria da córnea, a Interleucina IL-8 induz atração de polimorfonucleares e neovascularização, que conferem opacidade à córnea (ELNER et al., 1991). Os infiltrados são compostos por células inflamatórias, debris celulares e extracelulares, podendo ser observados na ceratite microbiana e como resposta imunológica de hipersensibilidade na ceratite estéril ou não infecciosa (KANSKI & BOWLING, 2012).

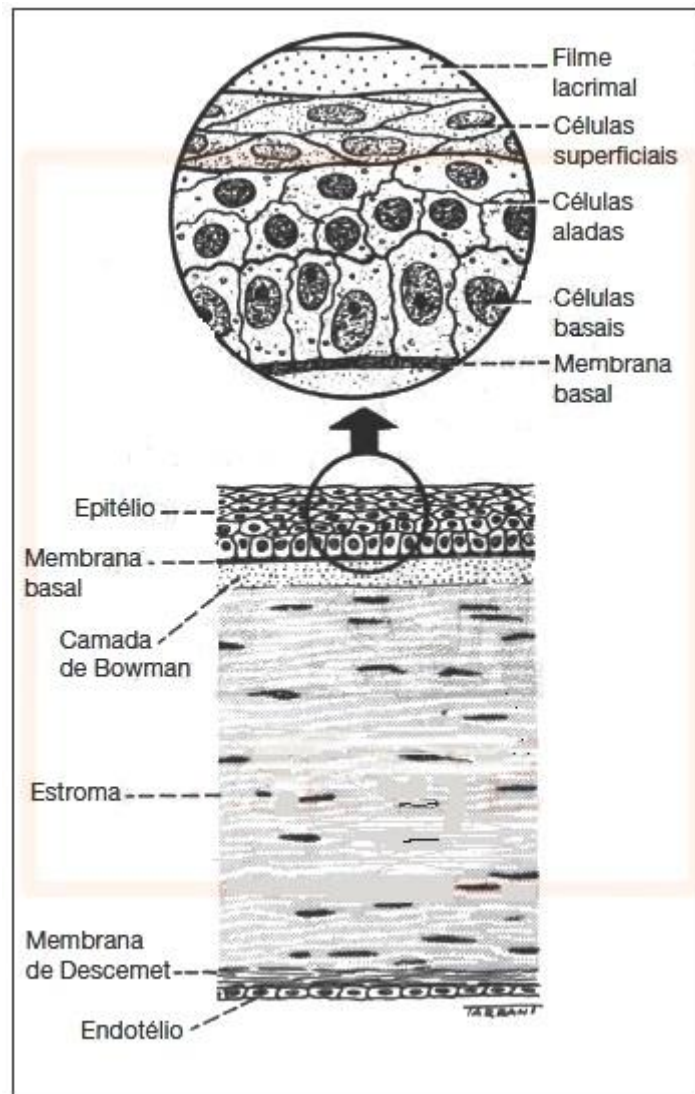


Figura 1 – Desenho ilustrativo das diferentes camadas da córnea.
 Fonte: Adaptado de KANSKI & BOWLING, 2012.

Durante o processo inflamatório da córnea, podem ocorrer complicações como o “Melting” (dissolução das fibrilas de colágeno do estroma) e Descemetocele (exposição da membrana de Descemet, que funciona com uma barreira de oposição à penetração do patógeno). O aprofundamento da lesão pode levar à perfuração da córnea (KANSKI & BOWLING, 2012; MONTE & STADTHERR, 2013).

Ceratite infecciosa é considerada importante causa de diminuição de visão e cegueira, responsável por grande parte dos transplantes de córnea no Brasil e em outros países em desenvolvimento. Já nos dos países desenvolvidos, o ceratocone,

que é uma doença estrutural não-inflamatória, contribui para a maioria dos transplantes (AMARAL et al., 2005; NEVES; BOTEON; SANO et al., 2008; SANTIAGO, 2010; TAN et al., 2008; TEIXEIRA et al, 2001; WHO, 2011, XIE et al., 2009).

Há uma série de fatores de risco associados à ocorrência de ceratite infecciosa de etiologia não viral, dentre eles os mais descritos são: traumatismo da córnea (vegetal, terra, lama), desordens lacrimais e da conjuntiva, doenças da córnea e da pálpebra, uso frequente de antibióticos e corticóides tópicos, cirurgia prévia e enfermidades sistêmicas (BHARATHI et al., 2009; GREEN; APEL, & STAPLETON, 2008; WHITCHER; SRINIVASAN; UPADHYAY, 2001).

Dentre as desordens lacrimais mais observadas, cita-se a síndrome do olho seco, a qual ocorre por diminuição da produção de lágrimas ou por aumento da evaporação. Os pacientes com este quadro relatam diversos sintomas como ardência nos olhos, prurido, sensação de corpo estranho, fotofobia, vermelhidão e acuidade visual diminuída (NARAYANAN et al., 2013).

Complicações pós-cirúrgicas oculares também tem sido associadas à ocorrência de ceratite. Após cirurgia de transplante de córnea, a presença de grandes infiltrados pode evoluir para quadros mais graves como endoftalmite, necessidade de novo transplante de córnea e evisceração do olho (JOIN; MURTHY; MOTUKUPALLY, 2014).

Leal et al. (2005), em estudo de ceratite infecciosa secundária à cirurgia refrativa, observaram que 42% dos pacientes submetidos à ceratotomia radical, 41% dos pacientes pós LASIK (*Laser-Assisted in Situ Keratomileusis*) e 17 % dos submetidos à ceratotomia fotorrefrativa, desenvolveram ceratite após o procedimento cirúrgico.

O uso de lentes de contato (LC) e de soluções para limpeza contaminadas, têm sido considerado como associado ao desenvolvimento de ceratite (MORIYAMA, HÖFLING-LIMA, 2008; VERANI et al., 2009).

Sabe-se que alguns micro-organismos podem aderir à superfície das LC, colonizar a córnea durante seu uso, e sobreviver no estojo porta lentes, principalmente quando manuseadas de forma inadequada. Usuários de LC com ceratite infecciosa, frequentemente relatam horas prolongadas de uso, manutenção das LC em soro fisiológico, e manuseio com mão sujas (CLAYDON; EFRON, 1994; OLIVEIRA et al., 2004).

Outro agravante reside no fato de que muitos indivíduos adquirem LC sem consultar um oftalmologista, sem prescrição médica ou orientação quanto a protocolos de higienização e uso das mesmas. Há inclusive relatos de usuários com ceratite que na vigência do quadro infeccioso estavam utilizando lentes cosméticas de outra pessoa (RASOULINEJAD et al., 2014). Estudo com diferentes marcas de LC evidenciou que os pigmentos presentes em algumas lentes, podem aumentar a aderência bacteriana e também provocar reações alérgicas. Conforme o modo de confecção e impregnação do corante nessas lentes podem ocorrer danos mais graves ao olho humano (CHAN; CHOA; BOOST, 2014).

É consenso entre diversos autores que tanto lentes rígidas quanto as gelatinosas, confeccionadas a partir de materiais com grande permeabilidade ao oxigênio, influenciam negativamente as taxas de proliferação do epitélio central da córnea, o que indica que a presença mecânica da lente, pode alterar a homeostase epitelial em comparação com não usuários de lentes (KEAY; EDWARDS; NADUVILATH, 2006; ROBERTSON, 2013).

Além dos fatores de risco previamente citados para ocorrência de ceratite, há outros referentes a variáveis geográficas e climáticas. Bactérias são mais comumente isoladas em clima temperado e fungos em clima tropical (STAPLETON, et al., 2007). Na Ásia, há maior frequência de ceratite entre jovens e adolescentes, particularmente devido ao uso de lentes de contato, facilmente adquiridas em óticas ou pela Internet (CHAN; CHOA; BOOST, 2014).

De acordo com estudos prévios, sabe-se que em todo o mundo as infecções bacterianas são predominantes, seguidas das infecções fúngicas, virais e por protozoários (GREEN; APEL; STAPLETON, 2008; LAVINSKY; AVNI-ZAUBERMAN; BAREQUET, 2013; MORIYAMA; HÖFLING-LIMA, 2008).

2.2 Ceratite bacteriana

A córnea por não possuir vascularização, propicia a infecção bacteriana, geralmente muito agressiva quando o tratamento não é iniciado rapidamente. A formação de abscesso por presença de polimorfonucleares, pode levar a perfuração da córnea em menos de 24 horas (JOIN; MURTHY; MOTUKUPALLY, 2014).

Os achados clínicos mais frequentemente observados em ceratite bacteriana são: presença de hipópio, vascularização superficial ou hiperemia conjuntival, ulcerações do estroma, quemose e presença de secreção (IBRAHIM et al., 2011).

A inflamação persistente pode ocasionar alterações estruturais e funcionais do olho acometido com sequelas como opacificação, desorganização do segmento anterior do olho, glaucoma secundário, perfuração da córnea e endoftalmite (HENRY et al., 2012).

O diagnóstico microbiológico das ceratites bacterianas é realizado mediante a observação de lâminas por colorações específicas (Gram, Ziehl-Neelsen) e a inoculação em meios de cultura adequados (ágar sangue de carneiro, ágar chocolate, brain heart infusion e caldo thioglicolato) (BOURCIER et al., 2003; PASSOS, et al., 2010)

As espécies mais isoladas em ceratites bacterianas são *Staphylococcus coagulase negativo* (SCN), seguido de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e bacilos Gram-negativos como *Pseudomonas aeruginosa* (IBRAHIM et al., 2011; JOIN; MURTHY; MOTUKUPALLY, 2014; PASSOS et al., 2010; ROCHA et al., 2011; UMAMAGESWARI; JEYA; SUJA, 2013).

O isolamento de SCN como agente de ceratite deve levar a uma reflexão, visto que normalmente são considerados como parte da microbiota normal das margens palpebrais. A identificação à nível de gênero e espécie, se faz importante para o tratamento. *Staphylococcus lugdunensis*, por exemplo, é uma espécie de SCN, que apresenta concentração inibitória mínima (CIM) mais alta frente a drogas usualmente utilizadas em tratamento empírico de ceratite bacteriana, e já foi responsabilizado por ceratite supurativa com perfuração da córnea em paciente idosa (INADA et al., 2014).

As ceratites por espécies de *Staphylococcus* e *Streptococcus* apresentam-se de aspecto redondo, de cor branco-acinzentada e rodeada por pequena zona de edema. A lesão pode permanecer inalterada por 1 a 2 dias após o início da terapêutica e melhora com cicatrização entre 7 a 10 dias (ALVES & ANDRADE, 2000). Infecções por *Staphylococcus* podem exibir ainda infiltrados múltiplos, profundos, e microinfiltrados adjacentes à lesão principal, simulando lesões satélites que são típicas de infecção fúngica (KAUFMAN et al., 2000). A natureza citolítica da alfa-toxina é um dos principais fatores de virulência nas ceratites por *Staphylococcus*

aureus, responsáveis pela destruição do epitélio, invasão do estroma e ulceração da córnea (CALLEGAN et al., 1994).

Dentre as infecções por bacilos Gram-negativos (BGN), *Pseudomonas aeruginosa* é um dos patógenos mais frequentemente isolados em infecções de córnea, principalmente associados ao uso de lentes de contato (BENHMIDEUNE, et al., 2013; IBRAHIM et al., 2011; KONDA et al., 2014). Já é bem conhecido que a formação de biofilme é um dos principais fatores de virulência desse micro-organismo. Faz-se importante destacar, que esses micro-organismos costumam ser resistentes a drogas como as fluoroquinolonas (CHOY et al., 2008). Cepas invasivas produzem altos níveis de proteases e causam ceratite mais severa, com perda do epitélio na área afetada e exposição do estroma (ZHU; THURUTHYIL; WILLCOX, 2002).

Pseudomonas aeruginosa produz úlcera extensa, rapidamente progressiva, geralmente com hipópio, estroma necrótico e secreção amarelo-esverdeado, aderida à superfície da úlcera com aspecto de vidro fosco. Persiste na córnea por cerca de dez a quatorze dias, o que requer uma terapêutica prolongada até completa cicatrização do epitélio (ALVES & ANDRADE, 2000).

Outros BGN como *Acinetobacter baumannii*, *Elisabethkingia meningoseptica* e *Burkholderia cepacia* já foram relatados como agentes de ceratite microbiana, isolados de lentes de contato e estojos. *Burkholderia cepacia* causa infecção em pacientes imunodeprimidos assim como indivíduos saudáveis. Estudo prévio mostra casos de ceratite e endoftalmite, após cirurgia de catarata (ÖRNEK; ÖZDEMİR; ERGIN, 2009).

Infecções por *Elisabethkingia meningoseptica* são de difícil tratamento, pois apresentam resistência frente à aminoglicosídeos, tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, clindamicina e teicoplanina, mas resultados favoráveis com fluoroquinolonas (LI & JHANJI, 2014).

Com o advento de colírios antibióticos de amplo espectro como as fluoroquinolonas, foi possível instituir o tratamento com monoterapia, agregando maior segurança ao tratamento da ceratite bacteriana. As quinolonas tem a capacidade de chegar a uma CIM para a maioria das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além de diminuir o custo e o risco da manipulação dos colírios fortificados. As fluoroquinolonas diminuiram o risco de desconforto ocular quando comparado com associação de aminoglicosídeos e cefalosporinas, mas não foi

observada diferença de efetividade terapêutica entre os dois esquemas no tratamento dos pacientes (GANGOPADHYAY et al., 2000; MCDONALD et al., 2014).

As fluoroquinolonas, em formulações oftalmológicas, apresentam amplo espectro de ação com eficácia frente à maioria das bactérias, tem baixo custo, pH estável e baixo risco de contaminação pois já são comercializados como colírios prontos para uso, razão de sua ampla utilização (LANA; MASCARO; ARAÚJO, 2011).

2.3 Ceratite fúngica

Ceratite fúngica é considerada afecção oportunista de zonas tropicais e rurais, associadas geralmente a trauma por material vegetal, e nos países desenvolvidos, secundária ao uso de lentes de contato (IYER; TULI; WAGONER, 2006).

No período de 2001 a 2007, foi observada a ocorrência de numerosos casos de ceratite por *Fusarium* spp, entre usuários de lentes de contato nos Estados Unidos. Esse fato foi relacionado a uma solução de manutenção de lentes de contato contaminada por *Fusarium*, e à capacidade desse fungo em formar biofilme, aderir às LC e estojos porta lentes (GOWER et al., 2010).

A frequência de ceratite fúngica apresenta índices que variam de 6 a 60% em diferentes regiões geográficas, com uma tendência a maior número de casos em regiões de clima subtropical e tropical (GOPINATHAN et al., 2009).

A análise do monitoramento da venda de colírio antifúngico, no período de Julho 2002 a Junho de 2008, permitiu correlacionar com a distribuição geográfica e sazonal de ceratite fúngica no Brasil, no mesmo período. Foi possível estimar a incidência de casos de ceratite fúngica em 9,01/milhão de habitantes ao ano, e quanto à sazonalidade, o período de maior número de vendas coincide com os meses de umidade do ar mais baixa. Os colírios antifúngicos no Brasil são vendidos por somente um laboratório farmacêutico oftalmológico (Ophthalmos), o que viabilizou a pesquisa (IBRAHIM et al., 2012).

A evolução clínica de ceratite fúngica geralmente é grave. Ao exame oftalmológico é possível observar o comprometimento epitelial, estromal e do endotélio, com severa reação da câmara anterior. Medidas cirúrgicas podem ser necessárias para remoção do tecido lesado, transplante de córnea ou enucleação nos casos mais severos (CARVALHO et al., 2001; O'NEIL et al., 2014; TULI, 2011).

O diagnóstico da ceratite fúngica é baseado no exame clínico e exames laboratoriais. Ao exame clínico, o oftalmologista pode suspeitar da natureza da ceratite, porém o diagnóstico se estabelece perante a visualização de estruturas fúngicas, em raspado de córnea e cultura para fungos. Em alguns casos, torna-se necessária realização de biópsia da córnea ou paracentese de câmara anterior (humor aquoso) para a pesquisa do agente etiológico (DALMON et al., 2012; IBRAHIM et al., 2011; PUNIA et al., 2014).

A ceratite causada por fungos tem a característica de invadir o estroma corneano mais facilmente, podendo não ser visualizado na pesquisa de fungos por microscopia e apresentar crescimento em meio de cultura específico como ágar Sabouraud dextrose (ASD). A visualização de formas fúngicas é possível em exame direto com hidróxido de potássio (KOH) a 10%, o que oferece subsídios para direcionar o tratamento inicial. O crescimento em meio de cultura ASD, é utilizado para o isolamento do fungo e posterior identificação por testes microbiológicos específicos (CARVALHO et. al, 2001; MELLADO; ROJAS; CUMSILLE, 2013).

Diante disso, é importante realizar a pesquisa e cultura, pois o diagnóstico precoce permite tratamento adequado, diminuição da penetração do fungo e consequente diminuição do comprometimento da córnea, por ação de enzimas proteolíticas e micotoxinas, e sequelas como perfuração da córnea e descemetocelose (BADIEE, 2013).

Fungos filamentosos como *Fusarium*, *Aspergillus*, *Curvularia* e os leveduriformes como a *Candida*, são os mais envolvidos em ceratomicoses. O maior fator predisponente para ceratite por fungos filamentosos é o trauma, enquanto que *Candida albicans* está normalmente relacionada à doença ocular pré-existente, uso de corticosteroides tópicos crônicos e pós- cirúrgicos ou doenças sistêmicas como Diabetes mellitus e condições de imunossupressão (HÖFLING-LIMA et al., 2005; MÜLLER; KARA-JOSÉ; CASTRO, 2012; SALERA et al., 2002).

Dentre os fungos filamentosos demáceos, *Fonsecaea pedrosoi*, *Phoma* sp, *Phaeostaria* sp e *Exserohilum rostratum* são raramente relatados como agentes de ceratite (ANDRADE et al., 2000).

A ceratite fúngica é de pior prognóstico que a bacteriana, pela limitação na eficácia do esquema terapêutico frente a todos os fungos, e pela dificuldade de penetração do antifúngico. Inicialmente a terapia é realizada com base na suspeita clínica, sendo natamicina a droga de primeira escolha para fungos filamentosos.

Anfotericina B é amplamente utilizada nas ceratites por fungos leveduriformes, sendo fármaco de primeira linha frente à *Candida* spp, pós debridamento para melhor penetração (LOH et al., 2009 a).

Em países como a Índia, a ceratomicose é mais frequente que na América do Norte, Europa e Austrália (Shah et al., 2011). Por essa razão, outros antifúngicos além da anfotericina B e natamicina, estão disponíveis em formulações oftalmológicas, à base de fluconazol e miconazol (TULI 2011).

Nos últimos anos, o voriconazol tem sido considerado uma alternativa promissora para o tratamento de ceratite fúngica. Estudos tem demonstrado que voriconazol apresenta boa penetração no tecido ocular, amplo espectro de ação frente a diferentes infecções fúngicas, porém seu elevado custo tem dificultado seu uso generalizado (MELLADO; ROJAS; CUMSILLE, 2013).

Medicamentos como os inibidores da calcineurina (tacrolimus e ciclosporina), parecem apresentar potencial efeito antifúngico quando em uso tópico, na profilaxia da rejeição de transplantes de córnea. A calcineurina é uma proteína citoplasmática, presente em diversas células, incluindo os linfócitos e células dendríticas, que controla com eficácia o processo inflamatório. Nas espécies de *Candida*, a ação da calcineurina está relacionada a fatores de virulência como a filamentação e resistência à anfotericina B. Imunossupressores como tacrolimus e ciclosporina são conhecidos por inibir esta ação (STONE; TAN, 2014).

2.3.1 Ceratite por *Microsporidia*

O Filo *Microsporidia* compreende pequenos parasitos eucarióticos, intracelulares obrigatórios, com aproximadamente 160 gêneros e 1200 espécies, encontrados em diversos hospedeiros como mamíferos, anfíbios, répteis e aves (MATHIS; WEBER; DEPLAZES, 2005). Cerca de seis gêneros e doze espécies tem sido descritos como patógenos humanos, incluindo os gêneros *Enterocytozoon*, *Encephalitozoon*, *Pleistophora*, *Trachipleistophora*, *Vittaforma* e *Nosema*, além de outros não classificados e coletivamente denominados *Microsporidium* (Weber et al., 1994).

Microsporidia por muito tempo foi considerado protozoário e após análises filogenéticas da subunidade da RNA Polimerase II (RPBI), observou-se que este micro-organismo era geneticamente relacionado ao reino Fungi (HIRT et al., 1999).

A comprovação de sua origem comum com fungos ocorreu após reanálise ribossomal do RNA de *Microsporidia*, e a descoberta de DNA mitocondrial tipo “chaperone” (KATINKA et al., 2001; VAN de PEER; BEN ALI; MEYER, 2000).

Mais da metade das espécies de *Microsporidia* parasita insetos e poucas espécies causam infecção em humanos. Geralmente é observada em infecção intestinal em pacientes com HIV/AIDS. O homem pode infectar seus olhos com esses micro-organismos, banhando-se em área rural em que a água esteja contaminada por larvas de insetos parasitados (CURRY et al., 2007).

Com o advento da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) em 1981, algumas infecções causadas por patógenos oportunistas começaram a ser observadas, dentre elas as causadas por *Microsporidia*. A identificação de uma nova espécie patogênica para o homem em 1985 (*Enterocytozoon bieneusi*), e a observação de casos de ceratoconjuntivite por *Encephalitozoon* em pacientes com AIDS, revelaram o papel patogênico deste micro-organismo (BRASIL; LIMA; MOURA, 1997, THENG et al., 2001).

Microsporidia é importante patógeno emergente, acometendo não só pacientes imunossuprimidos, mas também indivíduos imunocompetentes (ABREU-ACOSTA et al., 2005; DIDIER, 2005).

Ceratite por *Microsporidia* é frequentemente relatada na Índia e Singapura, principalmente em períodos chuvosos, por contaminação com água suja ou lamacenta, ou águas quentes em estâncias termais (FAN et al., 2011; LAM; WONG; CHUANG, 2013).

As manifestações oculares podem ocorrer de duas formas, de acordo com o estado imune do paciente: ceratoconjuntivite como doença autolimitada em indivíduos imunocomprometidos, e ceratite estromal, profunda progressiva lenta geralmente unilateral, em imunocompetentes (LOH et al., 2009 b).

A ceratoconjuntivite tem início súbito, geralmente unilateral, com dor, hiperemia ocular, fotofobia. É caracterizada por lesões punctatas no epitélio da córnea e reação papilar e folicular, semelhante ao aspecto de ceratoconjuntivite aguda por Adenovírus ou Herpesvírus simples (HSV), porém mais grosseiras (LOH et al., 2009 b).

A ceratite estromal é uma forma rara de ceratite por *Microsporidia*, com poucos relatos em todo o mundo. Apresenta curso indolente e duração média de 332 dias antes do início dos sintomas. São considerados fatores predisponentes:

trauma, água contaminada, contaminação oro-fecal e contato com animais domésticos portadores. O aspecto é similar a ceratite por Herpes vírus simples ou ceratite fúngica, sendo caracterizada por múltiplos infiltrados exsudativos profundos, edema estromal sobrejacente e precipitados na córnea, com ou sem vascularização profunda e ceratite ulcerativa. Com certa frequência, o diagnóstico é demorado, em média 17,5 dias, e tratado inicialmente como ceratite estromal por Herpes vírus simples em aproximadamente 55% dos casos (GARG, 2013).

O diagnóstico microbiológico de ceratite por *Microsporidia* é feito em raspado de córnea ou biópsia, submetidos à KOH 10% e calcofluor branco, examinado em microscopia de fluorescência, ou após a coloração pelo método de Ziehl- Neelsen modificado. É possível também a visualização desse fungo pela coloração de Gram, como esporos ovais, pequenos, corados como Gram-positivo (JOSEPH et al., 2006; SHARMA et al, 2011).

A definição de microsporidiose ocular pode ser feita pela microscopia após coloração, mas a identificação de gênero e espécie só pode ser realizada por meio de microscopia eletrônica ou biologia molecular (VERMUGANTI et al., 2005).

Microsporidia é refratário às terapias antimicrobianas tradicionais, devendo ser considerado em ceratoconjuntivite em que não há melhora com tratamentos convencionais, e na presença de culturas negativas para outros micro-organismos. A biópsia de córnea, o exame histopatológico e o exame ultraestrutural, são vitais para estabelecer o diagnóstico de ceratite (RAUZ et al., 2004).

O tratamento é realizado utilizando uma variedade de drogas antiparasitárias de uso tópico como fumagilina, propamidine isethionate e polyhexametileno biguanida (PHMB), ou drogas antifúngicas como a natamicina com ou sem terapia sistêmica com albendazol ou itraconazol (FONT et al., 2000; REDDY et al., 2011).

2.4 Ceratite por *Acanthamoeba*

Acanthamoeba sp, é ameba de vida livre (AVL) geralmente encontrada no solo, ambientes de água fresca ou levemente salgada e no ar. Já foi isolada em todos os continentes, e em diversas altitudes. Apresenta uma forma de resistência (cisto) que lhe permite sobreviver em condições extremas de pH e temperatura, assim como resistir à ação do cloro e outros tratamentos físico-químicos (DE JONCKHEERE, 1991; RODRÍGUEZ-ZARAGOZA, 1994).

De acordo com estudo prévio, o encontro de amebas potencialmente patogênicas na poeira de ambiente hospitalar (*Acanthamoeba* e *Naegleria*) constitui um indicador da possibilidade de aquisição da parasitose nestes ambientes, o que representa potencial risco para indivíduos com imunidade deprimida (SILVA; ROSA, 2003).

Outro aspecto preocupante das infecções por *Acanthamoeba* é a possibilidade da associação de AVL com outros micro-organismos. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Legionella spp*, *Listeria monocytogenes* e *Mycobacterium spp*, podem viver e proliferar no interior dessas amebas. *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium sp* e vírus, já foram isolados do interior de amebas de vida livre (SCHEID, 2014; SCHUSTER; VISVESVARA, 2004; WALOCHNIK, et al., 1999).

A contaminação pode ocorrer por água, partículas do ar e solo contendo cistos de *Acanthamoeba*. A invasão do sistema nervoso central causa meningoencefalite amebiana primária e encefalite amebiana granulomatosa. Entre outros sítios envolvidos, cita-se a pele, pulmões e olhos. É mais comum em usuários de lentes de contato, decorrente de microtraumatismos, manutenção e limpeza inadequadas das lentes e do estojo em que as LC são guardadas (SCHEID, 2014; SCHUSTER & VISVESVARA, 2004).

A maioria das patologias oftalmológicas por AVL compreendem ceratites ou ceratoconjuntivites, com sintomatologia definida com dor intensa, desproporcional aos sinais clínicos, fotofobia, diminuição da visão e lacrimejamento (NAGINTON et al., 1974).

O acometimento conjuntival por *Acanthamoeba* foi descrito por Ruthes et al., (2004) em pacientes refratários ao tratamento habitual de infecção ocular externa. Os exames laboratoriais de microscopia e cultura revelaram a presença de cistos e trofozoítos de *Acanthamoeba*. Os pacientes apresentavam conjuntivite crônica, com hiperemia e secreção em alguns casos, e os sintomas observados, com alguma diferença entre os pacientes, foram a visão turva, fotofobia, prurido, sensação de corpo estranho, ardência e lacrimejamento de forma crônica e sem etiologia definida.

A ceratite por *Acanthamoeba* pode ser causada por várias espécies deste protozoário, sendo mais isoladas *Acanthamoeba castellanii*, *A. hatchetti*, *A. polyphaga*, *A. quina* e *A. rhyodes* (CERULLI et al., 1998).

Bharathi et al. (2009), relataram casos de ceratite por AVL em não usuários de lentes de contato, e relacionaram a infecção a trauma com terra molhada ou material vegetal.

A infecção por AVL associada com microtraumas da córnea ou uso de LC em pessoas saudáveis, já é conhecida. A perda da integridade da superfície da córnea favorece a penetração do protozoário e a formação de infiltrado em anel, com dor de grande intensidade, refratário ao tratamento com antimicrobianos normalmente utilizados em oftalmologia. Os primeiros relatos de ceratite por *Acanthamoeba* são dos anos 1970, geralmente decorrentes de trauma e limpeza posterior com água não tratada (JONES; VISVESVARA; ROBINSON, 1975; NAGINTON et al., 1974; PACELLA et al., 2013).

Ceratite por *Acanthamoeba* pode ser diagnosticada pela detecção de trofozoítos ou cistos em amostra de raspado da base e margens da lesão na córnea, submetidos à pesquisa direta ou por coloração. A cultura do protozoário a partir de raspado da córnea, solução das lentes de contato ou do estojo das LC, é realizada em meio pobre de nutrientes, acrescido de *Escherichia coli* inativada. Este é um procedimento realizável, de baixo custo, e uma alternativa menos invasiva que a biópsia de córnea (BORIN et al., 2013).

A visualização direta de cistos no tecido da córnea é possível pela microscopia confocal, método de diagnóstico não invasivo, que pode ser utilizado para monitorar a resposta ao tratamento e prognóstico da ceratite (YUEHUA; XIANMIN; LINZHE, 2014).

O tratamento de ceratite por *Acanthamoeba* envolve a aplicação de amebicidas tópicos. A combinação de digluconato de clorexidina e de PHMB representam as drogas de primeira linha, podendo ser utilizados em mono ou duoterapia. Agentes como hexamidine di-isetionato, um homólogo da propamidina, e propamidina, também tem sido utilizados. Várias combinações destes e outros agentes têm sido empregados, muitas vezes resultando em cura médica, especialmente quando o tratamento é instituído no início do curso da doença (PÉREZ-SANTOJA et al., 2003)

Faz-se importante destacar que os cistos de *Acanthamoeba* podem persistir por meses na córnea, após o tratamento, sendo possível ocorrer recidiva ou inflamação persistente na ausência de atividade da infecção amebiana (YANG et al., 2001).

Diante do exposto, em relação às características clínicas apresentadas nos casos de ceratite infecciosa segundo o tipo de micro-organismo envolvido, a utilização de exames laboratoriais tem papel relevante, pois auxilia o oftalmologista quanto à identificação dos agentes infecciosos e tratamento antimicrobiano (LANA; MASCARO; ARAÚJO, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estudar pacientes com afecções oculares, a fim de identificar os fatores associados à ocorrência ou não de ceratite, procedimentos para diagnóstico, tratamento e evolução clínica.

3.2 Objetivos específicos

- 1) Identificar fatores associados à ocorrência ou não de ceratite.
- 2) Descrever as manifestações clínicas observadas nos pacientes.
- 3) Identificar os agentes etiológicos e técnicas laboratoriais utilizadas para diagnóstico.
- 4) Levantar dados referentes à terapêutica e evolução clínica.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de pesquisa, local e período de estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico do tipo caso-controle, realizado em um centro especializado em oftalmologia, na cidade de Campo Grande, MS, para obtenção de dados de pacientes provenientes da capital e de cidades do interior de Mato Grosso do Sul, atendidos no período de 2009 a 2013.

4.2 Sujeitos da pesquisa

Pacientes com afecções oculares atendidos em centro especializado oftalmológico, submetidos ao exame clínico por meio de biomicroscopia e com suspeita de processo de origem infecciosa.

Como critérios de inclusão foram considerados ter idade igual ou acima de 18 anos e ter sido submetido à coleta de material biológico para identificação do agente etiológico: bactérias, fungos e protozoários.

Foram excluídos do estudo crianças, gestantes e indígenas.

Os pacientes com afecções oculares foram divididos em dois grupos, denominados casos e controles:

a) **casos** – pacientes com manifestações clínicas e diagnóstico de ceratite, devido presença de defeito epitelial, infiltrado epitelial ou estromal, evidenciado pelo exame de biomicroscopia.

b) **controles** - pacientes com outras afecções oculares que não ceratite, com suspeita clínica de conjuntivite, infecção por *Chlamydia tracomatis*, endoftalmite, blefarite, dacriocistite, entre outras não localizadas na córnea.

4.3 Procedimentos para coleta de dados

Os dados de interesse para o estudo foram obtidos no sistema informatizado do Centro de Oftalmologia, em formulário elaborado (Apêndice A) para a pesquisa.

As variáveis de estudo foram as seguintes: características sócio-demográficas, possíveis fatores predisponentes, sintomas, sinais clínicos, tipo de

material enviado para o exame laboratorial, resultados de exames microbiológicos, tratamento pré e pós a identificação do micro-organismo e evolução clínica.

4.4 Fatores associados à ocorrência de ceratite

Para identificar os fatores associados ou não à ocorrência de ceratite, foram estudadas características sócio-demográficas como sexo, idade e atividade laboral, e outros fatores tais como: presença de comorbidades, o uso de lentes de contato, cirurgia prévia, tipo de trauma e lesões ou aspectos clínicos concomitantes.

4.5 Manifestações clínicas

As manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes foram observadas no momento do exame clínico e anotadas nos respectivos prontuários. Os sintomas e sinais observados como queixa de dor, fotofobia, sensação de areia nos olhos, vermelhidão, prurido ocular, diminuição do campo de visão, lacrimejamento ardente, edema palpebral e secreção mucopurulenta. Foram anotadas em formulário específico para este estudo (Apêndice A).

4.6 Espécimes clínicos e exames microbiológicos

A análise microbiológica incluiu pesquisa e cultura para bactérias e fungos e pesquisa para *Acanthamoeba*. Foi realizada pelo mesmo laboratório de microbiologia (único disponível na região, com técnicas microbiológicas adaptadas para a parte oftalmológica). Esse encaminhamento fazia parte da rotina do centro especializado em oftalmologia.

No grupo casos, a coleta foi realizada pelo médico oftalmologista, com lâmina de bisturi nº 15, para obtenção de raspado da região marginal e região profunda da lesão observada na córnea. O material proveniente de biópsia foi utilizado em alguns casos de perfuração ou transplante de córnea.

Nas situações de ceratite com amostra insuficiente, ou quando não foi possível a coleta de material devido afinamento da córnea do usuário, foram utilizadas as lentes de contato para análise microbiológica.

O grupo controle apresentou-se heterogêneo, composto por diversas formas de afecções oculares e a amostra foi colhida no laboratório de microbiologia conforme solicitação do médico oftalmologista. Nos casos de conjuntivite foi obtido material da conjuntiva, com auxílio de swab umedecido em soro fisiológico estéril, do saco palpebral e das margens palpebrais. Para dacriocistite, material purulento era coletado após massagem do saco lacrimal da ponta do nariz em direção ao canto interno do olho, e do canto externo na pálpebra superior em direção ao canto interno do olho. Lentes de contato eram utilizadas para análise microbiológica, quando observado efeitos adversos atribuídos ao uso das mesmas.

Nos quadros com suspeita de acometimento intraocular, a coleta foi realizada por punção de humor aquoso, aspirado intravítreo, realizada pelo oftalmologista.

Quando a suspeita era de infecção por Chlamydia, a coleta era realizada pelo médico oftalmologista após eversão da conjuntiva tarsal, utilizando lâmina de bisturi nº 15, para pesquisa por imunofluorescência direta.

No laboratório de microbiologia, as amostras clínicas coletadas foram aplicadas em lâminas de microscopia, novas e limpas com álcool 70^o, para confecção de esfregaços posteriormente submetidos à coloração e observação ao microscópio. A análise após coloração de Gram, Giemsa e Ziehl-Neelsen modificado, forneceu os resultados preliminares para pesquisas de bactérias, fungos e protozoários.

Uma segunda parte da amostra clínica foi inoculada em meios de ágar sangue de carneiro, ágar chocolate, ágar sabouraud dextrose (ASD), e caldos Brain Heart Infusion (BHI) e tioglicolato, para identificação de agente etiológico conforme laudos dos exames microbiológicos. A identificação de agente etiológico foi feita por meio de técnicas manuais padronizadas (KONEMAN et al, 2008; MURRAY et al., 2006).

4.7 Procedimentos terapêuticos pós-coleta de material biológico e evolução clínica

Dados à respeito do tratamento foram colhidos dos prontuários dos pacientes, tratados com antibióticos ou antifúngicos, conforme primeira impressão do médico oftalmologista ao exame clínico, sinais e sintomas. Quando necessário, o tratamento foi adequado após os resultados preliminares fornecidos pela observação das

lâminas após coloração, e posteriormente pela identificação do agente etiológico em cultura.

A evolução clínica nos grupos casos e controles foi estudada conforme a presença ou não de recidiva, sequelas, perfuração de córnea, transplante, evisceração e necessidade de correção por colocação de prótese ou enxerto de esclera.

4.8 Organização e análise de dados

Os dados foram tabulados em planilha Excell® para posterior realização de análises estatísticas pertinentes. Para verificar possíveis associações entre as variáveis de estudo foi utilizado o teste Qui-Quadrado ou Exato de Fisher, ao nível de significância de 5%. Para estimar as razões de chance (OR = *odds ratio*) ajustadas com os respectivos intervalos de confiança de 95%, foi utilizada a Regressão Logística, na qual primeiramente foram pré-selecionadas as variáveis com significância < que 20%, que posteriormente foram sendo excluídas mediante seleção “para trás” (backward selection), a fim de detectar confundimentos importantes. Os programas utilizados foram os seguintes: EPI INFO versão 7 (Centers for Diseases Control and Prevention, Atlanta/Geórgia/Estados Unidos) e Bio Estat 5.3 (Sociedade Mamirauá, Belém/Pará/Brasil).

4.9 Aspectos éticos

A coleta de dados foi autorizada pela Diretoria do Centro Oftalmológico (Anexo A). Todos os indivíduos participantes do estudo foram resguardados de suas identidades, convênio médico, classe social, étnica. Os profissionais envolvidos no diagnóstico, coleta de material para exame, e realização dos exames laboratoriais não foram citados ou expostos para não caracterizar negativamente nenhuma equipe médico-hospitalar. Esta pesquisa por estar baseada na compilação de dados clínicos, e resultados de exames realizados, não expôs ou prejudicou nenhum indivíduo envolvido.

Este estudo foi aprovado na Plataforma Brasil do Ministério da Saúde, sob o protocolo CAAE 22284913.1. 0000.0021 (Anexo B).

5 RESULTADOS

No período proposto, foram incluídos 111 pacientes com afecção ocular sendo: 64 com ceratite (casos) e 47 sem ceratite (controles).

5.1 Fatores associados à ocorrência de ceratite

As variáveis sócio-demográficas nos grupos com e sem ceratite são mostradas na Tabela 1, onde se observa que não houve associação entre as variáveis: sexo, faixa etária e a ocorrência de ceratite. Entretanto, houve associação entre trabalhar na agropecuária e a ocorrência de ceratite.

Tabela 1 – Número e porcentagem de pacientes segundo variáveis sócio-demográficas nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014

Variáveis	Ceratite				p
	Casos (n=64)		Controles (n=47)		
	Nº.	%	Nº.	%	
Sexo					
Masculino	36	56,2	22	46,8	(1) 0,325
Feminino	28	43,8	25	53,2	
Faixa etária					
De 18 a 20 anos	6	9,4	4	8,5	(2) 0,193
De 21 a 40 anos	34	53,1	18	38,3	
De 41 a 60 anos	14	21,9	15	31,9	
De 61 a 85 anos	10	15,6	10	21,3	
Atividade laboral					
Sem informação	1	1,6	1	2,1	(1) <0,001
Aposentado / do lar / estudante	23	35,9	19	40,4	
Agropecuária	21	32,8	1	2,1	
Prestação de serviços / comércio / indústria	19	29,7	26	55,3	

Nota: a categoria “sem informação”, quando presente, foi suprimida do cálculo estatístico.

(1) Teste Qui-quadrado.

(2) Teste Qui-quadrado de tendência.

Os dados apresentados na Tabela 2 revelam que não houve associação entre as comorbidades descritas, cirurgia ocular anterior (até 3 anos) e a ocorrência de ceratite. Porém, observa-se associação entre o uso lente de contato e a ocorrência de ceratite, mas não houve diferença na proporção de pacientes com uso

inadequado de lentes de contato nos grupos com e sem ceratite. Observa-se associação entre ter sofrido algum trauma ocular com vegetal, madeira, terra ou animal e a ocorrência de ceratite. Não houve diferença em relação às lesões ou aspectos clínicos concomitantes, tanto no grupo diagnosticado positivamente como nos pacientes sem ceratite.

Tabela 2 – Número e porcentagem de pacientes segundo variáveis clínicas nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014

Variáveis	Ceratite				p
	Casos (n=64)		Controles (n=47)		
	Nº.	%	Nº.	%	
Tipo de comorbidade ⁽¹⁾					
Diabetes	10	15,6	5	10,6	⁽²⁾ 0,448
Hipertensão arterial	2	3,1	1	2,1	⁽³⁾ 1,000
Anemia	2	3,1	-	-	⁽³⁾ 0,507
Câncer	2	3,1	-	-	⁽³⁾ 0,507
Cardiopatía	1	1,6	1	2,1	⁽³⁾ 1,000
Doença autoimune	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Sinusite	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Hipotireoidismo	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Lesões ou aspectos clínicos concomitantes ⁽¹⁾					
Neoplasia intraepitelial e conjuntival	8	12,5	1	2,1	⁽³⁾ 0,076
Blefarite	2	3,1	-	-	⁽³⁾ 0,507
Lagoftalmo	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Glaucoma	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Lesão de íris na infância	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Entrópio	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Processo infeccioso pós- cirúrgico	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Lesão na conjuntiva	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Uso de lentes de contato					
Sim	25	39,1	4	8,5	⁽²⁾ <0,001
Não	39	60,9	43	91,5	
Uso inadequado de lentes de contato					
Sim	11	17,2	8	17,0	⁽³⁾ 0,982
Não	53	82,8	39	83,0	
Cirurgia ocular anterior (até 3 anos)					
Sim	4	6,3	4	8,5	⁽³⁾ 0,720
Não	60	93,7	43	91,5	
Tipo de trauma ⁽¹⁾					
Com vegetal / madeira / terra / animal	19	29,7	-	-	⁽²⁾ <0,001
Objetos de metal	3	4,7	-	-	⁽³⁾ 0,261
Coçar os olhos	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000

⁽¹⁾ cada paciente poderia apresentar 1 ou mais tipos de comorbidades, traumas, lesões ou aspectos clínicos concomitantes.

⁽²⁾ Teste Qui-quadrado.

⁽³⁾ Teste de Fisher

De acordo com a análise de regressão logística (Tabela 3), a chance de ocorrer ceratite foi 45 vezes maior em pessoas cuja atividade laboral estava ligada à agropecuária e 16 vezes maior em usuários de lentes de contato.

Tabela 3 – Fatores associados à ocorrência de ceratite, Campo Grande/MS – 2014

Variáveis	p	Odds ratio (OR)	IC 95% (OR)
Atividade laboral (agropecuária)	<0,001	44,70	5,44 a 367,49
Uso de lentes de contato	<0,001	15,68	4,39 a 55,97
Comorbidade (Neoplasia intraepitelial e conjuntival)	0,134	6,15	0,57 a 66,22
Idade	0,467	1,01	0,98 a 1,04

5.2 Manifestações clínicas e medicação prévia dos pacientes

As principais manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes com afecções oculares (caso e controle) no momento do exame físico estão descritos na Tabela 4. Nos 64 pacientes com diagnóstico de ceratite, os sintomas mais descritos foram dor (47; 73,4%) e fotofobia (27; 42,2%). Entre 47 pacientes sem ceratite, as principais queixas foram: lacrimejamento ardente (17; 36,2%), vermelhidão (15; 31,9%) e sensação de areia nos olhos (13; 27,7%).

Segundo dados da Tabela 4, 38 (59,4%) pacientes com ceratite e 43 (91,5%) dos sem ceratite não utilizaram nenhum medicamento antes da coleta para exame microbiológico. Houve maior utilização de medicamentos nos pacientes com ceratite e os mais utilizados foram: fluoroquinolona 4^a geração (16; 25,0%) e aminoglicosídeos (11; 17,2%).

Tabela 4 – Número e porcentagem de pacientes segundo manifestações clínicas e medicação prévia administrada nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014

Variáveis	Ceratite				p
	Casos (n=64)		Controles (n=47)		
	Nº.	%	Nº.	%	
Sintomas e sinais ⁽¹⁾					
Dor	47	73,4	4	8,5	⁽²⁾ <0,001
Fotofobia	27	42,2	2	4,3	⁽²⁾ <0,001
Sensação de areia nos olhos	4	6,3	13	27,7	⁽²⁾ 0,002
Vermelhidão	4	6,3	15	31,9	⁽²⁾ <0,001
Prurido ocular	2	3,1	1	2,1	⁽³⁾ 1,000
Campo de visão diminuído	1	1,6	1	2,1	⁽³⁾ 1,000
Lacrimejamento ardente	-	-	17	36,2	⁽²⁾ <0,001
Edema palpebral	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Secreção mucopurulenta	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Medicamentos antes da coleta ⁽¹⁾					
Nenhum	38	59,4	43	91,5	⁽²⁾ < 0,001
Fluoroquinolona 4ª geração	16	25,0	1	2,1	⁽²⁾ 0,002
Aminoglicosídeos	11	17,2	-	-	⁽³⁾ 0,002
Aciclovir	4	6,3	-	-	⁽³⁾ 0,136
Anfotericina B	3	4,7	-	-	⁽³⁾ 0,261
Cefalosporina 3ª geração	2	3,1	2	4,3	⁽³⁾ 1,000
Ciprofloxacina	2	3,1	-	-	⁽³⁾ 0,507
Corticóide	2	3,1	-	-	⁽³⁾ 0,507
Sulfametoxazol Trimetoprina F	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Natamicina	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Cloranfenicol	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Decadron	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Propamidine Isethionate	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Lente Terapêutica	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Lubrificante Oftálmico	1	1,6	1	2,1	⁽³⁾ 1,000
Doxiciclina	-	-	3	6,4	⁽³⁾ 0,073
Bevacizumabe	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Vancomicina	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423

⁽¹⁾ cada paciente poderia apresentar 1 ou mais sintomas e um ou mais medicamentos.

⁽²⁾ Teste Qui-quadrado.

⁽³⁾ Teste de Fisher

5.3 Diagnóstico Laboratorial

Na Tabela 5 estão elencadas as principais amostras clínicas analisadas para exame microbiológico: raspado de córnea (47; 73,4%) nos pacientes com ceratite (n=64), seguido das lentes de contato (14; 21,9%). Nos pacientes sem ceratite (n=47) utilizou-se principalmente a secreção conjuntival (36; 76,6%) e conjuntiva tarsal (10; 21,3%).

Tabela 5 – Número e porcentagem de pacientes segundo amostra analisada para exame microscópico nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014

Amostra analisada ⁽¹⁾	Ceratite				P
	Casos (n=64)		Controles (n=47)		
	Nº.	%	Nº.	%	
Raspado de córnea	47	73,4	1	2,1	⁽²⁾ < 0,001
Lentes de contato	14	21,9	2	4,3	⁽²⁾ 0,009
Secreção conjuntival	4	6,3	36	76,6	⁽²⁾ < 0,001
Biópsia de córnea	3	4,7	-	-	⁽³⁾ 0,261
Secreção palpebral	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Intravítreo (Aspirado)	-	-	2	4,3	⁽³⁾ 0,177
Conjuntiva tarsal (Raspado)	-	-	10	21,3	⁽³⁾ < 0,001
Humor aquoso (Aspirado)	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423

⁽¹⁾ cada paciente poder ter 1 ou mais tipos de amostras analisadas.

⁽²⁾ Teste Qui-quadrado.

⁽³⁾ Teste de Fisher

Os resultados dos exames microbiológicos realizados para diagnóstico estão apresentados na Tabela 6. Nos pacientes com ceratite, foi observado maior número de estruturas fúngicas como filamentos micelianos hialinos septados (19; 29,7%) e estruturas características do protozoário *Acanthamoeba* (4; 6,3%), no exame microscópico corado. Enquanto que no grupo sem ceratite em amostras de dois (4,3%) pacientes foram observadas células leveduriformes e pseudo-hifas sugestivas de *Candida* sp.

No exame bacteriocópico (Gram) não houve diferença na quantidade de amostras oculares que apresentaram Cocos Gram positivos e Bacilos Gram-negativos em pacientes com e sem ceratite. No entanto, nos pacientes com ceratite

(n=64), houve maior percentual (12; 18,8%) de Bacilo Gram-negativo (+++) e polimorfonucleares (+++) (19; 29,7%).

Tabela 6 – Número e porcentagem de pacientes segundo resultados de exames microbiológicos nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.

Variáveis	Ceratite				P
	Casos (n=64)		Controles (n=47)		
	Nº.	%	Nº.	%	
Giemsa					
Leveduras e pseudo-hifas	5	7,8	2	4,3	(3) 0,131
Filamentos micelianos hialinos septados	19	29,7	-	-	(2) <0,001
Acanthamoeba	4	6,3	-	-	(3) 0,030
Leveduras	3	4,7	-	-	(3) 0,073
Artroconídeos	2	3,1	-	-	(3) 0,177
Ziehl-Neelsen modificado					
Esporos ovalados, corados em vermelho	1	1,6	-	-	(3) 1,000
Gram⁽¹⁾					
Polimorfonucleares	41	64,1	29	61,7	(2) 0,799
Cocos Gram-positivos	29	45,3	19	40,4	(2) 0,608
Bacilo Gram-negativo	19	29,7	14	29,8	(2) 0,991
Bacilos Gram-positivos	3	4,7	4	8,5	(3) 0,454
Cocos Gram-positivos aos pares	3	4,7	3	6,4	(3) 0,697
Coco-bacilo Gram-negativo	2	3,1	-	-	(3) 0,507
Bacilo Gram-negativo					
Pequena quantidade (+)	5	7,8	6	12,8	(3) 0,523
Moderada quantidade (++)	2	3,1	4	8,5	(3) 0,398
Grande quantidade (+++)	12	18,8	2	4,3	(2) 0,023
Bacilos Gram-positivos					
Pequena quantidade (+)	3	4,7	3	6,4	(2) 0,697
Moderada quantidade (++)	-	-	1	2,1	(3) 0,423
Coco-bacilo Gram-negativo					
Grande quantidade (+++)	1	1,6	-	-	(3) 1,000
Cocos Gram-positivos					
Pequena quantidade (+)	26	40,6	15	31,9	(2) 0,347
Moderada quantidade (++)	3	4,7	4	8,5	(3) 0,454
Grande quantidade (+++)	2	3,1	3	6,4	(3) 0,649
Polimorfonucleares					
Pequena quantidade (+)	14	21,9	18	38,3	(2) 0,059
Moderada quantidade (++)	6	9,4	7	14,9	(2) 0,372
Grande quantidade (+++)	19	29,7	6	12,8	(2) 0,035

(1) um ou mais tipos de micro-organismos identificados por Gram por paciente.

(2) Teste Qui-quadrado.

(3) Teste de Fisher.

Quanto à etiologia dos processos infecciosos, observou-se predomínio de infecção bacteriana (36; 76,6%) no grupo sem ceratite (n=47) e maior percentual de infecção fúngica (25; 39,1%) nos pacientes com ceratite (n=64). A relação dos agentes microbianos identificados está demonstrada na Tabela 7.

Em 10 pacientes foi identificado mais de um micro-organismo na mesma amostra clínica. Dentre esses, em sete, foram isolados concomitantemente, bactéria e fungo. Em dois pacientes foram identificados bactéria e protozoário e em um, infecção mista por bactéria, fungo e protozoário.

Nos pacientes com ceratite, as infecções bacterianas foram causadas principalmente por bacilos Gram negativos não fermentadores (13; 20,3%) e Enterobactérias (7; 10,9%). Não foi observada diferença no percentual de infecção dessas bactérias Gram negativas entre os grupos de pacientes com e sem ceratite. Nos pacientes sem ceratite houve maior percentual de infecção por *Staphylococcus aureus* (12; 25,5%) e *Chlamydia trachomatis* (5; 10,6%), quando comparado ao grupo com ceratite.

Os casos de ceratite fúngica foram causados principalmente por *Fusarium* sp e *Aspergillus* sp. Enquanto que no grupo controle, nenhum agente fúngico foi identificado (Tabela 7). Digno de nota a observação de *Microsporídia* em biópsia de córnea de paciente imunocompetente, com 40 anos de idade, e quadro grave de ceratite estromal. Documentam-se neste estudo ainda, quatro casos de ceratite por *Acanthamoeba*, sendo três associados ao uso de lentes de contato.

Tabela 7 – Número e porcentagem de pacientes segundo micro-organismos identificados nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.

Variáveis	Ceratite				p
	Casos (n=64)		Controles (n=47)		
	Nº.	%	Nº.	%	
Micro-organismo ⁽¹⁾					
Ausência ou não crescimento	17	26,6	11	23,4	(2) 0,705
Bactéria	27	42,2	36	76,6	(2) <0,001
Fungo	25	39,1	2	4,3	(2) <0,001
Protozoário	4	6,3	-	-	(3) 0,139
Crescimento de meios de cultura					
Ausência ou não crescimento	17	26,6	11	23,4	(2) 0,705
Simplex (apenas 1 tipo de micro-organismo)	39	60,9	34	72,3	(2) 0,211
Mista (2 ou 3 tipos de micro-organismo)	8	12,5	2	4,3	(3) 0,186
Bactérias ⁽¹⁾					
Bacilo Gram-negativo (Não fermentador)					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	12,5	9	19,1	(2) 0,337
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1,6	2	4,3	(3) 0,573
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-	-	1	2,1	(3) 0,423
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	2	3,1	-	-	(3) 0,507
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1,6	-	-	(3) 1,000
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	1	1,6	-	-	(3) 1,000
<i>Ralstonia pickettii</i>	-	-	1	2,1	(3) 0,423
Bacilo Gram-negativo (Enterobactérias)					
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,6	-	-	(3) 1,000
<i>Escherichia coli</i>	1	1,6	-	-	(3) 1,000
<i>Serratia</i> sp	3	4,7	-	-	(3) 0,261
<i>Citrobacter</i> sp	1	1,6	1	2,1	(3) 1,000
<i>Enterobacter</i> sp	1	1,6	1	2,1	(3) 1,000
Cocos Gram-positivos					
<i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	1	1,6	1	2,1	(3) 1,000
<i>Micrococcus</i> sp	1	1,6	-	-	(3) 1,000
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1,6	12	25,5	(2) <0,001
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	-	3	6,4	(3) 0,073
Outros:					
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	-	5	10,6	(3) 0,012
Fungo					
<i>Fusarium</i> sp	9	14,1	-	-	(3) 0,009
<i>Aspergillus</i> sp	3	4,7	-	-	(3) 0,261
<i>Candida albicans</i>	2	3,1	-	-	(3) 0,507
<i>Cladophialophora</i> sp	1	1,6	-	-	(3) 1,000
<i>Madurella</i> sp	1	1,6	-	-	(3) 1,000
<i>Microsporidia</i> (Filo)	1	1,6	-	-	(3) 1,000
Protozoário					
<i>Acanthamoeba</i> sp	4	6,3	-	-	(3) 0,136

(1) um ou mais tipos de micro-organismos identificados por paciente.

(2) Teste Qui-quadrado. (3) Teste de Fisher.

5.4 Procedimentos terapêuticos pós-coleta e evolução clínica

Na tabela 8 estão elencados os medicamentos administrados aos pacientes com infecção ocular. O antimicrobiano de escolha no tratamento de ceratite bacteriana foi fluoroquinolona de 4ª geração (26; 40,6%). No caso de infecções fúngicas, anfotericina B (20; 31,3%) e natamicina (18; 28,1%) foram os medicamentos mais utilizados. Os pacientes com infecção em outro sítio, que não a córnea, foram tratados principalmente com doxiciclina (5; 10,6%) e cefalosporina 3ª geração (4; 8,5%).

Tabela 8 – Número e porcentagem de pacientes segundo os medicamentos utilizados após exame clínico e coleta de material para diagnóstico laboratorial nos grupos com e sem ceratite, Campo Grande/MS – 2014.

Medicamentos pós coleta ⁽¹⁾	Ceratite				p
	Casos (n=64)		Controles (n=47)		
	Nº.	%	Nº.	%	
Fluoroquinolona 4ª geração	26	40,6	9	19,2	⁽²⁾ 0,042
Anfotericina B	20	31,3	-	-	⁽²⁾ <0,001
Aminoglicosídeos	18	28,1	15	31,9	⁽²⁾ 0,666
Natamicina	18	28,1	-	-	⁽²⁾ <0,001
Lubrificante Oftálmico	9	14,1	7	14,9	⁽²⁾ 0,902
Ciprofloxacina	8	12,5	10	21,3	⁽²⁾ 0,215
Cetoconazol	5	7,8	-	-	⁽³⁾ 0,071
Aciclovir	4	6,3	-	-	⁽³⁾ 0,136
Biguanida	4	6,3	-	-	⁽³⁾ 0,136
Atropina	2	3,1	-	-	⁽³⁾ 0,507
Fluconazol	2	3,1	-	-	⁽³⁾ 0,507
Mebendazol	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Azitromicina	1	1,6	5	10,6	⁽³⁾ 0,081
Cloranfenicol	1	1,6	1	2,1	⁽³⁾ 1,000
Itraconazol	1	1,6	1	2,1	⁽³⁾ 1,000
Propamidine Isethionate	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Corticóide	1	1,6	-	-	⁽³⁾ 1,000
Doxiciclina	-	-	5	10,6	⁽³⁾ 0,012
Cefalosporina 3ª Geração	-	-	4	8,5	⁽³⁾ 0,030
Dexametasona	-	-	2	4,3	⁽³⁾ 0,177
Vancomicina	-	-	2	4,3	⁽³⁾ 0,177
Sulfametoxazol Trimetoprina F	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423
Ciprofloxacino 0,3% Cloridrato Dexametasona 0,1%	-	-	1	2,1	⁽³⁾ 0,423

⁽¹⁾ cada paciente poderia ter 1 ou mais tipos de medicamentos utilizados.

⁽²⁾ Teste Qui-quadrado.

⁽³⁾ Teste de Fisher

Em relação à evolução clínica, todos os pacientes pesquisados obtiveram alta e apenas um paciente com ceratite apresentou recidiva (Tabela 9). À exceção de uma paciente que apresentou deformidade de pupila, os pacientes sem ceratite não apresentaram sequelas.

Opacidade da córnea foi uma das complicações mais frequentes entre os pacientes com ceratite (7; 10,9%). Dez (15,6%) pacientes apresentaram perfuração da córnea e entre estes, 7 (10,9%) foram submetidos a transplante de córnea. Como consequência da gravidade dos casos de ceratite, três pacientes realizaram evisceração. Dois pacientes colocaram prótese ocular e um paciente foi submetido a enxerto de esclera. Nenhum paciente sem ceratite teve perfuração de córnea ou evisceração, e também não necessitaram de medidas corretivas.

Tabela 9 – Número e porcentagem de pacientes segundo evolução clínica nos grupos com e sem Ceratite, Campo Grande/MS – 2014.

Variáveis	Ceratite				p
	Casos (n=64)		Controles (n=47)		
	Nº.	%	Nº.	%	
Recidiva					
Sim	1	1,6	-	-	(3) 1,000
Não	63	98,4	47	100,0	
Sequelas (1)					
Opacidade da Córnea	7	10,9	-	-	(3) 0,020
Aumento da pressão intraocular	1	1,6	-	-	(3) 1,000
Cicatriz Corneana	1	1,6	-	-	(3) 1,000
Ceratite Ponteada	1	1,6	-	-	(3) 1,000
Deformidade de Pupila	-	-	1	2,1	(3) 0,423
Perfuração da córnea					
Sim	10	15,6	-	-	(3) 0,005
Não	54	84,4	47	100,0	
Transplante de córnea					
Sim	7	10,9	-	-	(3) 0,020
Não	57	89,1	47	100,0	
Evisceração					
Sim	3	4,7	-	-	(3) 0,261
Não	61	95,3	47	100,0	
Correção					
Prótese Ocular	2	3,1	-	-	(3) 0,507
Enxerto de Esclera	1	1,6	-	-	

(1) cada paciente poderia ter 1 ou mais tipos de sequela.

(2) Teste Qui-quadrado.

(3) Teste de Fisher.

6 DISCUSSÃO

Ceratite infecciosa é considerada uma urgência oftalmológica, pois sua evolução clínica é muito rápida, com potencial risco de diminuição de visão e cegueira (PASSOS et al, 2010).

Situações que predisponham alterações da superfície da córnea, alterações do filme lacrimal ou a vigência de foco infeccioso, como na blefarite, quando não tratadas adequadamente, podem evoluir com ceratite e até acometimento da câmara anterior além de endoftalmite (UMAMAGESWARI; JEYA; SUJA, 2013).

Na presente pesquisa, sexo e idade não foram fatores relacionados à ocorrência de ceratite. Por outro lado, estudos epidemiológicos realizados no sudeste brasileiro mostraram maior frequência de ceratite em pacientes do sexo masculino (IBRAHIM et al., 2011; MÜLLER; KARA-JOSÉ; CASTRO, 2012; GENARO et al., 2011).

Não há diferenças significativas, anatômicas ou fisiológicas, para justificar uma diferença na ocorrência de ceratite entre os sexos. Porém, a frequência desta doença entre homens e mulheres, pode variar de acordo com aspectos sócio-econômicos. Assim, há maior incidência de ceratite principalmente nas populações mais pobres e rurais, particularmente no sexo masculino, devido suas atividades relacionadas à lida com solo, vegetais e animais (GENARO et al., 2011; GREEN; APEL; STAPLETON, 2008; HÖFLING-LIMA et al., 2005).

A maior porcentagem de afecções oculares, observado em nosso estudo, foi em pacientes com idade produtiva, na faixa etária de 21 a 40 anos, e idade média de 31 anos. Tal fato pode gerar prejuízo econômico, pois os mesmos não apresentam condições de desenvolver suas atividades, seja pela dor, desconforto visual ou necessidade de tratamento com aplicação de colírios tópicos.

A presente casuística mostra grande número de usuários de lentes de contato, o que pode explicar a idade média de 31 anos, inferior a outros relatos. Diferentes estudos descreveram maior frequência em pacientes com idade variando de 41 a 52, e valor médio de 46,5 anos (CAO, et al., 2014; CHAUDHURI et al; 2014; GENARO, et al., 2011; IBRAHIM et al., 2011; MARUJO, et al., 2013).

Na presente pesquisa, não houve diferença significativa na frequência de afecções oculares entre pacientes considerados idosos (61 a 85 anos). A senilidade ocular aumenta o processo degenerativo da conjuntiva, córnea e esclera

favorecendo a ocorrência de ceratite microbiana e outras afecções oculares. Esse fato pode justificar o observado nos dois grupos (BORIN et al., 2013; CAO et al., 2014; RUSS; KARA-JOSÉ, 2001).

Na presente pesquisa, não houve diferença significativa na frequência de afecções oculares entre pacientes considerados idosos (61 a 85 anos). A senilidade ocular aumenta o processo degenerativo da conjuntiva, córnea e esclera favorecendo a ocorrência de ceratite microbiana e outras afecções oculares (BORIN et al., 2013; CAO et al., 2014; RUSS; KARA-JOSÉ, 2001). Esse fato pode justificar o observado nos dois grupos, reiterando que esta faixa etária predispõe as afecções oculares de forma geral, incluindo a ceratite.

Corroborando com publicações prévias, a ocorrência de ceratite no presente estudo foi associada a atividade laboral na agropecuária ($p < 0,001$), onde os trabalhadores ficam mais expostos ao trauma ocular. Acredita-se que o número de casos de ceratite neste segmento, seja ainda muito maior tendo em vista que a agropecuária é a principal atividade econômica do Estado de Mato Grosso do Sul.

Os resultados obtidos na presente pesquisa, são condizentes com estudo desenvolvido por Genaro et al. (2011), em São José do Rio Preto, noroeste paulista, os quais descreveram que em 37 casos de ceratite, 24 (64,9%) dos pacientes eram trabalhadores da área rural. Outra pesquisa realizada no Hospital das Clínicas da UNICAMP, mostrou que em um grupo de 150 pacientes com ceratite, 74 (49,3%) eram lavradores (MÜLLER, KARA-JOSÉ; CASTRO, 2012).

De acordo com Chaudhuri et al. (2014), medidas simples como a utilização de óculos de proteção durante atividades em áreas rurais e atendimento médico precoce, em caso de trauma ocular, podem diminuir a incidência de ceratite entre trabalhadores.

Evidências tem mostrado que doenças metabólicas, sistêmicas e imunossupressoras são fatores predisponentes para muitas patologias, incluindo as doenças oculares, particularmente, ceratite bacteriana (BOURCIER et al., 2003; IBRAHIM et al., 2011).

Apesar de diabetes ter sido a doença sistêmica observada em maior porcentagem em nosso estudo, tanto nos casos quanto nos controles, não houve associação com a ocorrência de ceratite. Diferente do esperado, também não foi observada associação para outras comorbidades como câncer e doença autoimune.

A presença de neoplasia ocular, blefarite, lagoftalmo, entrópico, infecção pós-cirúrgica e lesão na conjuntiva, quando presentes nos pacientes estudados, não apresentaram associação com a ocorrência de ceratite. Este fato pode ser explicado pela intervenção médica adequada e o baixo número dessas lesões tanto nos casos, como nos controles.

A análise multivariada dos resultados obtidos neste estudo, evidenciou que os indivíduos em uso de lentes de contato, apresentaram 16 vezes maior chance de desenvolverem ceratite. Este achado corrobora com estudos prévios que referem as lentes de contato como uma das principais causas de ceratite microbiana em todo o mundo, especialmente entre os jovens (BOURCIER et al., 2003; Green; Apel; Stapleton 2008; KONDA et al., 2014; MORIYAMA; HÖFLING-LIMA, 2008; STAPLETON et al., 2008;)

A incidência anual de ceratite microbiana em usuários de lentes de contato, varia de 1,2 até 25,4/10.000 usuários, de acordo com estudos realizados em diferentes países (Austrália, EUA, Hong Kong, New Zeland e Netherlands). Essa variação pode estar relacionada ao tipo de material utilizado, sendo mais frequente em usuários de lentes gelatinosas que nos usuários de lentes rígidas gás-permeáveis. As LC de uso prolongado também estão associadas a maior risco de ceratite microbiana (HODDENBACH et al., 2014; LAM et al., 2002; STAPLETON et al., 2008).

Fisiologicamente, as LC podem induzir hipóxia na córnea e comprometer a integridade do epitélio, favorecendo a aderência de bactérias. Conforme material utilizado para confecção das mesmas, modo de utilização, alterações individuais do usuário, assim como a não regularidade das visitas ao oftalmologista, aumenta a probabilidade de microlesões e infecção entre usuários de LC (EFRON ; MORGAN, 2006; HODDENBACH, et al., 2014; RASOULINEJAD, et al., 2014).

Diferente do esperado, a utilização inadequada das lentes de contato não foi associada com a ocorrência de ceratite neste estudo. Esse fato pode ser devido ao bom nível sócio econômico dos clientes da clínica, mas também devido à falta de padronização das fichas de atendimento médico, manuscritas na maioria dos casos. Não foi observada anotação detalhada quanto ao modo de utilização das LC, o que constituiu uma limitação neste estudo.

Szczotka-Flynn et al. (2013) averiguaram que para diminuir a incidência de eventos de inflamação da córnea relacionados ao uso de lentes de contato, faz-se

necessário controlar os fatores de risco relativos ao paciente, tais como diminuir a carga microbiana das margens palpebrais e a instabilidade do filme lacrimal.

Muitos relatos têm documentado que a cirurgia ocular prévia pode ser fator de risco para infecção ocular, com índices que variam de 1% a 35% (GENARO et al., 2011; GREEN; APEL; STAPLETON, 2008; SAEED et al., 2009;; WONG et al., 2003). Na presente investigação não foi observada associação entre cirurgia ocular anterior e a ocorrência de ceratite, provavelmente pelo pequeno número de procedimentos cirúrgicos realizados pelos pacientes com ceratite (4/64) com igual número de cirurgias no grupo controle (4/47).

O presente estudo verificou associação entre trauma ocular com vegetal, madeira, terra ou animal e a ocorrência de ceratite, em situações em que os pacientes estavam expostos durante o plantio, colheita, poda de vegetais ou na lida com animais. Estes resultados também foram descritos por pesquisadores, que descrevem o trauma ocular por vegetal como importante condição de risco para ocorrência de ceratite, principalmente nos países em desenvolvimento e economia agrícola (CAO et al., 2014; CHAUDHURI et al., 2014; UPADHYAY et al., 2001).

Neste estudo, dor e fotofobia, foram as principais manifestações clínicas observadas nos pacientes com diagnóstico de ceratite. Por ser um tecido densamente inervado, situações em que ocorre desepitelização (lesão) da córnea cursam com muita dor, fotofobia e lacrimejamento (KANSKI & BOWLING, 2012).

Nos pacientes sem ceratite houve maior percentual com lacrimejamento ardente, vermelhidão e sensação de areia nos olhos. Este último sintoma é muito frequente em casos de infecção por *Chlamydia trachomatis*, por outro lado, também pode ser observado na Síndrome do Olho Seco e Síndrome de Sjögren (FREITAS et al., 2004; JESUS et al., 2013).

A maioria dos quadros de ceratite microbiana adquiridas na comunidade é resolvida com antibioticoterapia empírica de amplo espectro, com exceção das infecções fúngicas. Apesar da recomendação de coleta de materiais para exames microbiológicos antes da instituição do tratamento antimicrobiano, na prática, dado ao incômodo decorrente da infecção, o que se observa é a instituição do tratamento empírico imediato. Em pesquisa realizada por Lana et al. (2011), os autores observaram que essa prática é decorrente da dificuldade de encontrar serviços para realização de exames microbiológicos em amostras oftalmológicas.

Assim como observado em outros estudos, o raspado de córnea foi o espécime clínico preferencialmente utilizado para o diagnóstico laboratorial, nos casos de ceratite. Nos pacientes sem ceratite, na presença de eventos adversos associados às LC, estas foram utilizadas para análise microbiológica. Outras afecções oculares com suspeita de conjuntivites, dacriocistite, blefarite, o espécime clínico mais utilizado foi secreção conjuntival. Estudo realizado por Bourcier et al. (2003), observou positividade de culturas em 83,6% para lentes de contato e estojos e 64,7% para os raspados obtidos de córnea.

Um dos principais desafios no diagnóstico microbiológico da ceratite é a escassez de material, principalmente nas causadas por fungos, que penetram com facilidade as camadas mais profundas do estroma, sem perda do estroma anterior. Sob este aspecto, quando não é observada a presença de fungos no exame microbiológico, deve ser considerada a possibilidade de realização de biópsia que apresenta maior positividade que em raspados de córnea (ALEXANDRAKIS, et al., 2000).

O diagnóstico precoce de ceratite é de suma importância para instituição do tratamento adequado. A observação microscópica, realizada por profissional experiente, pode orientar precocemente a conduta do oftalmologista, baseado nos resultados do espécime clínico, após colorações pelos métodos de Gram, Giemsa e Ziehl-Neelsen modificado. A microscopia deve ser realizada no dia da coleta do material e seu resultado informado imediatamente ao médico oftalmologista, para um melhor prognóstico.

Pela análise microscópica foi possível detectar a presença de filamentos micelianos hialinos septados, e de *Acanthamoeba* nos pacientes com ceratite, o que reforça a importância da realização destes exames imediatamente após a coleta.

Ao exame microscópico, também foi possível averiguar nos pacientes com ceratite, maior percentual de bacilos Gram-negativos (+++) e presença de leucócitos polimorfonucleares (+++), em relação a esse mesmo exame em amostras oculares de pacientes sem ceratite. A associação do grupo de casos e bactéria Gram-negativo pode ser explicada pela presença de (14; 21,9%) de ceratite relacionada ao uso de lentes de contato e principalmente causadas por estes micro-organismos, o que está em concordância com relatos prévios (KONDA et al., 2014, SHARMA et al., 2003).

A identificação etiológica de ceratite microbiana é sempre um desafio devido à escassez da amostra clínica coletada, e a necessidade de técnicas microbiológicas adaptadas para a oftalmologia (MARUJO et al., 2013). Diferentes autores obtiveram positividade de identificação do micro-organismo, entre 29% e 61% (IBRAHIM et al., 2011; ROCHA et al., 2011). Apesar dessa dificuldade, no presente estudo, foram obtidos dados de identificação dos agentes etiológicos pelos exames microbiológicos, em 73,4% dos casos com ceratite e em 76,6% dos pacientes sem ceratite, o que representa um aspecto positivo desta pesquisa.

O alto percentual de positividade das culturas neste estudo, observado nos casos de ceratite (73,4%) assim como nos pacientes sem ceratite (76,6%), pode ser explicado pela realização de coletas de material para exame por oftalmologistas capacitados, técnicas microbiológicas adaptadas para amostras oculares e boa habilidade técnica do microbiologista.

Quanto à etiologia dos processos infecciosos, nos pacientes com afecções oculares deste estudo, observou-se dentre os sem ceratite, maior percentual de infecção bacteriana (*Staphylococcus aureus* e *Chlamydia tracomatis*), e o menor percentual de infecção fúngica. Observou-se que a maior porcentagem de espécime clínico coletado para exames microbiológicos, foi swab de secreção conjuntival (76,6%). Haas et al., 2012, observaram que a maioria dos isolados em secreção conjuntival de pacientes adultos, eram de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativo*, o que reitera o encontrado neste trabalho.

Nos pacientes com ceratite, as infecções bacterianas foram causadas principalmente por *Pseudomonas aeruginosa*, mas sem diferença com relação ao grupo controle. Diferentes autores tem mostrado associação desta bactéria não fermentadora com infecções oculares em usuários de lentes de contato (HODDENBACH et al., 2014; KONDA et al., 2014, SHARMA et al., 2003).

Neste estudo, observou-se infecção mista em alguns pacientes, envolvendo bactéria com fungo e bactéria com protozoário. A lesão do epitélio da córnea, com envolvimento de micro-organismos como fungos e *Acanthamoeba* que invadem o estroma, favorece a infecção por outros patógenos, particularmente bactérias presentes nas margens palpebrais. Diferentes autores relataram o envolvimento de dois a seis diferentes micro-organismos, em casos de ceratite (GENARO et al., 2011, MARUJO et al., 2013, WONG et al., 2003).

A porcentagem de fungos (25; 39,1%) encontrada nesta pesquisa realizada com 64 casos de ceratite, difere dos dados encontrados por Marujo et al. (2013), que analisaram 1468 amostras provenientes de ceratite microbiana, com identificação de menor porcentagem de fungos (103; 7,0%). O referido estudo foi desenvolvido no laboratório da UNIFESP, que por estar em grande centro urbano tem pequena influência de variações da zona rural.

Todavia, neste estudo, os resultados encontrados para ceratite de etiologia fúngica (25; 39,1%), são muito próximos aos dados obtidos por Ibrahim et al. (2011), os quais avaliaram 118 amostras provenientes de ceratite microbiana, e encontraram (52; 44,1%) de ceratite por fungos. A similaridade dos resultados, pode ser atribuída às características em comum quanto a atividades em agropecuária e clima da região. Vale salientar que Ribeirão Preto é um dos grandes polos de plantação de cana de açúcar do Brasil, e que Mato Grosso do Sul está num crescente de implantação de usinas e produção no setor sucroalcooleiro. A ocorrência dos casos de ceratite por fungo tende a aumentar, devido trauma ocular durante a colheita de cana de açúcar, a menos que sejam tomadas medidas educativas e preventivas com intuito de minimizar o trauma vegetal.

Dentre os fungos identificados neste estudo, *Fusarium* sp foi um dos patógenos mais isolados nos pacientes com ceratite, assim como também descrito por outros pesquisadores (IBRAHIM et al., 2011; MÜLLER; KARA-JOSÉ; CASTRO, 2012).

A baixa frequência de infecção fúngica por leveduras neste estudo, pode estar relacionada à baixa frequência de fatores predisponentes. São conhecidos como fatores de risco, os procedimentos cirúrgicos, doenças oculares pré-existentes, tratamentos prévios como uso tópico de corticosteroides e antibióticos, doenças sistêmicas ou imunossupressão, devidamente documentados na literatura (HÖFLING-LIMA et al., 2005; MONTE & STADTHERR, 2013; PASSOS et al., 2010).

Observou-se dentre os 64 casos de ceratite, dois pacientes com identificação de fungos demáceos: *Cladophialophora* sp e *Madurella* sp. Estes são encontrados no meio ambiente e não são usualmente isolados de ceratites, porém já foram citados em outros trabalhos (HÖFLING-LIMA et al., 2005; PASSOS et al., 2010).

O presente estudo identificou um caso de ceratite com envolvimento de *Microsporidia*, em paciente imunocompetente, em que não foi observado qualquer tipo de fator diretamente relacionado ao seu aparecimento. Na evolução deste caso,

ocorreram perfuração e transplante da córnea. Dor intensa e a gravidade da ulceração com perfuração da córnea, são sinais e sintomas similares ao quadro de ceratite por *Acanthamoeba*. Dois patógenos de tratamentos totalmente diversos em que somente a identificação do agente pode auxiliar o médico a definir o tratamento.

Evidenciou-se baixa frequência de infecção por protozoários, e a ocorrência de *Acanthamoeba* sp somente no grupo com ceratite. Infecção por *Acanthamoeba* é relativamente rara, de difícil tratamento, com potencial risco de perda de visão. Diversos fatores estão associados à infecção por *Acanthamoeba*, dentre elas: exposição dos olhos à água suja, uso de lentes de contato e de soluções de LC contaminadas (IBRAHIM, et al., 2011; MASCARENHAS et al., 2014; PASSOS et al., 2010).

Destaca-se neste estudo, a importância do exame microscópico na orientação medicamentosa pré e pós-coleta. Em alguns pacientes ocorreu alteração de protocolo terapêutico, após fornecer ao oftalmologista os resultados preliminares dos achados microbiológicos. Assim, após informar ao médico observação microscópica de *Acanthamoeba*, foi instituído imediatamente, tratamento com propamidine isethionate e biguanida. A mesma situação foi observada, quando relatado encontro de *Microsporidia*, com utilização de mebendazol para o tratamento.

A perfuração da córnea observada nos pacientes com ceratite pode ter ocorrido pelas dificuldades de diagnóstico, tratamento e agressividade do micro-organismo. Há casos em que o paciente de região rural ou cidades do Estado do Mato Grosso do Sul, que não dispõem de serviço de oftalmologia especializado, chegam a Campo Grande com úlceras de córnea perfuradas ou comprometidas de tal forma que a perfuração ocorre horas após sua chegada.

Observou-se que os transplantes de córnea, evisceração do olho e medidas corretivas como enxerto de esclera e colocação de prótese ocular, foram realizados somente nos pacientes com ceratite. Estes procedimentos de intervenção mais drástica foram realizados devido à gravidade do quadro infeccioso e comprometimento de estruturas oculares.

Mediante os resultados encontrados, e baseado nos dados clínicos, foi possível o delineamento dos aspectos epidemiológicos das afecções oculares. Os profissionais da saúde ao conhecerem os problemas oculares mais comuns na região, podem adotar mais facilmente condutas clínicas específicas. Neste sentido, elaborou-se um protocolo para coleta de dados, baseado nos achados do presente

estudo, denominado formulário para coleta de dados na vigência de ceratite (Apêndice B).

Recomenda-se também implementar o sistema de referência e contra-referência, a fim de que os médicos das cidades do interior possam atender o paciente em sua cidade de origem, com maior agilidade e eficiência no tratamento indicado. Quando não houver possibilidade de diagnóstico em sua unidade de atendimento, que seja garantida a remessa do material coletado para exames microbiológicos para um laboratório público referenciado na capital do estado ou regionais de saúde.

Faz-se também necessário treinamento de equipe em microbiologia para execução das análises, segundo técnicas adequadas à oftalmologia, visto que as amostras muitas vezes são mínimas, exigindo do observador *expertisse* suficiente para distinguir a presença de bactérias, fungos, principalmente Microsporidia, e amebas de vida livre.

7 CONCLUSÕES

Os fatores associados à ocorrência de ceratite foram: atividade laboral na agropecuária, que expõe os trabalhadores a trauma ocular com vegetal, madeira, terra ou animal, e uso de lente de contato. Em relação à lente de contato, não houve associação da ceratite com o uso inadequado das lentes de contato, o que pode ser devido à ausência de dados mais detalhados em relação ao modo e inadequação do uso das lentes de contato.

As principais queixas dos indivíduos com ceratite foram dor e fotofobia, o que resultou em maior utilização de medicamentos antes da coleta de exames microbiológicos, devido à sintomatologia mais severa. Em vigência de ceratite, a amostra coletada para investigação do agente etiológico foi preferencialmente raspado de córnea.

Os agentes etiológicos mais frequentes foram bactérias, principalmente *Pseudomonas aeruginosa*, seguidos de fungos com maior porcentagem de *Fusarium* sp, e *Acanthamoeba*. Dentre os fungos, documentou-se um caso raro de *Microsporidia*, patógeno este considerado raro e emergente.

A positividade para ao menos um agente infeccioso em 73,4% dos casos de ceratite por bactéria, fungo ou protozoário, foi resultante de coletas adequadas e técnicas microbiológicas adaptadas para a oftalmologia.

Os resultados preliminares de lâminas coradas pelos métodos de Gram, Giemsa e Ziehl-Neelsen mod., orientaram a terapêutica após coleta de raspado de córnea na ceratite e de secreção conjuntival no grupo sem ceratite, com utilização dos seguintes medicamentos: moxifloxacina, anfotericina B natamicina nos pacientes com ceratite, e nos pacientes sem ceratite de doxiciclina e cefalosporina 3ª geração.

Todos os pacientes tiveram alta médica, por cicatrização da lesão ou término da infecção. Entretanto, dentre os casos de ceratite, ocorreram perfurações da córnea e necessidade de transplantes de córnea. Essas complicações não ocorreram nos pacientes sem ceratite, o que sinaliza maior gravidade na evolução clínica dos pacientes com ceratite.

8 REFERÊNCIAS

- ABREU-ACOSTA, N.; LORENZO-MORALES, J.; LEAL-GUIO, Y.; CORONADO-ALVAREZ, N.; FORONDA, P.; ALCOBA-FLOREZ, J.; VALLADARES, B. Enterocytozoon bienewisi (microsporidia) in clinical samples from immunocompetent individuals in Tenerife, Canary Islands, Spain. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.99, p. 848-855,2005.
- ALEXANDRAKIS, G.; HAIMOVICI, R.; MILLER, D.; ALFONSO, E. C. Corneal biopsy in the management of progressive microbial keratitis. **Am J Ophthalmol.**, v.129, n.5, p. 571-576, 2000.
- ALVES, M. R.; ANDRADE, B. B. Úlcera de córnea bacteriana. **Arquivos brasileiros de Oftalmologia**. v. 63, n.6, p.495-498, 2000.
- AMARAL, C. D.; DUARTE, J. Y.; SILVA, P. L.; VALBUENA, R.;CUNHA, F. Indications for penetrating keratoplasty in Pernambuco. **Arquivos brasileiros de Oftalmologia**. v. 68, n.5, p. 635-637, 2005.
- ANDRADE, A. J., VIEIRA, L. A., HÖFLING-LIMA, A. L., YU, M. C., GOMPERTZ, O. F., FREITAS, D.; SOUZA, L. B. Laboratorial analyses of fungal keratitis in a University Service. **Arquivos brasileiros de Oftalmologia**. v. 63, n.1, p. 59-63, 2000.
- BADIEE, P. Mycotic Keratitis, a State-of-the-Art Review. **Jundishapur J Microbiol.** 2013; 6(5): e8561. DOI: 10.5812/ jjm.8561. Acesso em: 05ou.2014
- BENHMIDEUNE, L.; BENSEMLALI, A.; BOUAZZA, M.; KARAMI, R.; EL MANSOURI, H.; EL BELHADJI, M.; AMRAOUI, A. Abcès de cornée sur port de lentilles de contact :aspects cliniques, microbiologiques et thérapeutiques. **Journal français d'ophtalmologie**. v.36, p. 594-599, 2013.
- BHARATHI, M. J.; RAMAKRISHNAN, R.; MEENAKSHI, R.; SHIVAKUMAR, C.; RAJ, D. L. Analysis of the risk factors predisposing to fungal, bacterial & Acanthamoeba keratitis in south India. **Indian J Med Res**. p.749-757, 2009.

- BORIN, S.; FELDMAN, I.; KEN-DROR, S.; BRISCOE, D. Rapid diagnosis of acanthamoeba keratitis using non-nutrient agar with a lawn of *E. coli*. **Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection**. 2013; 3(40): DOI: 10.1186/1869-5760-3-40,2013. Acesso em: 01out.2014
- BOURCIER, T.; THOMAS, F.; BORDERIE, V.; CHAUMEIL, C.; LAROCHE, L. Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. **Br J Ophthalmol**. v.87, p. 834-838, 2003.
- BRASIL, P.; LIMA, B.; MOURA, H. Microsporidiose humana na síndrome de imunodeficiência adquirida. **Rev Ass Med Brasil**. v.43, n.3, p. 254-264, 1997.
- CALLEGAN, M. C.; ENGEL, L. S.; HILL, J. M.; O'CALLAGHAN, R. J. Corneal Virulence of *Staphylococcus aureus*: Roles of Alpha-Toxin and Protein A in Pathogenesis. **Infection and Immunity**, p. 2478-2482, 1994.
- CAO, J.; YANG, Y.; YANG, W.; WU, R.; XUAN, X.; YUAN, J.; XING, Y.; TAN, X. (2014). Prevalence of infectious keratitis in Central China. **BMC Ophthalmology**,2014.Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2415/14/43>> Acesso em: 01 out.2014.
- CARVALHO, A. C.; RUTHES, H. I.; MAIA, M.; YANA, D.; SATO, M. T.; MOREIRA, H.; BORDIGNON, F. G.; QUEIROZ-TELLES, F. Fungal keratitis in the state of Paraná-Brazil: clinical, epidemiological and diagnostic findings. **Rev Iberam Micol**. v. 18, p. 76-78, 2001.
- CERULLI, L.; MANCINO, R.; PALMA, S.; TOMEI, M. Cheratiti da *Acanthamoeba*. “**La Cornea**”. v. 14, p. 303–306, 1998.
- CHAN, K. Y.; CHOA, P.; BOOST, M. Microbial adherence to cosmetic contact lenses. **Contact Lens & Anterior Eye**. v. 37, p. 267–272, 2014.
- CHAUDHURI, S. K.; JANA, S.; BISWAS, J.; BANDYOPADHYA, M. Models and Impacts of Agriculture Related Ocular Injures. **International Journal of Health Sciences & Research**. p.108-111, 2014.
- CHOY, M. H.; STAPLETON, F.; WILLCOX, M. D.; ZHU, H. Comparison of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from contact lens- and

- non-contact lens-related keratitis. **Journal of Medical Microbiology**,. v.57, p. 1539-1546, 2008.
- CLAYDON, B. E.; EFRON, N. Non-compliance in contact lens wear. **Ophthalmol, Opt.** v.14, p. 356-364, 1994.
- CURRY, A.; MUDHAR, H. S.; DEWAN, S.; CANNING, E. U.; WAGNER, B. E. A case of bilateral microsporidial keratitis from Bangladesh-infection by an insect parasite from the genus Nosema. **Journal of Medical Microbiology**. v. 56, p.1250-1252, 2007.
- DALMON, C.; PORCO, T. C.; LIETMAN, T. M.; PRAJNA, N. V.; PRAJNA, L.; RANJAN DAS, M.; KURAN, J. A.; MASCARENHAS, J.; MARGOLIS, T. P.; WHITCHER, J. P.; JENG, B. H.; KEENAN, J. D.; CHAN, M. F.; MC LEOD, S. D.; ACHARYA, N. R. The Clinical Differentiation of Bacterial and Fungal Keratitis: A Photographic Survey. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. v. 53, n.4, p. 1787-1791, 2012.
- DE JONCKHEERE, J. F. Ecology of Acanthamoeba. **Rev. Infect. Dis.**, v. 13, p. 385–387, 1991.
- DIDIER, E. S. Microsporidiosis: An emerging and opportunistic infection in humans and animals. **Acta Trop.**v. 94, p. 61-76, 2005.
- EFRON, N.; MORGAN, P. B. Rethinking contact lens associated keratitis. **Clin Exp Optom**. v.89, p. 280-298, 2006.
- FAN, N. W.; WU, C. C.; CHEN, T. L.; YU, W. K.; CHEN, C. P.; LEE, S. M.; LIN, P. Y. Microsporidial keratitis in patients with hot springs exposure. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 50, p. 2414-2418, 2011.
- FONT, R. L.; SAMAHA, A. N.; KEENER, M. J.; CHEVEZ-BARRIOS, P.; GOOSEY, J. D. Corneal Microsporidiosis-Report of Case, including Electron Microscopic. **Ophthalmology**. v. 107, n. 9, p. 1769-1775, 2000.
- FREITAS, T. M.; MEDEIROS, A. C.; OLIVEIRA, P. T.; LIMA, K. C. Síndrome de Sjögren: revisão de literatura e acompanhamento de um caso clínico. **Rev Bras Otorrinolaringol**. v. 70, n.2, p. 283-288, 2004.

- GANGOPADHYAY, N.; DANIELL, M.; WEIH, L.; TAYLOR, H. R. Fluroquinolone and fortified antibiotics for treating bacterial corneal ulcers. **Br J Ophthalmol.** v. 84, n. 4, p. 378-384, 2000.
- GARG, P. Microsporidia Infection of the Cornea- A Unique and Challenging Disease. **Cornea.** v. 32, n.11, p. 33-38, 2013.
- GENARO, T. L.; GOMES, M. V.; GONÇALVES, F. A.; KASHIWABUCHI, F. K.; SOARES, F. P.; NOGUEIRA, M. C.; ALMEIDA, M. T. G.; ALMEIDA JÚNIOR, G. C. Microbial keratitis outcomes in two referral services in southeast Brazil. **Arq Ciênc Saúde.** v. 18, n. 2, p. 67-72, 2011.
- GOPINATHAN, U.; SHARMA, S.; GARG, P.; RAO, G. N. Review of epidemiological features, microbiological diagnosis and treatment outcome of microbial keratitis: Experience of over a decade. **Indian J Ophthalmology.** v. 57, n. 4, p. 273-279, 2009.
- GOWER, E. W.; KEAY, L. J.; OECHSLER, R. A.; OVIENO, A.; ALFONSO, E. C.; JONES, D. B.; COLBY, K.; TULI, S. S.; PATEL, S. R.; LEE, S. M.; IRVINE, J.; STULTING, R. D.; MAUGER, T. F.; SCHEIN, O. D. Trends in Fungal Keratitis in the United States, 2001 to 2007. **Ophthalmology.** v. 117, n. 12, p. 2263-2267, 2010.
- GREEN, M., APEL, A.; STAPLETON, F. Risk Factors and Causative Organisms in Microbial Keratitis. **Cornea.** v. 27, n. 1, p. 22-27, 2008.
- HAAS, W.; GEARINGER, L. S.; HESJE, C. K.; SANFILIPPO, C. M.; MORRIS, T. W. Microbiological Etiology and Susceptibility of Bacterial Conjunctivitis Isolates from Clinical Trials with Ophthalmic, Twice-Daily Besifloxacin. **Advances in Therapy.** v. 29, n. 5, p. 442-455, 2012.
- HENRY, C. H.; FLYNN JR, H. W.; MILLER, D.; FORSTER, R. K.; ALFONSO, E. C. Infectious Keratitis Progressing to Endophthalmitis: A 15-Year-Study of Microbiology, Associated Factors, and Clinical Outcomes. **Ophthalmology.** v. 119, n. 12, p. 2443-2449, 2012.
- HIRT, R. P.; LOGSDON, J. J.; HEALY, B.; DOREY, M. H.; DOOLITTLE, W. D.; EMBLEY, T. M. Microsporidia are related to Fungi: Evidence from the largest

- subunit of RNA polymerase II and other proteins. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** v. 96, p. 580–585, 1999.
- HODDENBACH, J. G.; BOEKHOORN, S. S.; WUBBELS, R.; VREUGDENHIL, W.; ROOIJ, J. V.; GEERARDS, A. J. Clinical presentation and morbidity of contact lens-associated microbial keratitis: a retrospective study. **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.** v. 252, p. 299–306, 2014.
- HÖFLING-LIMA, A. L.; FORSETO, A.; DUPRAT, J. P.; ANDRADE, A.; SOUZA, L. B.; GODOY, P.; FREITAS, D. Estudo laboratorial das micoses oculares e fatores associados às ceratites. **Arq Bras Oftalmol.** v. 68, n. 1, p. 21-27, 2005.
- IBRAHIM, M. M.; ANGELIS, R.; LIMA, A. S.; CARVALHO, G. D. V.; IBRAHIM, F. M.; MALKI, L. T.; BICHUETE, M. DE P.; MARTINS, W. DE P.; ROCHA, E. M. A new method to predict the epidemiology of fungal keratitis by monitoring the sales distribution of antifungal eye drops in Brazil. 2012. **PLoS ONE**, 7(3):e33775.
- IBRAHIM, M. M.; VANINI, R.; IBRAHIM, F. M.; MARTINS, W. P.; CARVALHO, R. T.; CASTRO, R. S.; ROCHA, E. M. Epidemiology and medical prediction of microbial keratitis in southeast Brazil. **Arq Bras Oftalmol.** v. 74, n.1, p. 7-12, 2011.
- IBRAHIM, Y. W.; BOASE, D. L.; CREE, I. A. Epidemiological characteristics, predisposing factors and microbiological profiles of infectious corneal ulcers: the Portsmouth corneal ulcer study. **Br J Ophthalmol.** v. 93, p.1319-1324, 2009
- INADA, N.; HARADA, N.; NAKASHIMA, M.; SHOJI, J. (2014). Severe *Staphylococcus lugdunensis* keratitis. **Infection.** 2014. DOI 10.1007/s15010-014-0669-2(online)- Springer. Acesso em: 01set.2014
- IYER, S. A.; TULI, S. S.; WAGONER, R. Fungal Ceratite: Olhos e Lentes: Tendências e Tratamento Outcomes Emergentes. **Eye Contact Lens.** v.32, n. 6, p. 267-271, 2006.
- JESUS, H. S.; LOBO, A. P.; BORDALO, F. S.; VILLAR, G. B.; OLIVEIRA, J. C. G.; DIAS, J. A.; LEITE, P. L.; COSTA, V. M.; DUTRA, V. G. P.; LOPES, M. DE F.

- C.; GIOVANETTI, I. D. C.; FAVACHO, J. DA F.R.; NÓBREGA, A. A. Inquérito domiciliar de prevalência de tracoma em crianças do Distrito Federal, Brasil, julho/2010. **Cad. Saúde Colet.** v. 21, n.3, p. 318-324, 2013.
- JOIN, R.; MURTHY, S. I.; MOTUKUPALLY, S. R. Clinical outcomes of corneal graft infectious caused by multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Cornea.** v. 33, n. 1, p. 22-26, 2014.
- JONES, D. B.; VISVESVARA, G. S.; ROBINSON, N. M. Acanthamoeba polyphaga keratitis and Acanthamoeba uveitis associated with fatal meningoencephalitis. **Trans Ophthalmol Soc U K.** v. 95, n.2, p. 221-232, 1975.
- JOSEPH, J.; MURTHY, S.; GARG, P.; SHARMA, S. Use of Different Stains for Microscopic Evaluation of Corneal Scrapings for Diagnosis of Microsporidial Keratitis. **Journal of Clinical Microbiology.** p. 583-585, 2006 a.
- KANSKI, J. J., & BOWLING, B. Córnea. In: **Oftalmologia Clínica: Uma abordagem sistêmica.** 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. cap. 6, p.167-238.
- KATINKA, M. D.; DUPRAT, S.; CORNILLOT, E.; MÉTÉNIER, G.; THOMARAT, F.; PRENSIER, G.; BARBE, V.; PEYRETAILLADE, E.; BROTTIER, P.; WINCKER, P.; DELBAC, F.; EL ALAOUL, H.; PEYRET, P.; SAURIN, W.; GOUY, M.; WEISSENBACH, J.; VIVARÈS, C. P. Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi*. **Nature.** v. 414, p. 450-453, 2001.
- KAUFMAN, H. E.; BARRON, B. E.; MCDONALD, M. B.; KAUFMAN, S. C. Bacterial Keratitis. In: B. A. Barron, & C. H. Dohlman, Companion. **Handbook to the Cornea.** Boston (Mass.): Butterworth-Heinemann, , 2000. p. 91-141.
- KEAY, L.; EDWARDS, K.; NADUVILATH, T. Factors Affecting the Morbidity of Contact Lens–Related Microbial Keratitis: A Population Study. **Investigative Ophthalmology & Visual Science.** v. 47, n. 10, p. 4302-4308, 2006.
- KONDA, N.; MOTUKUPALLY, S. R.; GARG, P.; SHARMA, S.; ALI, M. H.; WILLCOX, M. D. Microbial Analyses of Contact Lens–Associated Microbial Keratitis. **Optometry & Vision Science.** v. 91, p. 47-53, 2014.

- LAM, D.S.; HOUANG, E.; FAN, D.S.; LYON, D.; SEAL, D.; WONG, E. Incidence and risk factors for microbial keratitis in Hong Kong: comparison with Europe and North America. **Eye**. v.16, p. 608-618, 2002.
- LAM, TSZ-SUM, WONG, MAN-HA; CHUANG, SHUK-KWAN. Microsporidial Keratoconjunctivitis Outbreak among Athletes from Hong Kong Who Visited Singapore, 2012. **Emerging Infectious Diseases**. v. 19, n. 3, p. 515-516, 2013.
- LANA, F. P.; MASCARO, V. L.; ARAÚJO, M. E. The influence of the laboratory in the treatment of the infectious keratitis. **Rev Bras Oftalmol**. v. 70, n. 3, p. 174-178, 2011.
- LAVINSKY, F.; AVNI-ZAUBERMAN, N.; BAREQUET, I. S. Clinical characteristics and outcomes of patients admitted with presumed microbial keratitis to a tertiary medical center in Israel. **Arq Bras Oftalmol**. v. 76, n. 3, p. 175-179, 2013.
- LEAL, F.; HÖFLING-LIMA, A. L.; FREITAS, D. D.; CAMPOS, M. Laboratory analysis of infectious keratitis in patients following refractive surgery. **Arq Bras Oftalmol**. v. 68, n.n3, p. 353-356, 2005.
- LI, E. Y.; JHANJI, V. Massive lipid keratopathy after Elizabethkingia meningosepticum. **Contact Lens & Anterior Eye**. p. 55-56, 2014
- LOH, A. R.; HONG, K. ; LEE, S.; MANNIS, M.; ACHARYA, N. R. Practice Patterns in the Management of Fungal Corneal Ulcers. **Cornea**. v. 28, n. 8, p. 856-859, 2009.a
- LOH, R. S.; CHAN, C. M.; TI, S. E.; LIM, L.; CHAN, K. S.; TAN, D. Emerging prevalence of microsporidial keratitis in Singapore: epidemiology, clinical features, and management. **Ophthalmology**. v.116, p. 2348-2353, 2009.b
- MARTINEZ, A. J.; VISVESVARA, G. S. Free-living, Amphizoic and Opportunistic Amebas. **Brain Pathology**. v.7, p. 583-598, 1997.

- MARUJO, F. I.; HIRAI, F. E.; YU, M. C.; HÖFLING-LIMA, A. L., DE FREITAS, D.; SATO, E. H. Distribution of infectious keratitis in a tertiary hospital in Brazil. **Arq bras oftalmol.** v. 76; n. 6, p. 370-373, 2013.
- MASCARENHAS, J.; LALITHA, P.; PRAJNA, N. V.; SRINIVASAN, M.; DAS, M.; D'SILVA, S.S.; OLDENBURG, C.E.; BORKAR, D.S.; ESTERBERGER, E.J.; LIETMAN, T.M.; KEENAN, J.D. Acanthamoeba, fungal, and bacterial keratitis: a comparison of risk factors and clinical features. **Am J ophthalmol.** v.157; p.56-62, 2014
- MATHIS, A.; WEBER, R.; DEPLAZES, P. Zoonotic potencial of the Microsporidia. **Clin. Microbiol. Rev.**v.18, p. 423-445, 2005.
- MCDONALD, E. M.; RAM, F. S.; PATEL, D. V.; MCGHEE, C. N. Topical antibiotics for the management of bacterial keratitis: an evidence-based review of high quality randomised controlled trials. **Br J Ophthalmol.** 2014; v.98, p.1470-1477 doi:10.1136/bjophthalmol-2013-304660. Acesso em: 11nov.2014
- MELLADO, F.; ROJAS, T.; CUMSILLE, C. Fungal keratitis: review of diagnosis and treatment. **Arq Bras Oftalmol.** v. 76, n. 1, p. 52-56, 2013.
- MONTE, F. Q.; STADTHERR, N. M. Reflections on mycotic keratitis based on findings from histopathologically examined specimens. **Rev Bras Oftalmol.** v.72, n. 2, p. 87-94, 2013.
- MOORE, K. L.; DALLEY, A. F.; AGUR, A. M. Olho, órbita, região orbital e bulbo do olho. In: Anatomia Orientada para a Clínica. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. cap.7, p. 881-905
- MORIYAMA, A. S.; HÖFLING-LIMA, A. L. Contact lens-associated microbial keratitis. **Arq Bras Oftalmol.** v. 71, n. 6, p. 32-36, 2008.
- MÜLLER, G. G.; KARA-JOSÉ, N.; CASTRO, R. S. Epidemiological profile of keratomycosis at the HC-UNICAMP. **Arq Bras Oftalmol.** v.75, n. 4, p. 247-250, 2012.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica.** 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 979 p.

- NAGINTON, J.; WATSON, P. G.; PLAYFAIR, T. J.; MCGILL, J.; JONES, B. R.; STEELE, A. D. Amoebic infection of the eye. **Lancet**. p. 1537-1540, 1974.
- NARAYANAN, S.; REDFERN, R. L.; MILLER, W. L.; NICHOLS, K. K.; MCDERMOTT, A. M. Dry Eye Disease and Microbial Keratitis: Is There a Connection? **The Ocular Surface**. v. 11, n. 2, p. 75-92, 2013.
- NEVES, R. C.; BOTEON, J. C.; SANTIAGO, A. P. Indicações de transplante de córnea no Hospital São Geraldo da Universidade Federal de Minas Gerais. **Rev Bras Oftalmol**. v.69, n.2, p. 84-88, 2010.
- O'NEIL, E. C.; YEOH, J.; FABINYI, D. C.; DERMONT, C.; VAJPAYEE, R. B.; ALLEN, P.; CONNELL, P. P. Risk factors, microbial profiles and prognosis of microbial keratitis-associated endophthalmitis in high-risk eyes. **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol**. v. 252, p. 1457-1462, 2014.
- OLIVEIRA, P. R.; KARA-JOSÉ, N.; ALVES, M. R.; TEMPORINI, E. R. Compliance of the contact lens wearing patient with medical advice. **Arq Bras Oftalmol**. v. 67, n. 4, p. 607-612, 2004.
- ÖRNEK, K.; ÖZDEMİR, M.; ERGIN, A. Burkholderia cepacia keratitis with endophthalmitis. **Journal of Medical Microbiology**. v. 58, p. 1517-1518, 2009.
- PACELLA, E.; LA TORRE, G.; DE GIUSTI, M.; BRILLANTE, C.; LOMBARDI, A. M.; SMALDONE, G.; PACELLA, F. Results of case-control studies support the association between contact lens use and Acanthamoeba keratitis. **Clinical Ophthalmology** .v. 7,, p. 991–994, 2013.
- PADMAJA, N. & NAGESWARA RAO, P. Microbiological study of corneal ulcers at Kims, Amalapuram. **Journal of Evolution and Dental Sciences**. v. 3, n. 17, p. 4525-4528, 2014
- PASSOS, R. M.; CARIELLO, A. J.; YU, M. C.; HÖFLING-LIMA, A. L. Microbial keratitis in the elderly: a 31-year review. **Arq Bras Oftalmol**. v. 73, n.4, p. 315-319, 2010.

- PÉREZ-SANTONJA JJ; KILVINGTON S; HUGHES R; TUFAIL, A; MATHESON, M; DART, J.K.G. Persistently culture positive Acanthamoeba keratitis: in vivo resistance and in vitro sensitivity. **Ophthalmology**. v.110, p. 1593–1600, 2003.
- PUNIA, R. S.; KUNDU, R.; CHANDER, J.; ARYA, S. K.; HANDA, U. Spectrum of fungal keratitis: clinicopathologic study of 44 cases. **Int J Ophthalmol**. v. 7, n.1, p. 114-117, 2014.
- RASOULINEJAD, S. A.; SADEGHI, M.; MONTAZERI, M.; HEDAYATI GOUDARZI, H.; MONTAZERI, H.; AKBARIAN, N. Clinical Presentation and Microbial Analyses of Contact Lens Keratitis; an Epidemiologic Study. **Emergency** .v. 2, n. 4, p. 174-177, 2014
- RAUZ, S.; TUFT, S.; DART, J. K.; BONSHK, R.; LUTHER, P.; CURRY, A. Ultrastructural examination of two cases of stromal microsporidial keratitis. **Journal of Medical Microbiology**. v. 53, p. 775-781, 2004.
- REDDY, A. K.; BALNE, P. K.; GARG, P.; KRISHNA, S. Is microsporidial keratitis a seasonal infection in India? **Clin Microbiol Infect**. v. 17, p. 1114–1116, 2011.
- ROBERTSON, D. M. The Effects of Silicone Hydrogel Lens Wear on the Corneal Epithelium and Risk for Microbial Keratitis. **Eye Contact Lens**. v. 39, n. 1, p. 67-72, 2013.
- ROCHA, G. A.; SILVA, R. F.; LOPES, M. F.; PEREIRA, N. C.; SOUSA, L. B. Main pathogens and in vitro antimicrobial susceptibility in bacterial keratitis: 5-year study, 2005-2009. **Arq Bras Oftalmol**. v. 74, n. 1, p. 28-32, 2011.
- RODRÍGUEZ-ZARAGOZA, S. Ecology of free-living amoebae. **Critical Reviews in Microbiology**. v.20, n.3: 225-241, 1994.
- RUSS, H.; KARA-JOSÉ, N. Processos degenerativos da conjuntiva, córnea e esclera. In: Kara-José N, Almeida, G. editores. **Senilidade Ocular**. São Paulo: Roca, 2001. p. 85-98. 2001

- RUTHES, A. C. C.; WAHAB, S.; WAHAB, N.; MOREIRA, H.; MOREIRA, L.
Conjunctivitis presumably due to Acanthamoeba. **Arq Bras Oftalmol.** v. 67, n. 6, p. 897-900, 2004.
- SAEED, A.; D'ARCY, F.; STACK, J.; COLLUM, L. M.; POWER, W.; BEATTY, S.
Risk Factors, Microbiological Findings, and Clinical Outcomes in Cases of Microbial Keratitis Admitted to a Tertiary Referral Center in Ireland. **Cornea.** v. 28, n. 3, p. 285-292, 2009.
- SALERA, C. M.; TANURE, M. A.; LIMA, W. T.; CAMPOS, C. M.; TRINDADE, F. C.; MOREIRA, J. D. Spectrum of fungal keratitis at the São Geraldo Hospital-Belo Horizonte-MG. **Arq Bras Oftalmol.** v. 65, p. 9-13, 2002.
- SANO, F. T.; DANTAS, P. E.; SILVINO, W. R.; SANCHEZ, J. Z.; SANO, R. Y.; ADAMS, F.; NISHIWAKI-DANTAS, M. C. Trends in the indication for penetrating keratoplasty. **Arq Bras Oftalmol.** v. 71, n. 3, p. 400-404, 2008.
- SCHEID, P. Relevance of free-living amoebae as hosts for phylogenetically diverse microorganisms. **Parasitol Res.** v. 113, p. 2407-2414, 2014.
- SCHUSTER, F. L.; VISVESVARA, G. S. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. **International Journal of Parasitology.** v. 34, p. 1001-1027, 2004.
- SHAH, A.; SACHDEV A.; COGGON, D.; HOSSAIN, P. Geographic variations in microbial keratitis: an analysis of the peer-reviewed literature. **Br J Ophthalmol.** v. 95, p. 762-767, 2011.
- SHARMA, S.; DAS, S.; JOSEPH, J.; VERMUGANTI, G. K.; MURTHY, S. Microsporidial keratitis: need for increased awareness. **Survey of Ophthalmology.** v. 56, p. 1-22, 2011.
- SHARMA, S.; GOPALAKRISHNAN, S.; AASURI, M.K.; GARG, P.; RAO, G.N. Trends in contact lens-associated microbial keratitis in Southern India. **Ophthalmology.** V.110, p. 138-143, 2003
- SILVA, M. A.; ROSA, J. A. Isolation of potentially pathogenic free-living amoebas in hospital dust. **Rev Saúde Pública.** v. 37, n. 2, p. 242-246, 2003.

- STAPLETON, F., KEAVY, L. J., SANFILIPPO, P. G., KATIYAR, S., EDWARDS, K. P., & NADUVILATH, T. Relationship between climate, disease severity, and causative organism for contact lens-associated microbial keratitis in Australia. **Am J Ophthalmol.** v.144, n.5, p. 690-698, 2007.
- STAPLETON, F.; KEAY, L.; EDWARDS, K.; NADUVILATH, T.; DART, J. K.; BRIAN, G.; HOLDEN, B. A. The incidence of contact lens-related microbial keratitis in Australia. **Ophthalmology.** v. 115; p. 1655-1662, 2008.
- STONE, D.; TAN, J. F. Fungal Keratitis: Update for 2014. **Curr Ophthalmol Rep.** v. 2, p. 129–136, 2014.
- SZCZOTKA-FLYNN, L.; JIANG, Y.; RAGHUPATHY, S.; BIELEFELD, R. A.; GARVEY, M. T.; JACOBS, M. R.; KERN, J.; DEBANNE, S. M. Corneal Inflammatory Events with Daily Silicone Hydrogel Lens Wear. **Optometry and vision science.** v. 91, n. 1, p. 3-12, 2013.
- TAN, D. T.; JANARDHANAN, P.; ZHOU, H.; CHAN, Y. H.; HTOON, H. M.; ANG, L. P. Penetrating keratoplasty in Asian eyes: the Singapore corneal transplant study. **Ophthalmology.** v. 115, n. 6, p. 975-982, 2008.
- TEIXEIRA, M. F.; ALMEIDA JR, G. C.; RODRIGUES, M. L.; KAMIMOTO, P. S.; KASHIWABUCHI, L. K. Resultados e indicações de ceratoplastias penetrantes realizadas por médicos em treinamento, num país em desenvolvimento. **Arq Bras Oftalmol.** v.64, n. 6, p. 557-56, 2001.
- THENG, J.; CHAN, C.; LING, M. L.; TAN, D. Microsporidial keratoconjunctivitis in a healthy contact lens wearer without human immunodeficiency virus infection. **Ophthalmology.** v. 108, p. 976-978, 2001.
- TULI, S. S. Fungal keratitis. **Clinical Ophthalmology.** v. 5. p. 275–279, 2011.
- UMAMAGESWARI, S. S.; JEYA, M.; SUJA, C. Study of Bacterial and Fungal Profile of External Ocular Infections in a Tertiary Care Hospital. **National Journal of Laboratory Medicine.** v. 2, n. 3, p. 6-10, 2013.
- UPADHYAY, M. P.; KARMACHARYA, P. C.; KOIRALA, S.; SHAKYA, S.; SHRESTHA, J. K.; BAJRACHARYA, H.; GURUNG, C.K.; WHITCHER, J. P.

- The Bhaktapur eye study: ocular trauma and antibiotic prophylaxis for the prevention of corneal ulceration in Nepal. **Br J Ophthalmol.** v. 85, n. 4, p. 388-392, 2001.
- VAN DE PEER, Y.; BEN ALI, A.; MEYER, A. Microsporidia: accumulating molecular evidence that a group of amitochondriate and suspectedly primitive eukaryotes are just curious fungi. **Gene.** v. 246, p.1-8, 2000.
- VERANI, J. R.; LORICK, S. A.; YODER, J. S.; BEACH, M. J.; BRADEN, C. R.; ROBERTS, J. M.; CONOVER, C.S.; CHEN, S.; MC CONNELL, K. A.; CHANG, D. C.; PARK, B. J.; JONES, D. B.; VISVESVARA, G. S.; ROY, S. L. National outbreak of Acanthamoeba keratitis associated with use of a contact lens solution, United States. **Emerging Infectious Diseases.** v. 76, n. 1, p. 52-56, 2009.
- VERMUGANTI, G. K.; GARG, P.; SHARMA, S.; JOSEPH, J.; GOPINATHAN, U.; SINGH, S. Is Microsporidial keratitis an emerging cause of stromal keratitis? - a case de series study. **BMC Ophthalmology.** p.5-19, 2005.
- WALOCHNIK, J.; PICHER, O.; ASPÖCK, C.; Ullmann, M.; Sommer, R.; ASPOCK, H. Interactions of "Limax amoebae" and gram-negative bacteria: experimental studies and review of current problems. **Tokai J. Exp. Clin. Med.** v.23, p. 273-278, 1999.
- WEBER, R.; BRYAN, R. T.; SCHWARTZ, D. A.; OWEN, R. L. Human Microsporidial Infections. **Clinical Microbiology Reviews.** p. 426-461, 1994.
- WHITCHER, J. P.; SRINIVASAN, M.; UPADHYAY, M. P. Corneal blindness: a global perspective. **Bulletin of the World Health Organization.** v. 79, n.3, p. 214-221, 2001.
- WINN, W.C.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; KONEMAN, E.W.; PROCOP. G.W.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WOODS, G.L. **Koneman, diagnóstico microbiológico : texto e atlas colorido.** 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

- WONG, T.; ORMONDE, S.; GAMBLE, G.; MCGHEE, C. N. Severe infective keratitis leading to hospital admission in New Zealand. **Br J Ophthalmol.** v. 87, n. 9, p. 1103-1108, 2003.
- World Health Organization. Visual impairment and blindness. WHO- WHA62.1(2009-2013).[Internet]; 2011 [citado 2012 Jan 16]: Disponible en:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs282/en/index.html>.
- XIE, L., QI, F.; GAO, H.; WANG, T.; SHI, W.; ZHAO, J. Major shift in corneal transplantation procedures in north China: 5316 eyes over 12 years. **Br J Ophthalmol.** v. 93, n. 10, p. 1291-1295, 2009.
- YANG, Y. F.; MATHESON, M.; DART, J. K.; CREE, I. A. Persistence of acanthamoeba antigen following Acanthamoeba keratitis. **Br J Ophthalmol.** v.85, p. 277-280, 2001.
- YUEHUA, W.; XIANMIN, F.; LINZHE, J. Current advances in diagnostic methods of Acanthamoeba keratitis. **Chinese Medical Journal.** v. 127, n. 17, p. 3165-3170, 2014.
- ZHU, H.; THURUTHYIL, S. J.; WILLCOX, M. D. Determination of quorum-sensing signal molecules and virulence factors of Pseudomonas aeruginosa isolates from contact lens-induced microbial keratitis. **J. Med. Microbiol.** v. 51, p. 1063-1070, 2002.

APÊNDICE A: FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS

I. Dados socioeconômicos:

I.1 Nome do paciente:.....

I.2 Sexo: Fem. () Masc. ()

I.3 Idade em anos :.....

I.4 Atividade laboral:

Atividade:

Tempo de desenvolvimento da atividade.....

Comorbidade

Lesões ou aspectos clínicos concomitantes

Cirurgia ocular anterior.....

Uso de lente de contato

Trauma ocular

II. Dados clínicos:

II 1 Sinais e sintomas:.....

II.2 Infiltração do estroma:.....

II 3 Perfuração da córnea:.....

II.4 Tipo de material coletado:.....

II.5 Resultados dos exames:

DATA COLETA	GRAM	GIEMSA	ZIEHL-GABETT	CULTURA A.SANGUE/ A.CHOCOLATE	CULTURA SABOURAUD	PESQUISA DE ACANTHAMOEBA	MICROSPORÍDIO	PESQUISA DE FUNGOS
__/__/__								

II.6 Tratamento pré e pós resultados de exames:.....

II.7 Evolução clínica:.....

APÊNDICE B:

FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS NA VIGÊNCIA DE CERATITE

I Dados do paciente:

I.1- Nome do paciente.....

I.2- Sexo: Fem. () Masc. ()

I.3- Idade em anos:Procedência:.....

I.4- Atividade laboral:.....

I.5- Cirurgia ocular prévia: Sim () Não ()
Quando?.....

I.6- Doença sistêmica: Sim () Não () Qual:
.....

I.7- Início/...../.....

Tipo de sintomas:

I.9 -Trauma ocular: Sim () Não () Outro ().....
.....

I.10- Uso de lentes de contato: Sim () Não ()

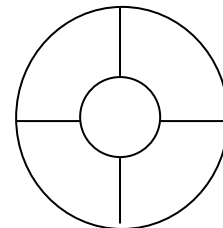
Tipo de lente:

Observações quanto à higienização/tempo de uso diário/outras:.....
.....

II Observação clínica:

II.1 Localização do infiltrado:

Temporal



Nasal

II.2 Diâmetro do infiltrado:.....

II.3 Infiltração do estroma: Sim () Não ()

II.4 Perfuração da córnea: Sim () Não ()

II.5: Complicações: Sim () Não ()

Quais:.....

II.9 Tratamento prévio/inicial

II.10 Tratamento pós resultados de exames:.....

II.11 Evolução clínica:.....

III Exames microbiológicos:

III-1 Tipo de material analisado:.....

III-2 Resultados preliminares (Bacterioscopia, pesquisa de fungos, pesquisa Acanthamoeba):

.....

III-3- Identificação do micro-organismo:.....

Anexo A



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

TERMO DE AUTORIZAÇÃO

PESQUISA EM PRONTUÁRIO

Exmo Sr Henrique, MD administrador do Instituto da Visão de Campo Grande, MS.

Eu, Eunice Stella Jardim Cury, aluna matriculada no Programa de Pós Graduação da UFMS, pela FAMED em Doenças Infecciosas e Parasitárias, venho requerer autorização para realizar coleta de dados, por meio de prontuários de pacientes com diagnóstico de Úlcera de Córnea, no período de Janeiro de 2008 a Maio de 2013, atendidos nessa instituição.

Estes dados subsidiarão o trabalho intitulado: ÚLCERAS DE CórNEA: ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DAS INFEÇÕES BACTERIANAS, FÚNGICAS E POR PROTOZOÁRIOS, projeto desta pesquisadora no mestrado.

Esclarecemos que por se tratar de um trabalho baseado em coleta de dados secundários, sua autorização servirá para viabilizar a tabulação dos dados necessários para a pesquisa. Informo ainda que todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente a pesquisadora e orientadora terão conhecimento dos mesmos.

Campo Grande, 28 de junho de 2013

Pesquisadora: Eunice Stella Jardim Cury _____

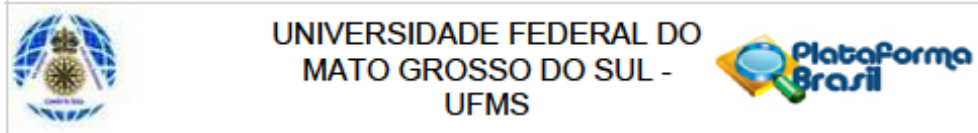
Autorização / Ciência: _____

ADM. Instituto da Visão

01.976.296/0001-43
INSTITUTO DA VISÃO DE MS S/S LTDA
Av. Arq. Rubens Gil de Camillo, n.º 83 Sl. 1
Chacara Cachoeira Cep: 79002-090
Campo Grande MS
I.M: 0008967400-00

Henrique Forquim

ANEXO B



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ÚLCERAS DE CórNEA: ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DAS INFECÇÕES BACTERIANAS, FÚNGICAS E POR PROTOZOÁRIOS

Pesquisador: EUNICE STELLA JARDIM CURY

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 22284913.1.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 438.313

Data da Relatoria: 28/10/2013

Apresentação do Projeto:

A ceratite ou úlcera de córnea é uma infecção que pode ser causada por bactérias, fungos, protozoários ou vírus. O espectro de microrganismos patogênicos varia de acordo com a localização geográfica e o clima. É a principal causa da perda de visão e cegueira, ficando a catarata em segunda colocação.

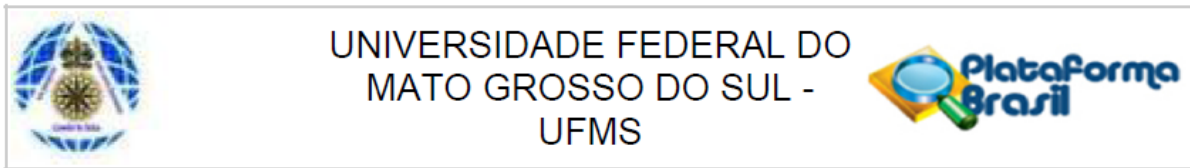
Ocorre em situações de caráter oportunista e multifatorial, tais como: modificação da microbiota da conjuntiva por medicações tópicas ou condições climáticas; destruição das defesas locais por trauma, cirurgias ou doenças oculares prévias ou a diminuição da resistência do hospedeiro devido a doenças sistêmicas ou drogas imunossupressoras.

Como a identificação do microrganismo depende de resultados laboratoriais que demandam certo tempo, o oftalmologista normalmente inicia uma terapia antimicrobiana baseada nos aspectos clínicos e na investigação dos possíveis fatores associados à ocorrência da infecção.

Nesse processo às vezes há necessidade de troca da terapia, por não ser o microrganismo inicialmente pensado, ou devido à resistência bacteriana. Pode ainda ocorrer uma associação de microrganismos numa mesma lesão, por exemplo, fungo e bactéria. Os esfregaços da córnea e outros procedimentos de diagnóstico molecular são importantes para o diagnóstico diferencial.

No Estado de Mato Grosso do Sul há vários fatores predisponentes para a ocorrência das

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Bairro: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** bioetica@propp.ufms.br



Continuação do Parecer: 438.313

ceratites bacterianas, fúngicas ou por protozoários, principalmente os seguintes: clima e atividades laborais referentes à pecuária e agricultura.

Diante do exposto, é relevante desenvolver um estudo das ceratites, na linha de pesquisa: aspectos laboratoriais e epidemiológicos das infecções fúngicas, bacterianas e virais, a fim de gerar conhecimento científico e subsidiar a práxis clínica e laboratorial relacionadas às infecções da córnea.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral:

Verificar aspectos epidemiológicos e dados clínicos de casos de úlcera de córnea, que possibilitem conhecer e relacionar as circunstâncias nas quais ocorreram, diagnóstico da lesão, evolução do quadro clínico e terapêutica utilizada.

Objetivos específicos:

- a) descrever os dados socioeconômicos dos casos com úlcera de córnea;
- b) caracterizar clinicamente os casos com úlcera de córnea, segundo agente etiológico, técnica laboratorial utilizada, terapêutica, evolução clínica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Esta pesquisa, por estar baseada na compilação de dados clínicos e resultados de exames realizados, não lesará nenhum indivíduo envolvido.

Benefícios:

Os resultados desta pesquisa servirão para produzir conhecimento acerca do diagnóstico, quadro clínico, dados laboratoriais, tratamento e evolução dos casos relatados de úlceras de córnea.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta relevância epidemiológica e científica. Há viabilidade à execução do projeto.

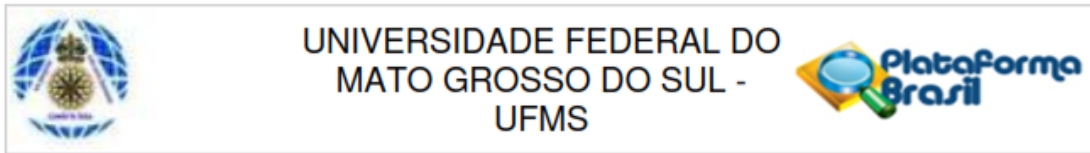
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta solicitação de dispensa de TCLE. Anexa autorização institucional à realização da pesquisa em local de coleta de dados. Anexa formulário para a coleta de dados.

Recomendações:

Não há.

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Bairro: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** bioetica@propp.ufms.br



Continuação do Parecer: 438.313

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CAMPO GRANDE, 28 de Outubro de 2013

Assinador por:
Odaír Pimentel Martins
(Coordenador)

GLOSSÁRIO

CERATITE	Inflamação da córnea (infiltrado corneano sobrejacente a um defeito epitelial)
CERATOPLASTIA PENETRANTE	Transplante de córnea
CHAPERONAS	Proteínas auxiliares com função de evitar que erros na transmissão da informação genética se propaguem na replicação, transcrição e tradução. presentes no citossol, nas mitocôndrias, no retículo endoplasmático
DESCEMETOCELE	Herniação da membrana de Descemet para dentro da córnea acometida por defeito em toda sua espessura
ENUCLEAÇÃO	Remoção completa do globo ocular com a desinserção dos músculos extraoculares e a secção do nervo óptico
EVISCERAÇÃO	Remoção de todo o conteúdo do globo ocular, preservando a esclera (branco do olho), a conjuntiva, os músculos extraoculares intactos
HIPÓPIO	Presença de reação leucocitária, com aspecto de “massa”, que se deposita na parte inferior da câmara anterior do olho
LAGOFTALMO	Incapacidade de fechar a pálpebra completamente
LASIK/EXCIMER LASER	Cirurgia ocular a laser para correção de miopia, astigmatismo, hipermetropia.
LEUCOMA	Opacidade da córnea

MELTING	“Derretimento” da córnea decorrente da degradação da camada de colágeno
OLHO SECO	Olho com volume ou função inadequada da lágrima
PARACENTESE	Punção com agulha fina da câmara anterior para retirada de humor aquoso
QUEMOSE	Edema conjuntival
ÚLCERA	Escavação no epitélio