



# “Estado actual en el diagnóstico de las infecciones oculares”

Dra. Segretin Eliana

8 Congreso de Infectología pediátrica

Jefe de la sección superficie ocular e infectología

Hospital Italiano de Buenos Aires

[eliana.segretin@hospitalitaliano.org.ar](mailto:eliana.segretin@hospitalitaliano.org.ar)

# Fundamentos

- Diagnóstico microbiológico
- Temprano = Vulnerabilidad = Pérdida irreversible visión



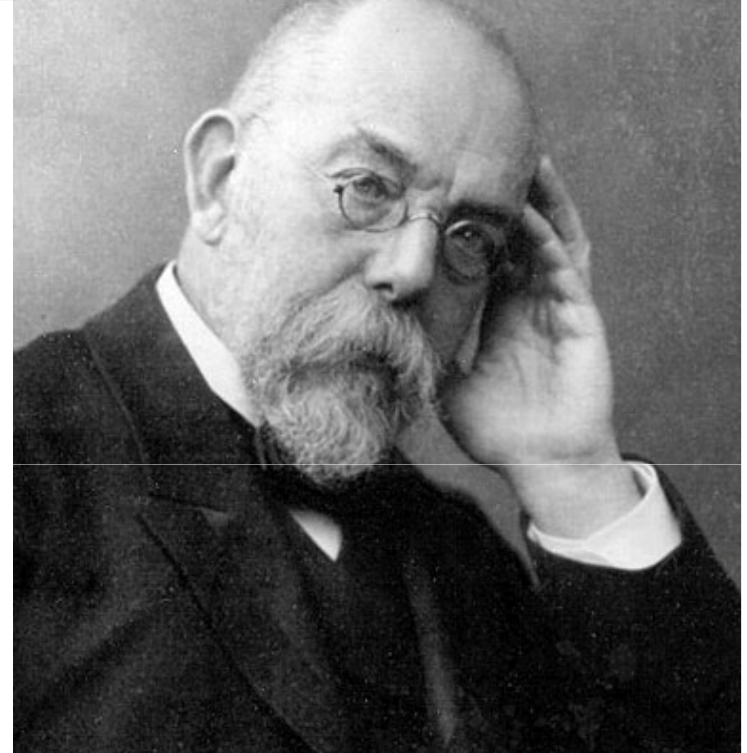
# Cultivos microbianos



- CULTIVOS KOCH 1880

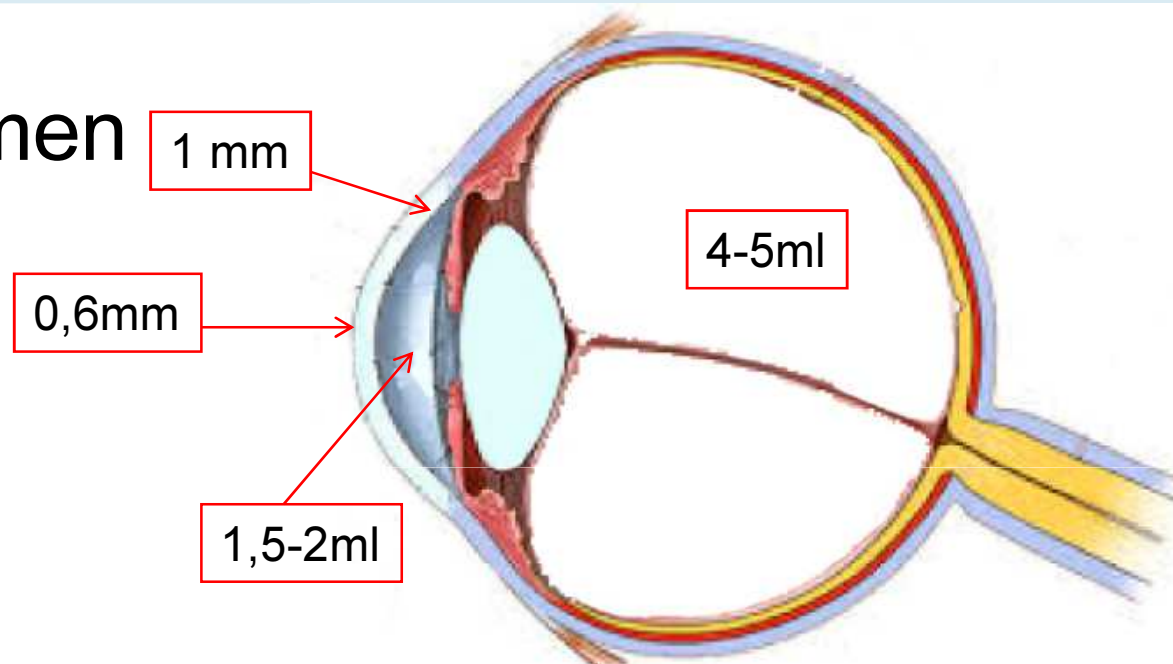
## Limitaciones

- Sensibilidad y tiempo
  - 70% Endoftalmitis
  - 55-60% Úlcera corneal /conjuntiva
  - Acanthamoeba bajo
  - Virus difíciles



# Bajo rendimiento de las muestras oculares

- Pequeño volumen material



- Medios transporte adecuados eviten
  - Dilución excesiva
  - Deshidratación
  - Pérdida de la muestra
- Comunicación efectiva



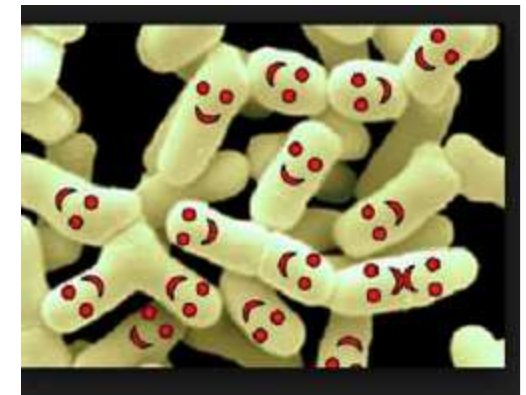
# ¿Cuáles son las ventajas de la PCR?

✓ Rapidez



✓ Sensibilidad y especificidad

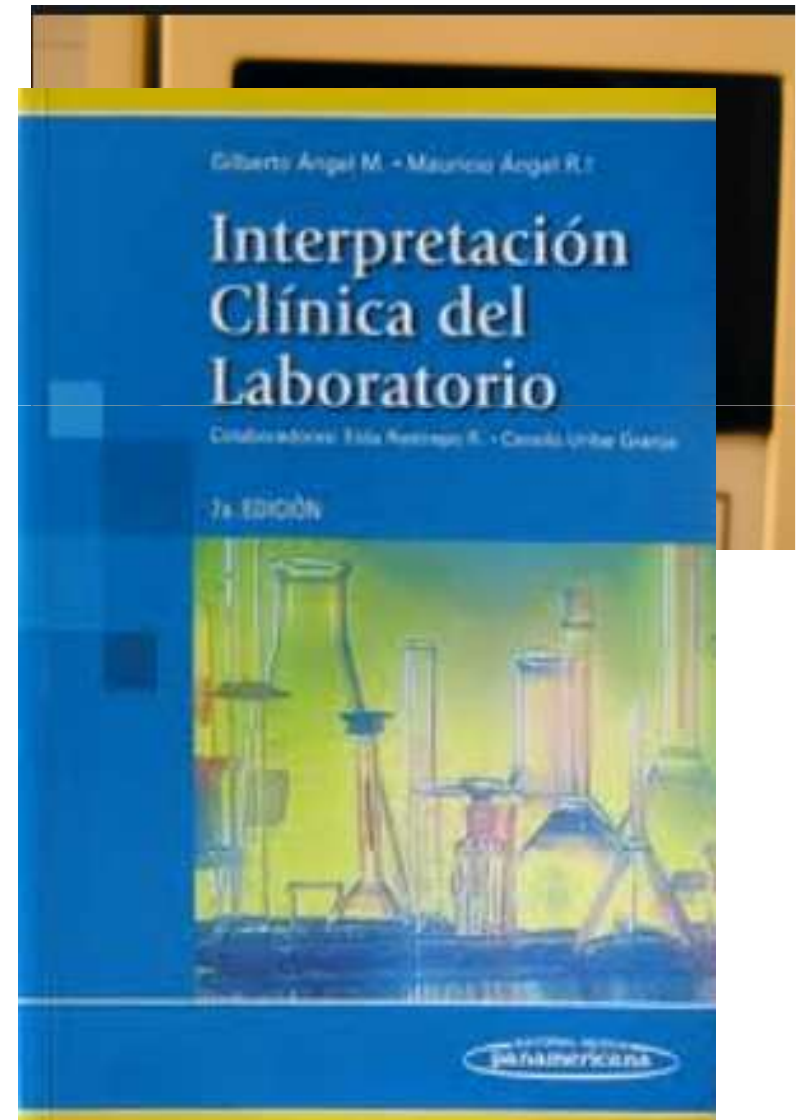
✓ No necesitan microorganismo viable



✓ Detectan microorganismo difíciles de cultivar

# ¿Cuáles son lo inconvenientes?

- ✓ Falsos positivos/negativos
- ✓ Interpretación clínica de los resultados



# ¿Qué gérmenes podemos buscar PCR?



## ✓ Bacterias Universales

- ✓ Gram +
- ✓ Gram –
- ✓ Propionibacterium acnes

## ✓ Micobacterias

- ✓ M. Tuberculosis
- ✓ M. Atípicas

## ✓ Hongos Universales

## ✓ Parásitos

- Acantamoeba
- Toxoplasma Gondii

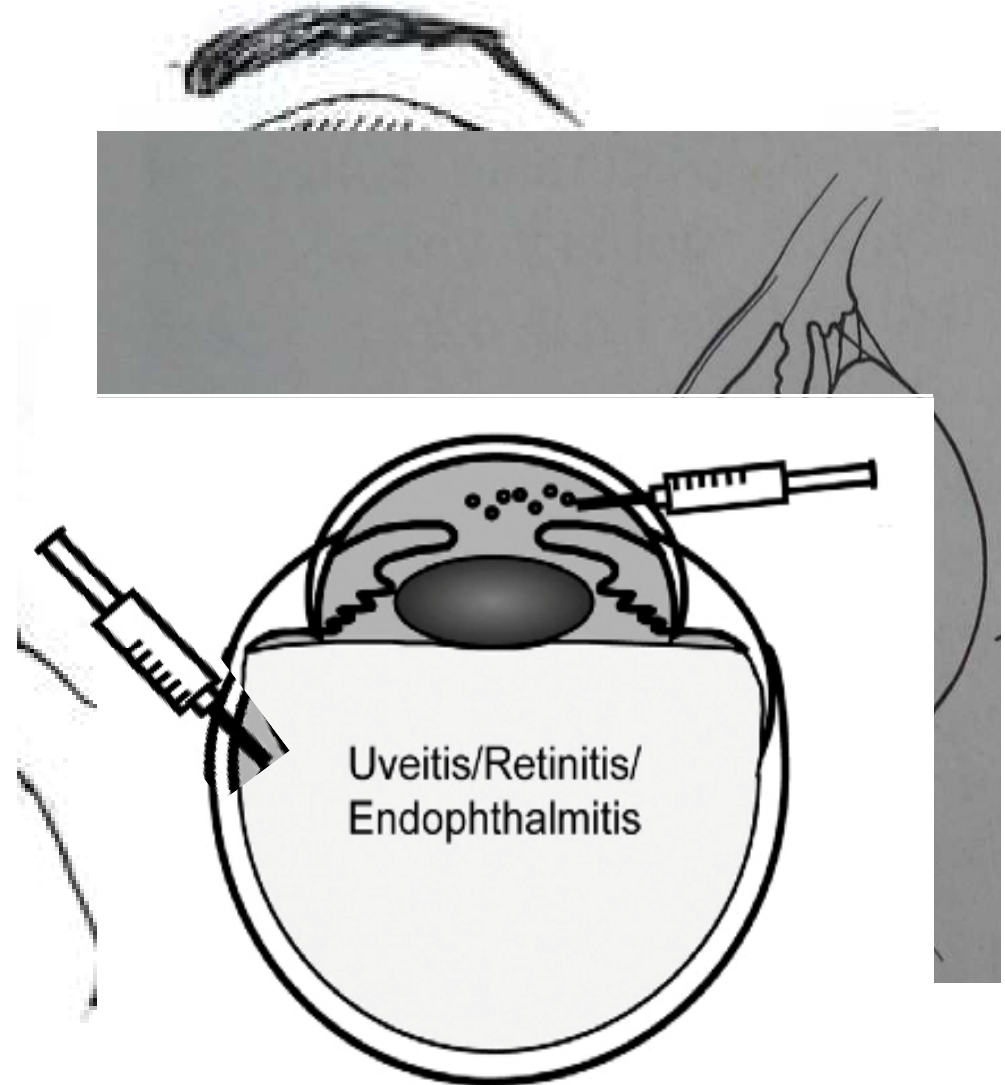
## ✓ Virus:

- ✓ Adenovirus
- ✓ VHS tipo 1 y 2
- ✓ VHZ
- ✓ CMV
- ✓ VEB

## ✓ Clamidia

# ¿De dónde tomamos la muestra?

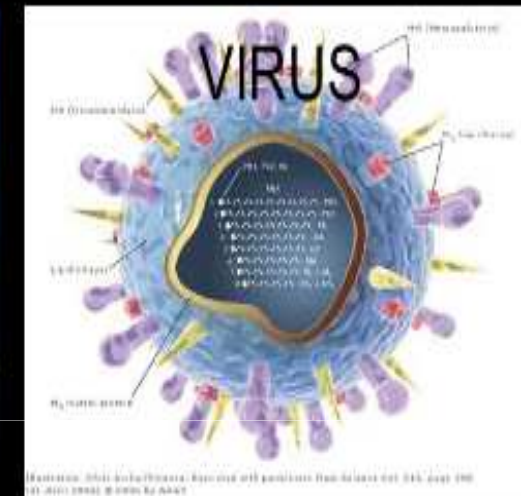
- ✓ Conjuntiva
  - Conjuntivitis
  
- ✓ Cornea
  - Queratitis infecciosas
  
- ✓ Cámara anterior
  - Endoftalmitis
  - Uveítis anteriores
  - Uveítis posteriores
  - Retinitis





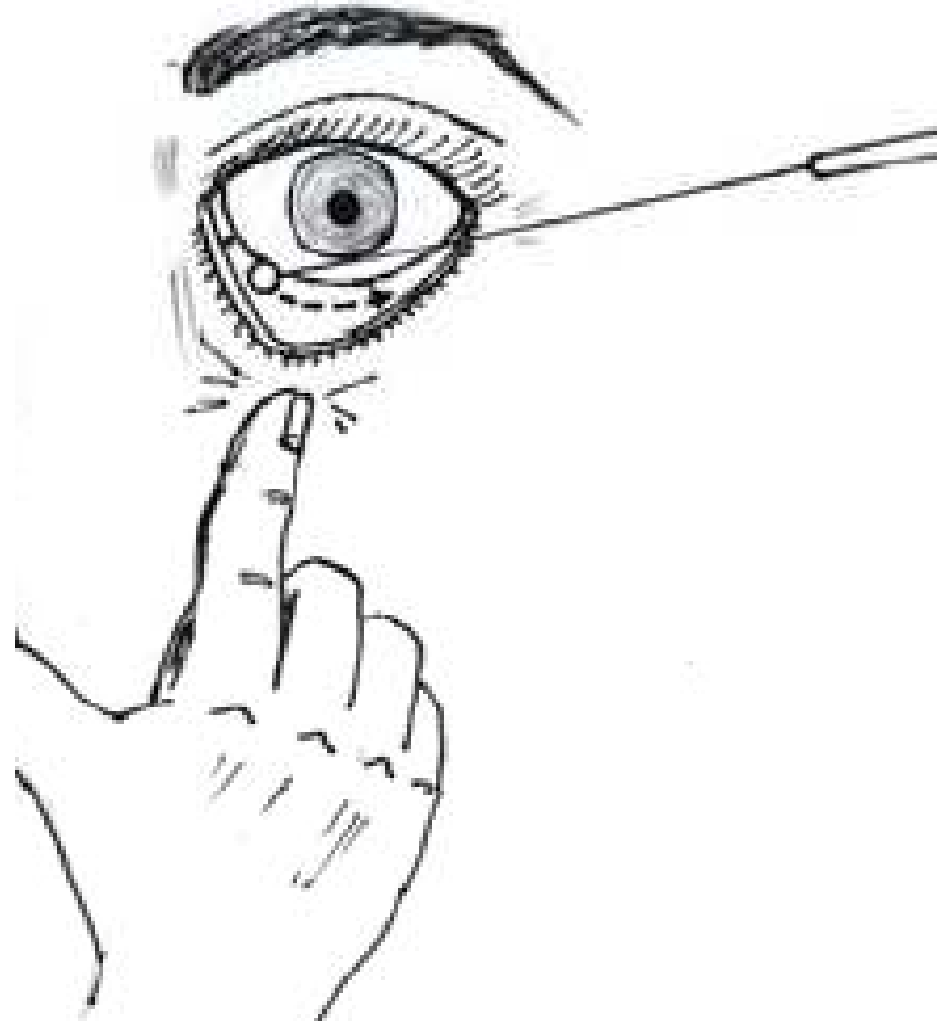
# ¿Qué sospechamos?

- ✓ Conjuntiva
- ✓ Cornea
- ✓ Uveitis/retinitis
- ✓ Endoftalmitis



# ¿De dónde tomamos la muestra?

- ✓ Conjuntiva
  - Conjuntivitis
  
- ✓ Cornea
  - Queratitis infecciosas
  
- ✓ Cámara anterior
  - Endoftalmitis
  - Uveítis anteriores
  - Uveítis posteriores
  - Retinitis

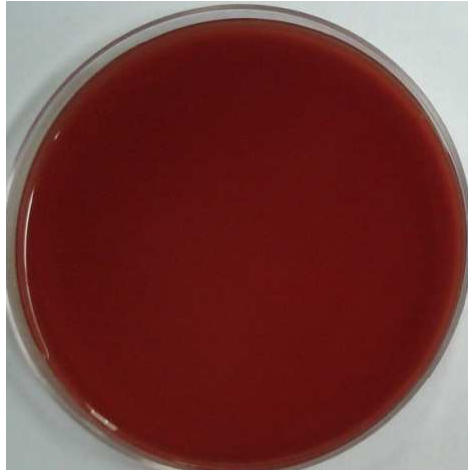


# ¿Cómo tomo la muestra de conjuntiva?

- ✓ Fondo de saco conjuntival
- ✓ Evitar tocar borde palpebral y pestañas
- ✓ Sin anestesia: no es dolorosa
- ✓ Hisopo dacron/SF



# Siembra en medios de cultivo



Agar sangre



Agar chocolate



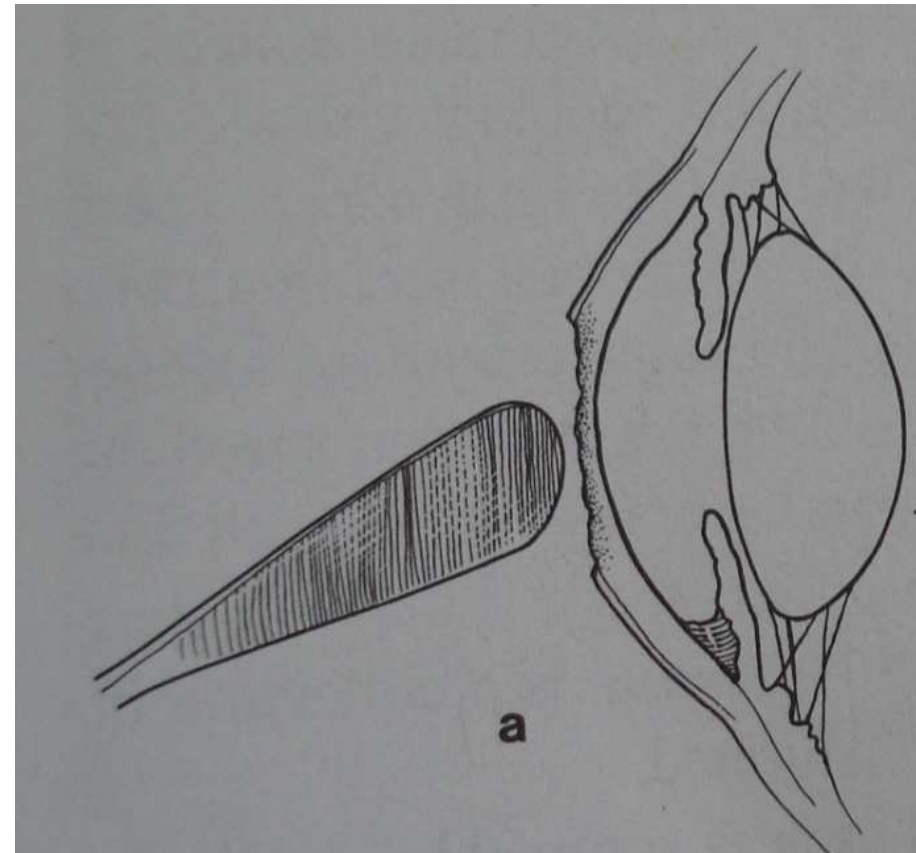
Agar Sabouraud



AMIES

# ¿De dónde tomamos la muestra?

- ✓ Conjuntiva
  - Conjuntivitis
  
- ✓ Cornea
  - Queratitis infecciosas
  
- ✓ Cámara anterior
  - Endoftalmitis
  - Uveítis anteriores
  - Uveítis posteriores
  - Retinitis



# Queratitis bacteriana



---

## Microorganismos

## Porcentajes

---

### Bacterias

70-90 %

Gram Positivas

55-80

Gram Negativas

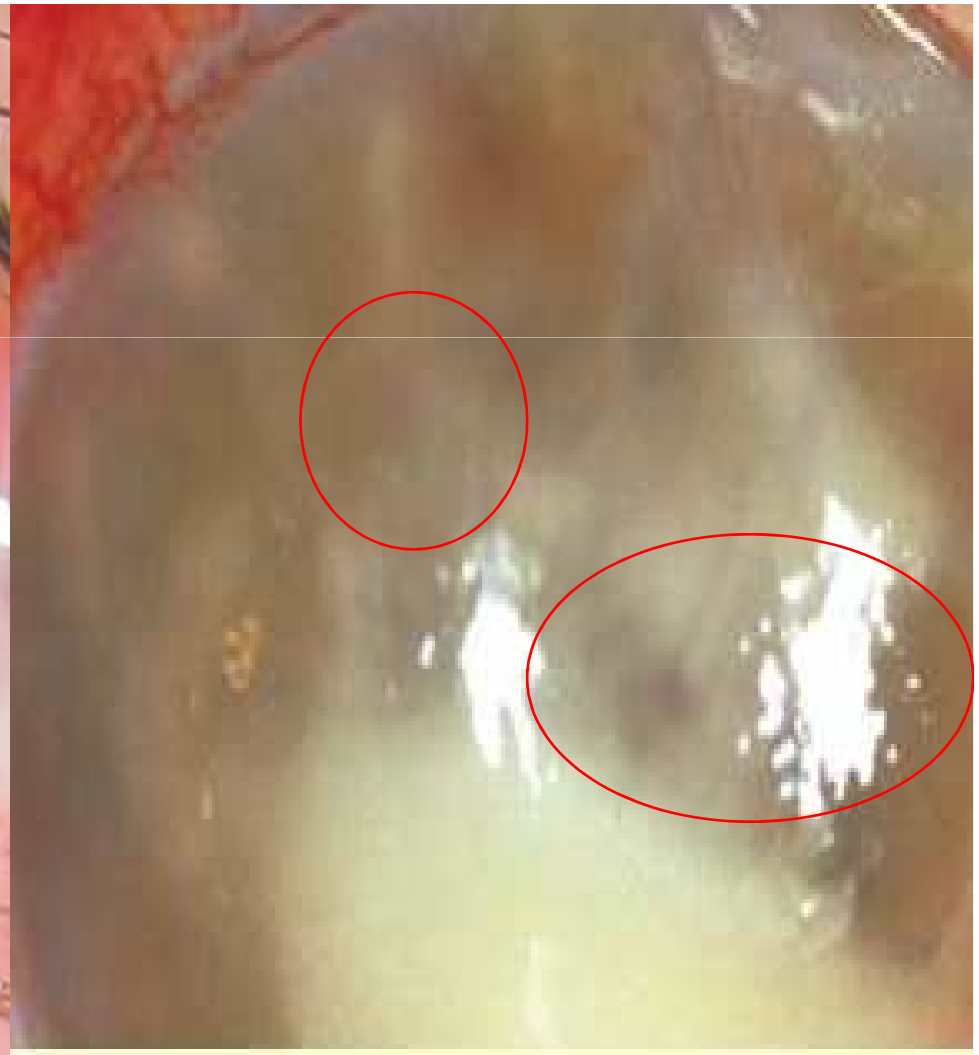
20-45

# Difícil de diferenciar

Queratitis bacteriana

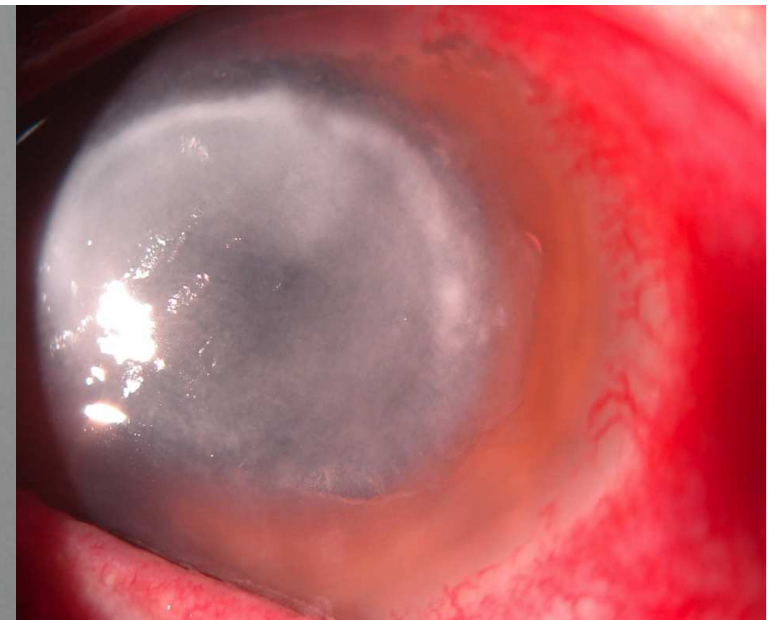
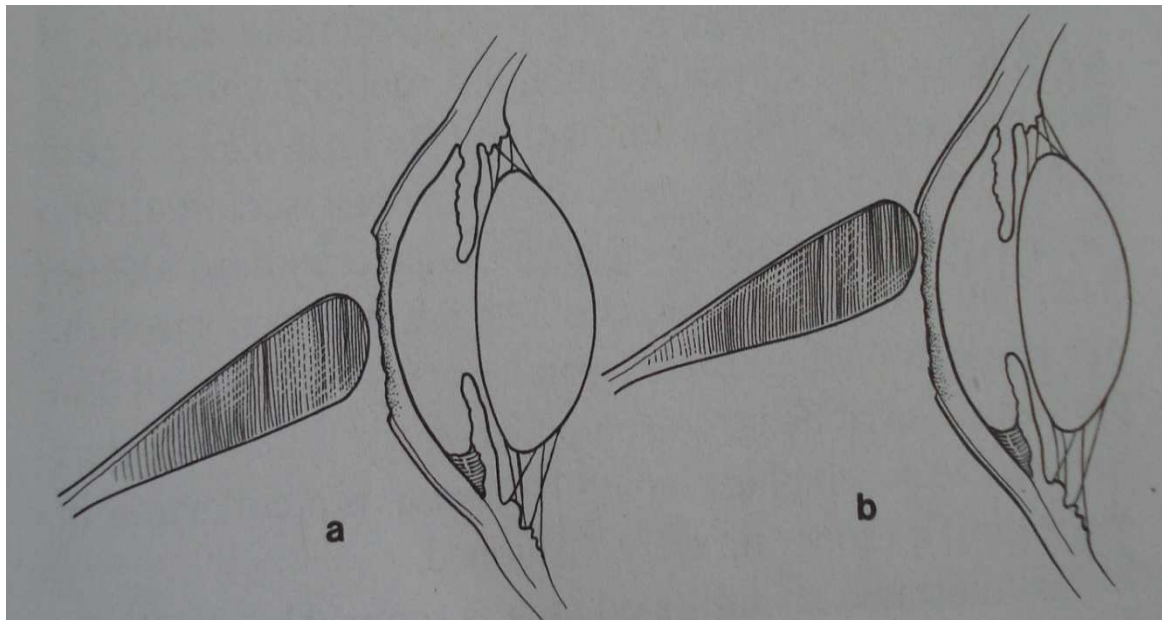


Queratitis micótica



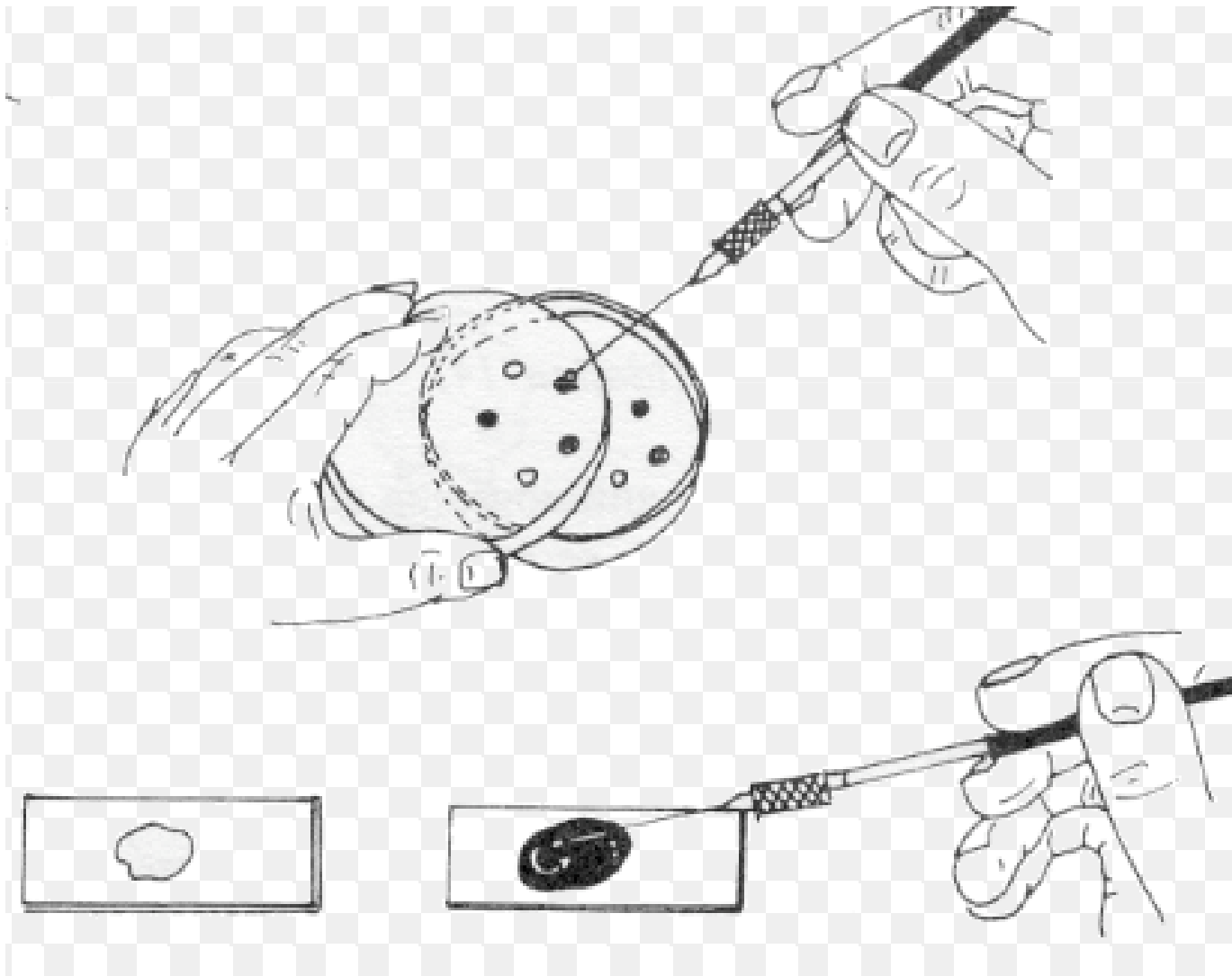
## ¿Cómo tomo las muestras de cornea?

- Lámpara de hendidura
- Proparacaína 0.5%
- Jeringa con aguja 30 G o bisturi
- Raspado de la lesión bordes y lecho más profundo





# Extendido y siembra



Directo: Gram,  
giemsa,  
calcofluor

# ¿Cómo tomo muestras para PCR?

- ✓ Tubo estéril
- ✓ Mínimo tiempo abierto
- ✓ Bajo medidas de esterilidad
- ✓ Pedido de PCR



# Bacterias y hongos

## Cultivos vs PCR



	<b>Sensibilidad bacterias<sup>1</sup></b>	<b>Sensibilidad hongos</b>
Cultivos	57,8%	59,09%
PCR	87,88%	90,91%

➤ PCR especificidad 94,7%<sup>2</sup>

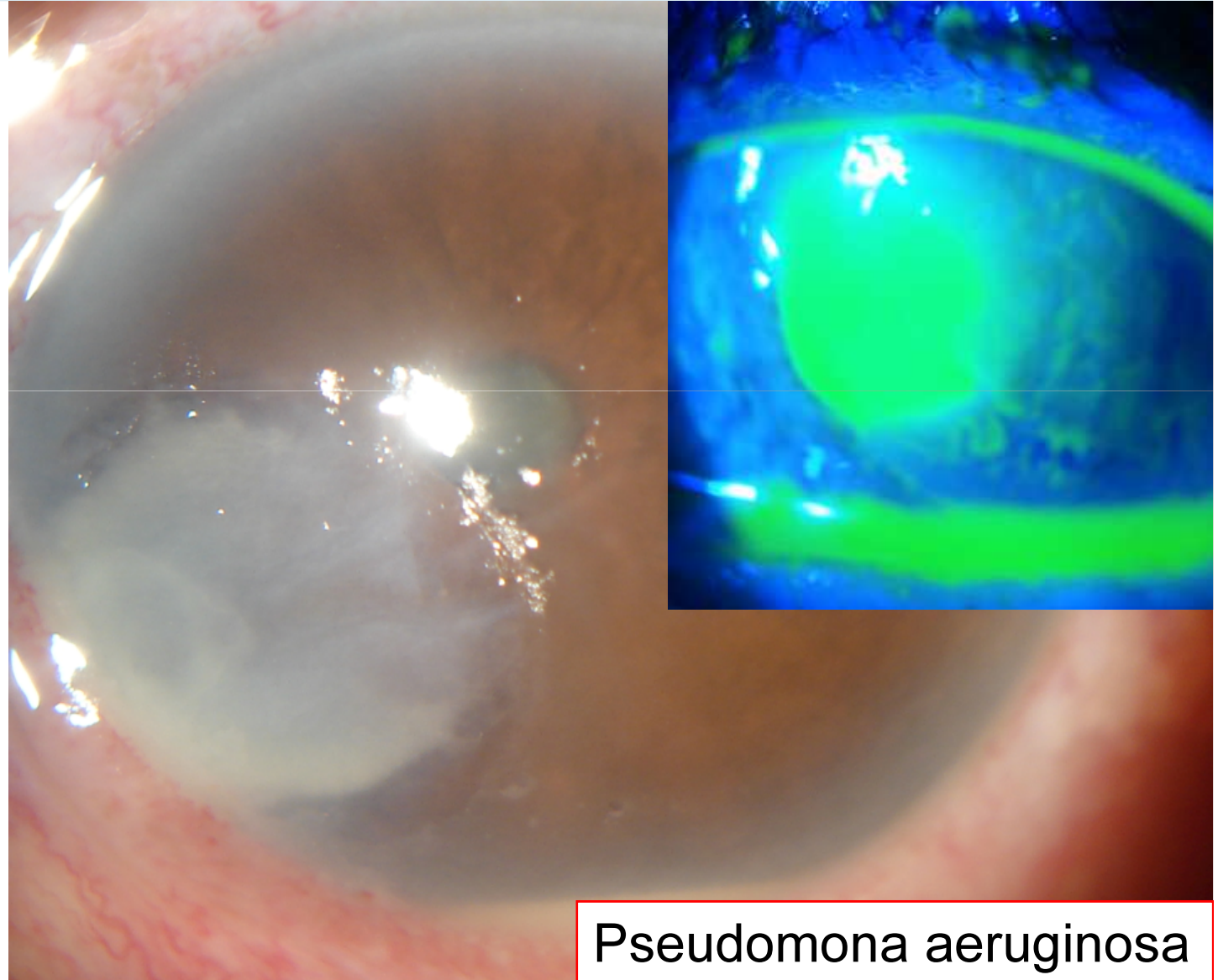
- FALSOS + Bacterias (flora normal)

**HONGOS!!!**

1. Eleinen KG, Mohalhal AA, Elmekawy HE, et al. Polymerase chain reaction-guided diagnosis of infective keratitis - a hospital-based study. *Curr Eye Res.* 2012; 37:1005–1011
2. Tananuvat N, Salakthuantee K, Vanittanakom N, et al. Prospective comparison between conventional microbial work-up vs PCR in the diagnosis of fungal keratitis. *Eye (Lond).* 2012; 26:1337–1343.

# Queratitis bacteriana

✓ PCR BACTERIA  
GRAM -



*Pseudomonas aeruginosa*

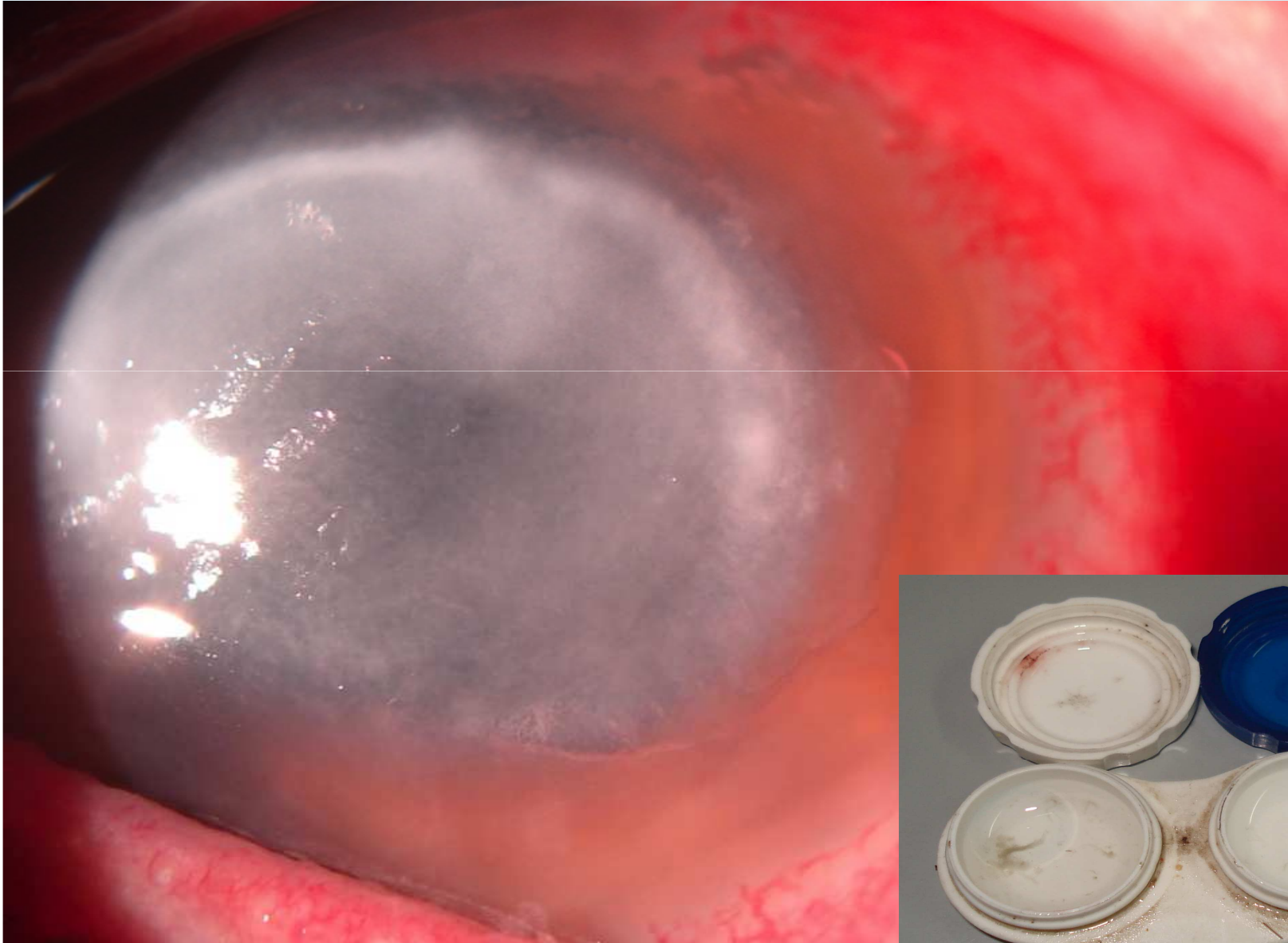
# Queratitis micótica

- ✓ PCR HONGOS +
- ✓ TRAUMA CON PIEDRA

PAECILOMYCES SP



# Queratitis por acantamoeba



# Queratitis por acantamoeba



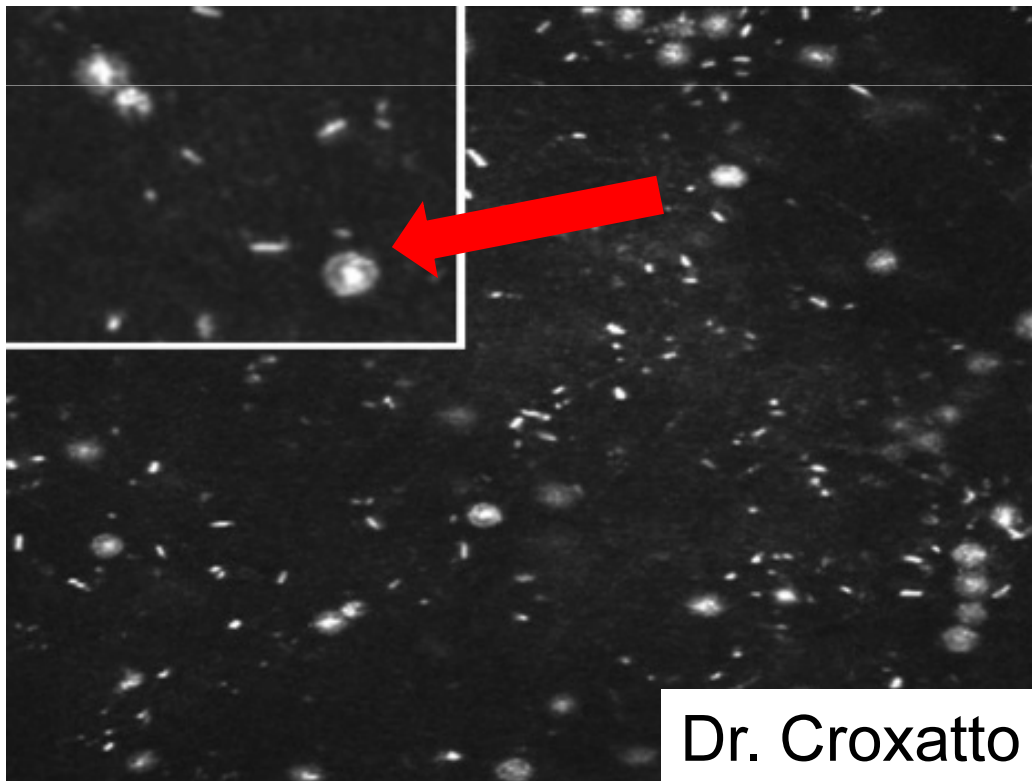
- ✓ 50 % diagnóstico tardío: síntomas y difícil aislamiento

	PCR <sup>1</sup>	Cultivos
Especificidad	95%	
Sensibilidad	84%	53%
Lagrmas	66%	

1. Lehmann OJ, Green SM, Morlet N: Polymerase chain reaction analysis of corneal epithelial and tear samples in the diagnosis of Acanthamoeba keratitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 39:1261–5, 1998

# MICROSCOPIA CONFOCAL

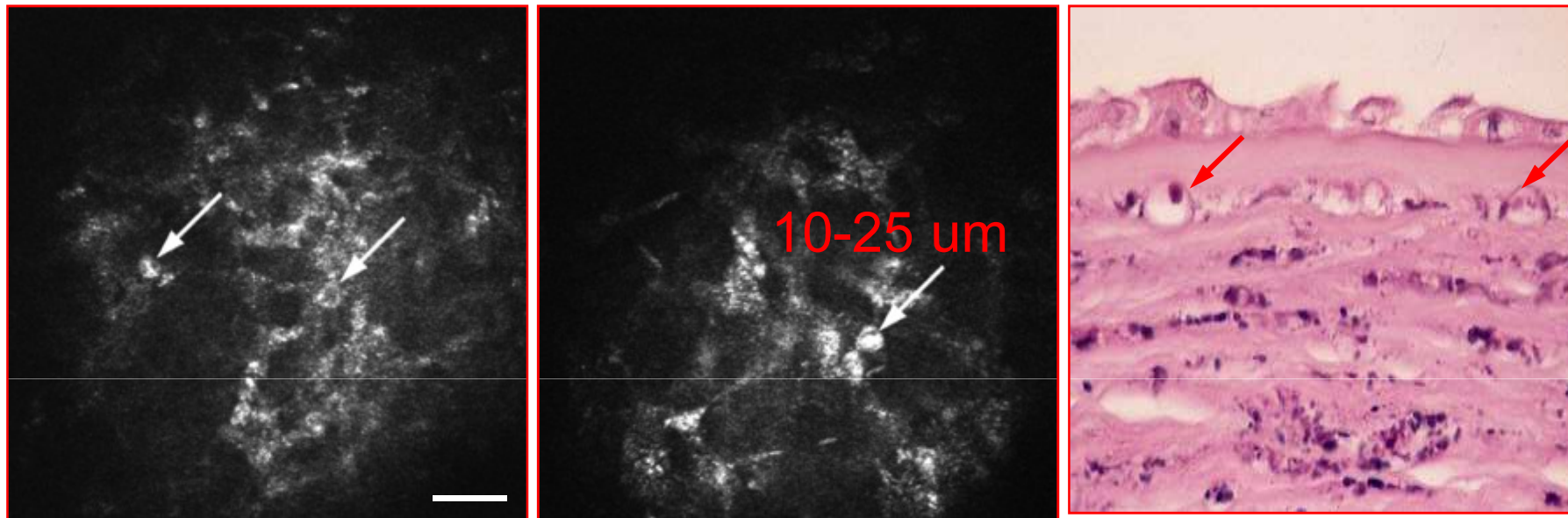
- Quistes hasta descemet



✓ PCR + acantamoeba



# Microscopía confocal



Virus: 0,012-0,025  $\mu\text{m}$   
Bacterias: 0,5-1,5  $\mu\text{m}$   
Hongos: 3-7  $\mu\text{m}$  levadura  
36 x 5,5  $\mu\text{m}$  hifas  
***Acanthamoeba*: 10-25  $\mu\text{m}$**   
Endotelio: 20  $\mu\text{m}$

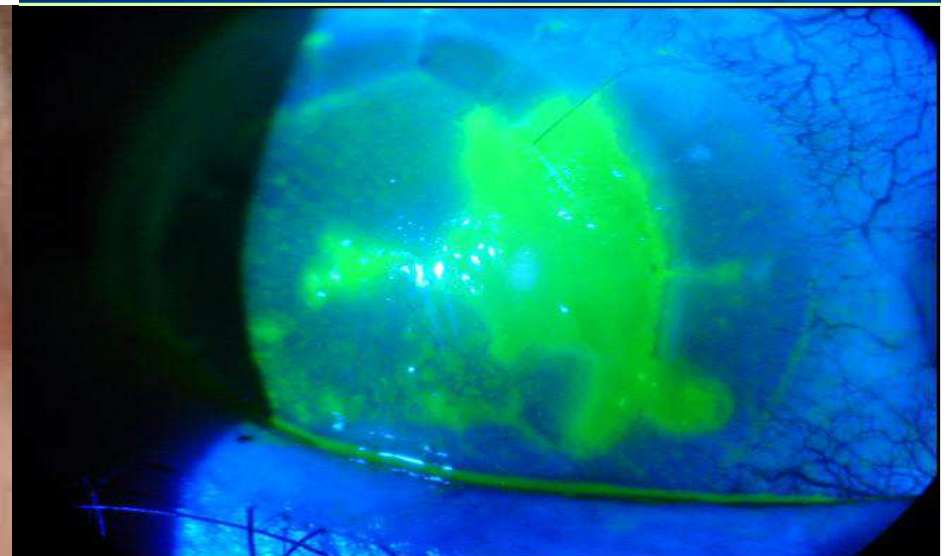
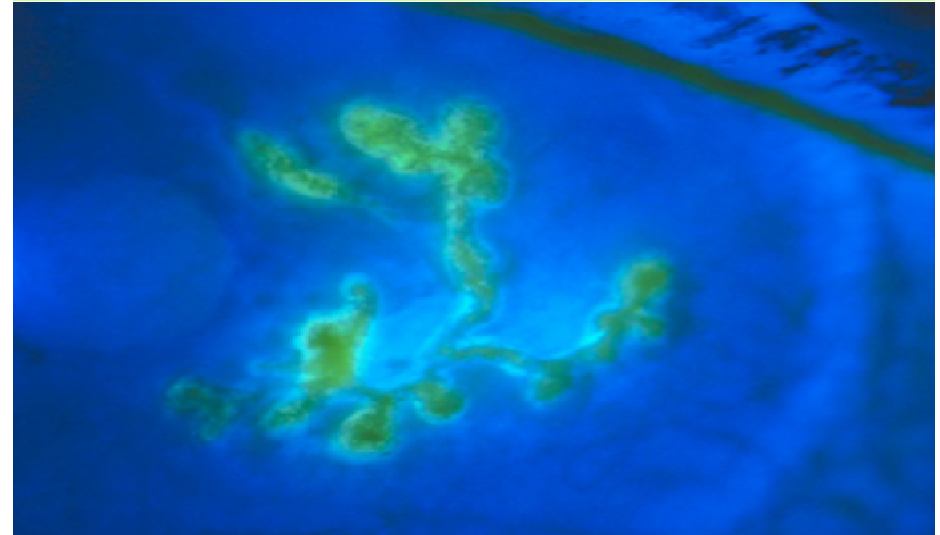
Dr. Croxatto

➤ Sensibilidad 94%  
➤ Especificidad 78%

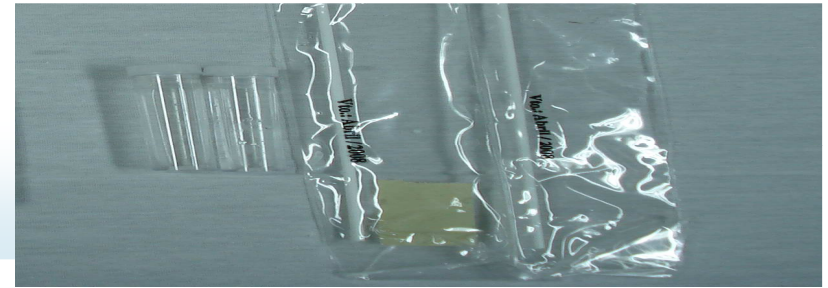
- ❖ Parmar DN y col. Tandem scanning confocal corneal microscopy in the diagnosis of Suspected acanthamoeba keratitis. Ophthalmology 2006;113:538-47.
- ❖ Kanavi et al. Sensitivity and specificity of confocal scan in the diagnosis of infectious keratitis. Cornea 2007;26:782-6.

# Conjuntivitis o queratitis virales

- Dx clínico
- VHS
- VHZ
- Adenovirus
- Clamidia



# Queratoconjuntivitis



Sensibilidad	PCR	Cultivos
Adenovirus	98%	53%
Herpes	92%	94,5%
Clamidia	100%	71% (Dot blot test)

Elnifro EM, Cooper RJ, Klapper PE, et al. Multiplex polymerase chain reaction for diagnosis of viral and chlamydial keratoconjunctivitis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000; 41:1818–1822. [PubMed: 10845603]

# Diagnóstico en el consultorio: Adenovirus

- Adenoplus (Ag: proteína hexón, 2 acs monoclonales)
  - 10 minutos
  - Sensibilidad: 50-90 %
  - Especificidad: 96 %



# ¿De dónde tomamos la muestra?

## ✓ Conjuntiva

- Conjuntivitis

## ✓ Cornea

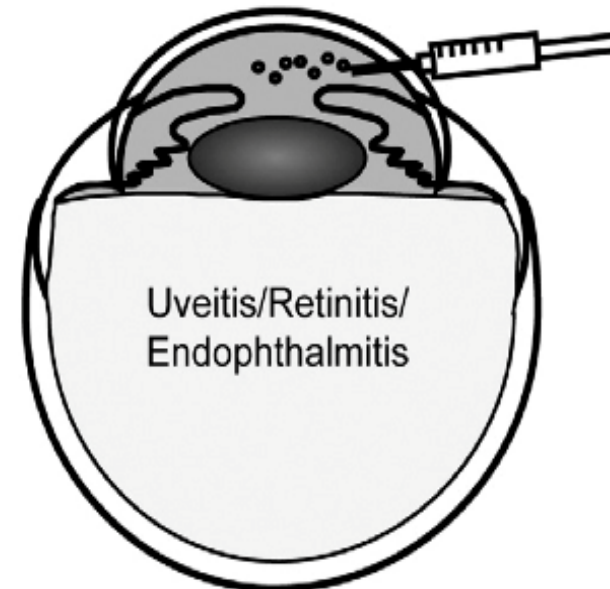
- Queratitis infecciosas

## ✓ Cámara anterior

- Endoftalmitis
- Uveítis anteriores
- Uveítis posteriores
- Retinitis

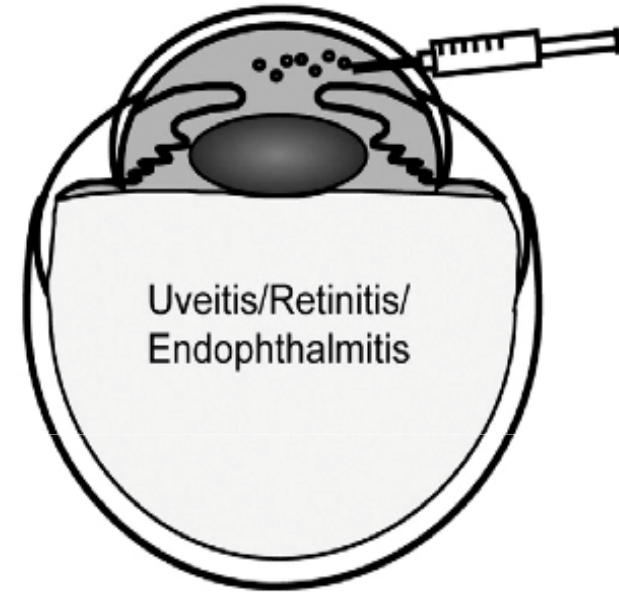
## ✓ Vitreo

- Endoftalmitis
- Uveítis posteriores
- Retinitis



# Indicaciones: punción de cámara anterior

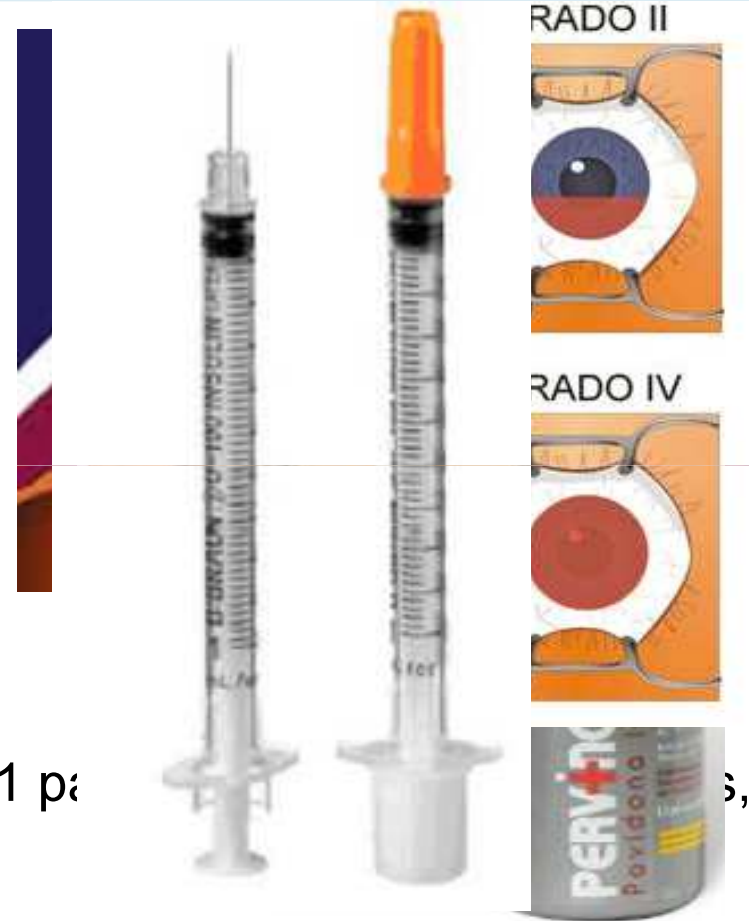
- ✧ Uveítis anteriores severas
- ✧ Uveítis posteriores atípicas
- ✧ Uveítis recurrentes severas
- ✧ Uveítis recalcitrantes al tratamiento
- ✧ Sospecha uveítis infecciosa y no se ve fondo de ojo.



# ¿Cómo tomo la muestra de humor acuoso?

## ***Paracentesis de CA***

- ✓ LH o microscopio
- ✓ Anestesia tópica
- ✓ Profilaxis y antisepsia
  - Antibióticos previos
  - Iodopovidona 10% y 5%
  
- ✓ Jeringa 27-30 G: 0.1-0.2 ml
- ✓ Complicaciones: ninguna grave en 361 pa (endofalmitis)<sup>1</sup>
  - Hipema 7 casos



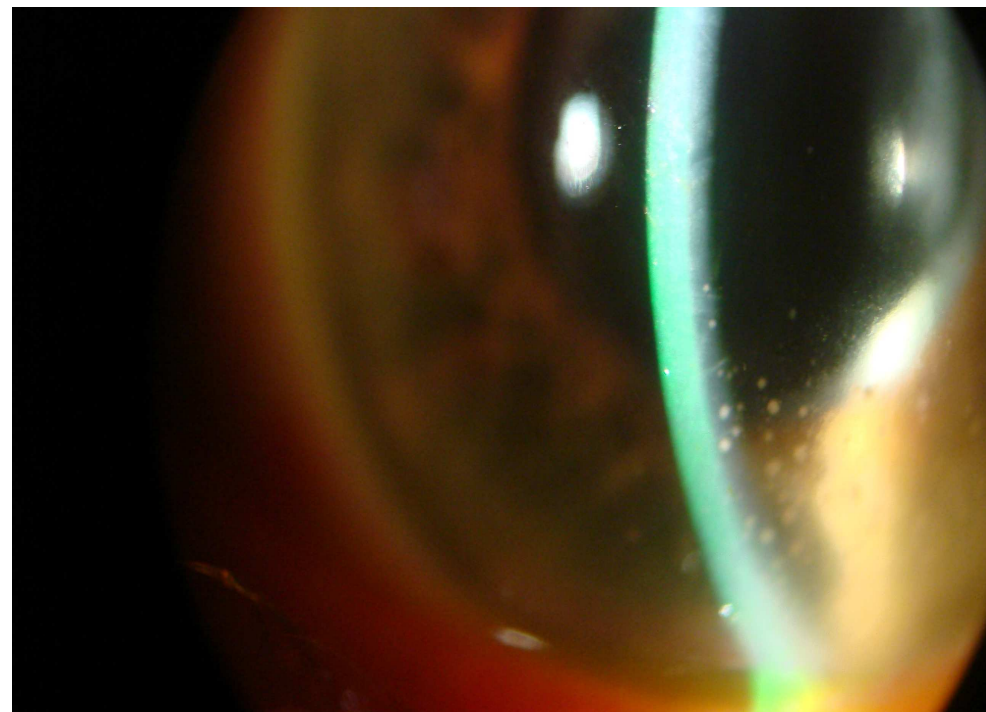
1. Van der Lelij A, Rothova A. Diagnostic anterior chamber paracentesis in uveitis: a safe procedure? Br J Ophthalmol 1997;81:976 – 9.

2. Verbraak FD, Galema M, van den Horn GH, et al. Serological and polymerase chain reaction-based analysis of aqueous humour samples in patients with AIDS and necrotizing retinitis. AIDS 1996;10:1091–9.

# Uveítis anteriores 60%

## No infecciosas: >50%

- HLA B27+
- Espondiloartropatías
- Sarcoidosis
- Behcet



## Infecciosas 20-30%: VHS, VHZ > frecuentes en occidente

1. Bloch-Michel E, Nussenblatt RB. International Uveitis Study Group recommendations for the evaluation of intraocular inflammatory disease. *Am J Ophthalmol* 1987;103(2):234–235.

2. Wakefield D, Chang JH. Epidemiology of uveitis. *Int Ophthalmol Clin* 2005;45(2):1–13.



# Punción de CA en uveítis anterior



- ✓ En pacientes con clínica sugestiva de infección viral
  - Atrofia de iris o PK pigmentados
  - Se justifica prueba empírica con antivirales
  
- ✓ Casos no responde al tto empírico:
  - Punción de CA:
    - PCR HSV, VZV, and CMV
  - Si es necesario rotar el antiviral o dosis
  
- ✧ 24 % se alteró el tratamiento secundario a la punción + PCR

❖ Anwar, Galor et al. Am J Ophthalmol 2013;155:781–786.

# Uveítis posteriores



- ✓ Punción de CA: humor acuoso
  - Uveítis activa con resultados negativos de screening inicial
  - Uveítis severa: diagnóstico y tratamiento temprano es esencial (retinitis virales)
  - Opacidad de medios (catarata, vitreo denso)
  - Toxoplasmosis atípicas
  - Uveítis no responde con curso de corticoides
  - Endoftalmitis
  - Inmunosuprimidos

# Uveítis posteriores



- ✓ Biopsia o punción vitrea
  - Punción HA Negativa y/o falta de respuesta clínica
  - Endoftalmitis
  - Sospecha malignidad

# ¿Cómo tomo la muestra de vitreo?

## *Punción vitrea*

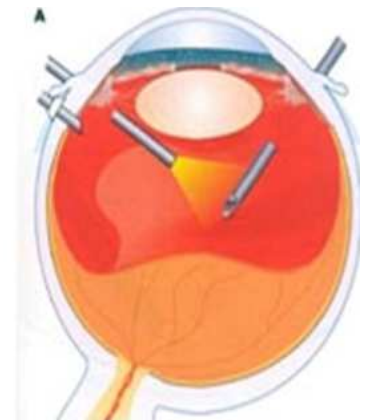
- Microscopio quirúrgico
- Profilaxis ATB y antisepsia
- Anestesia local o subtenoniana
- Jeringa 21-23 G: 0,2 ml
- Directamente enviar jeringa
- Cultivos



# ¿Cómo tomo la muestra de vitreo?

## ***Vitrectomía diagnóstica***

- Síndrome de enmascaramiento
  - Uveítis posteriores que no responden al tto/vitreo denso
  - Endoftalmitis
- 
- Biopsia seca: 0.5-0.7 ml sin diluir
  - Casette de infusión
- 
- Complicaciones: DR

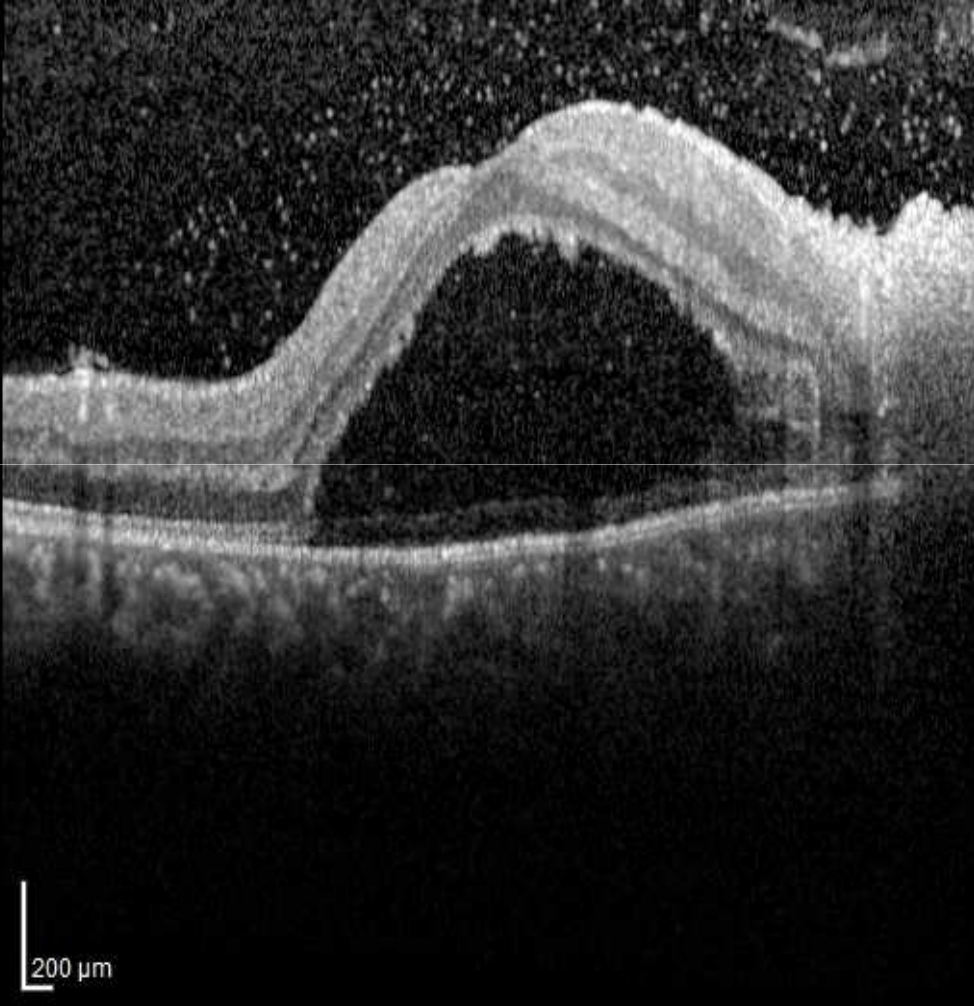


# PCR: Uveítis posteriores



- ✓ Toxoplasmosis
  - Sensibilidad:
    - 77% PCR + IGG intraocular
    - 91% PCR + IGA
  
- ✓ Sífilis: VDRL, Ftabs, PCR
  
- ✓ TBC: PCR 35% sensibilidad (1-2% TBC)

# TOXOPLASMOSIS: dx clínico



ZSCHOCKE, NEDBAL KALIL, 27/02/1997, #1083855

08/09/2014, OD

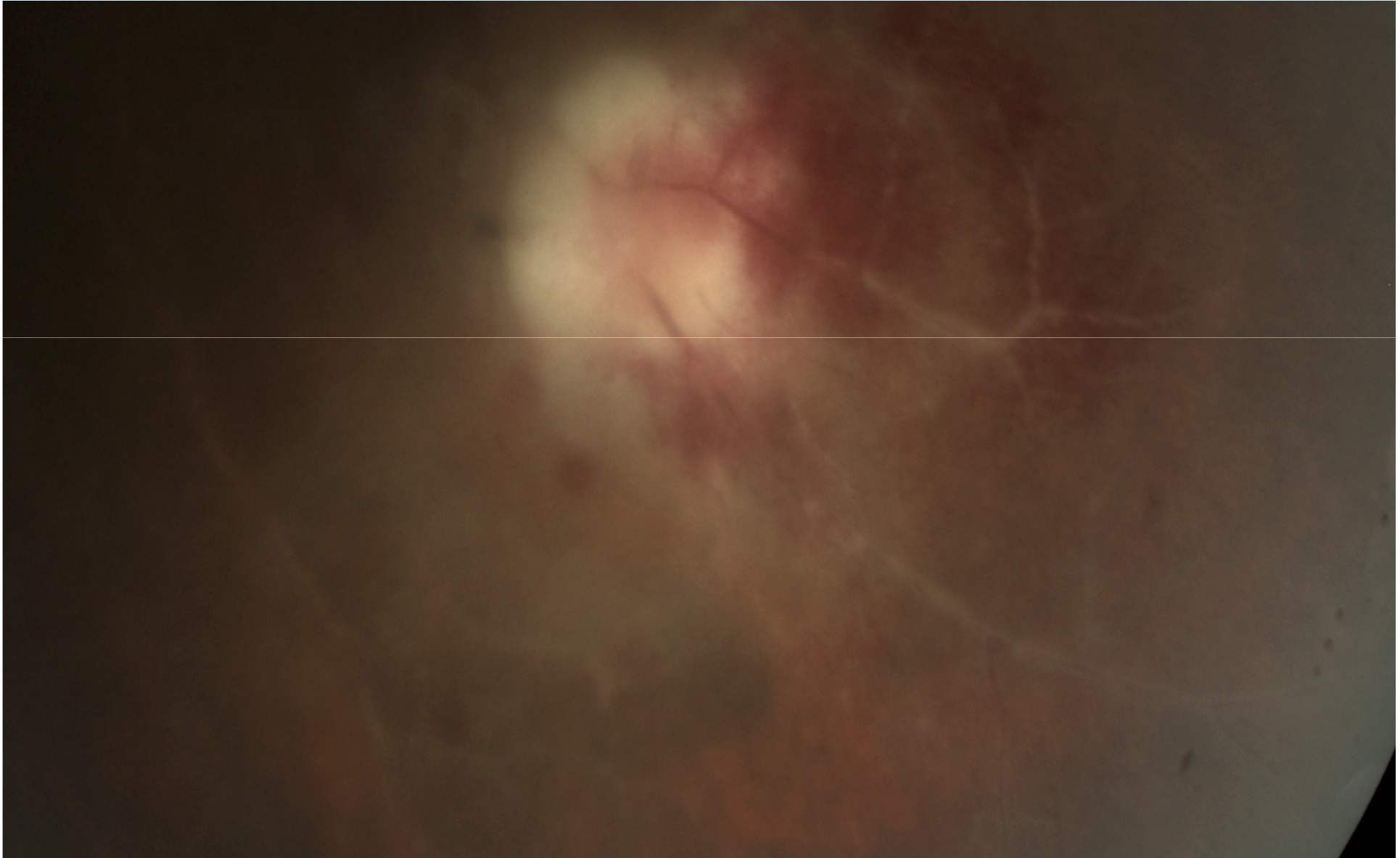
MColor&OCT 30° IHS LAB(9) O: 24

# TOXOPLASMOSIS





# TOXOPLASMOSIS ATIPICAS



# Atípicas inmunosuprimidos



# Retinitis necrotizantes herpéticas



## 3 entidades:

✓ NRA

✓ NREP

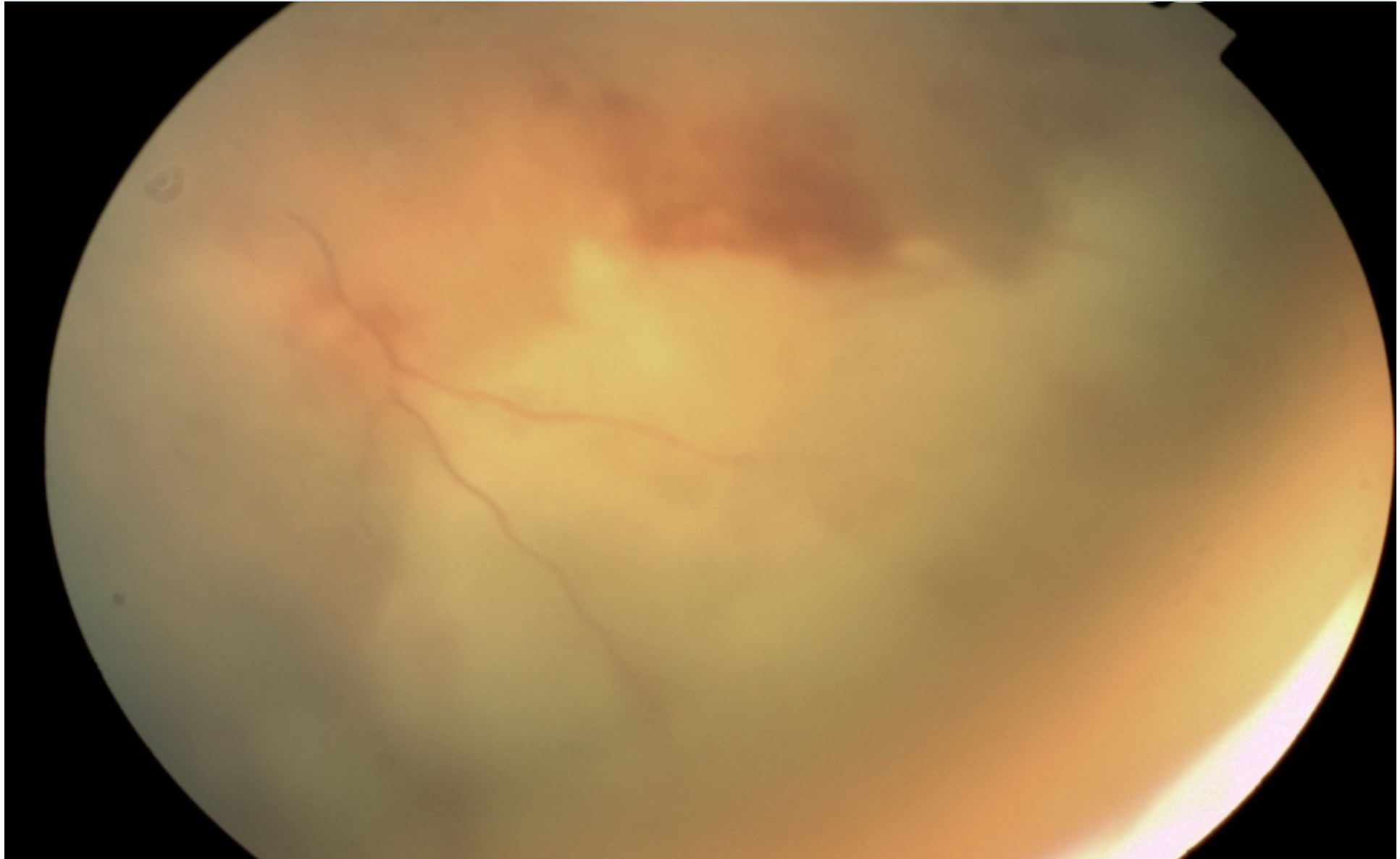
✓ CMV

PCR humos acuoso <sup>1,2</sup>	Sensibilidad	Especificidad
VHZ , VHS, CMV	>90%	95%

1. Abe T, Sato M, Tamai M. Correlation of varicella-zoster virus copies and final visual acuities of acute retinal necrosis syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1998; 236:747–752.

2. Mitchell SM, Fox JD, Tedder RS, et al. Vitreous fluid sampling and viral genome detection for the diagnosis of viral retinitis in patients with AIDS. *J Med Virol.* 1994; 43:336–340.

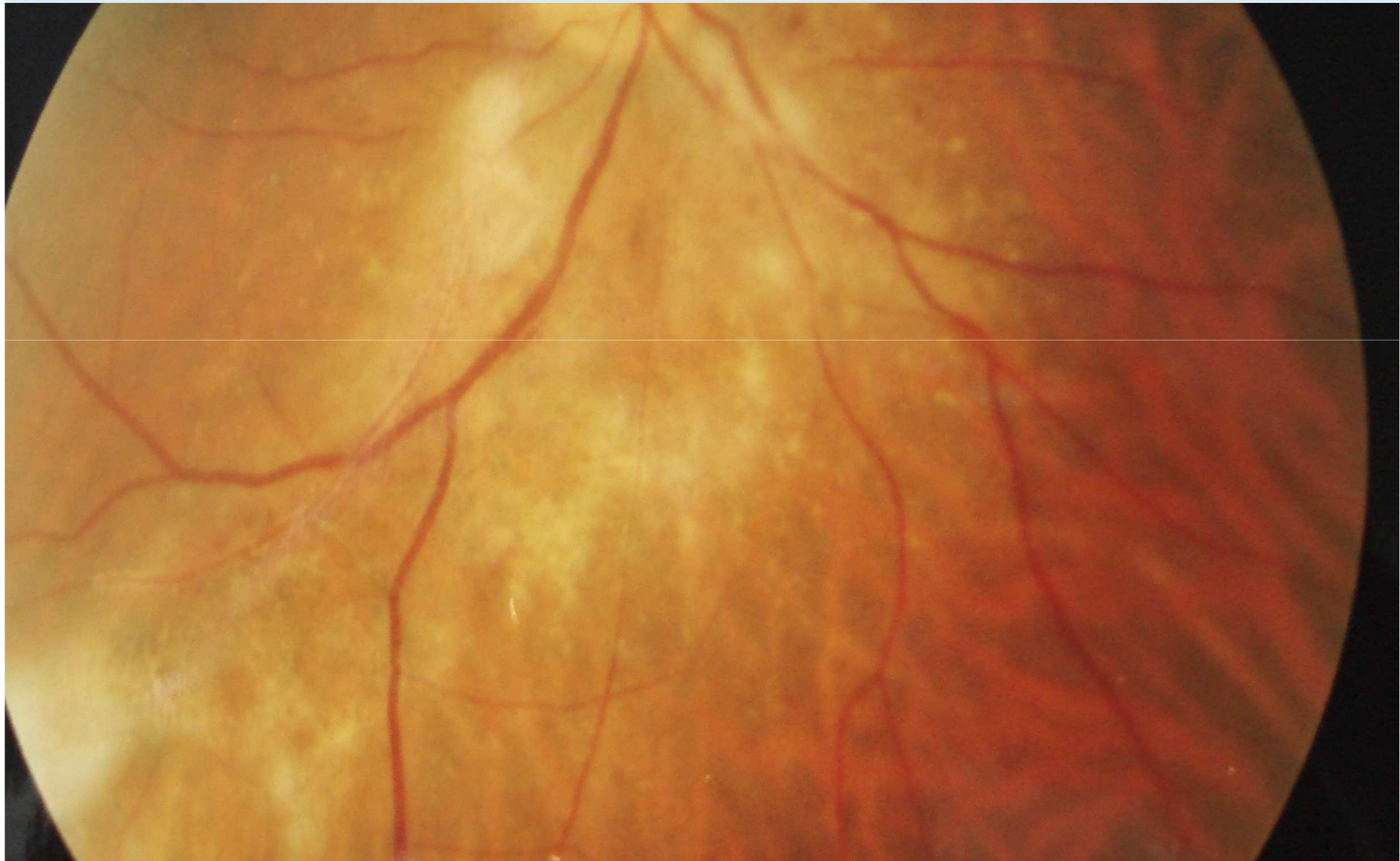
# Vitreítis x/xxxx NRA



# PORN



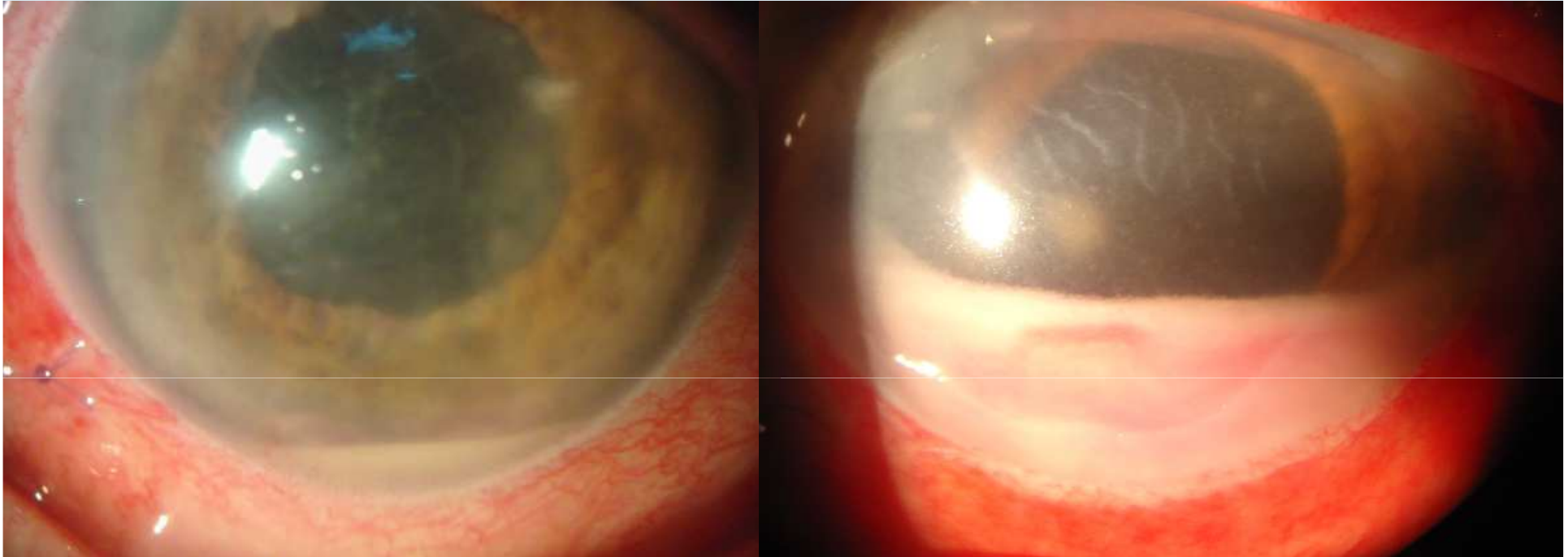
# CMV



# CMV



# Endoftalmitis exógena





# Endoftalmitis

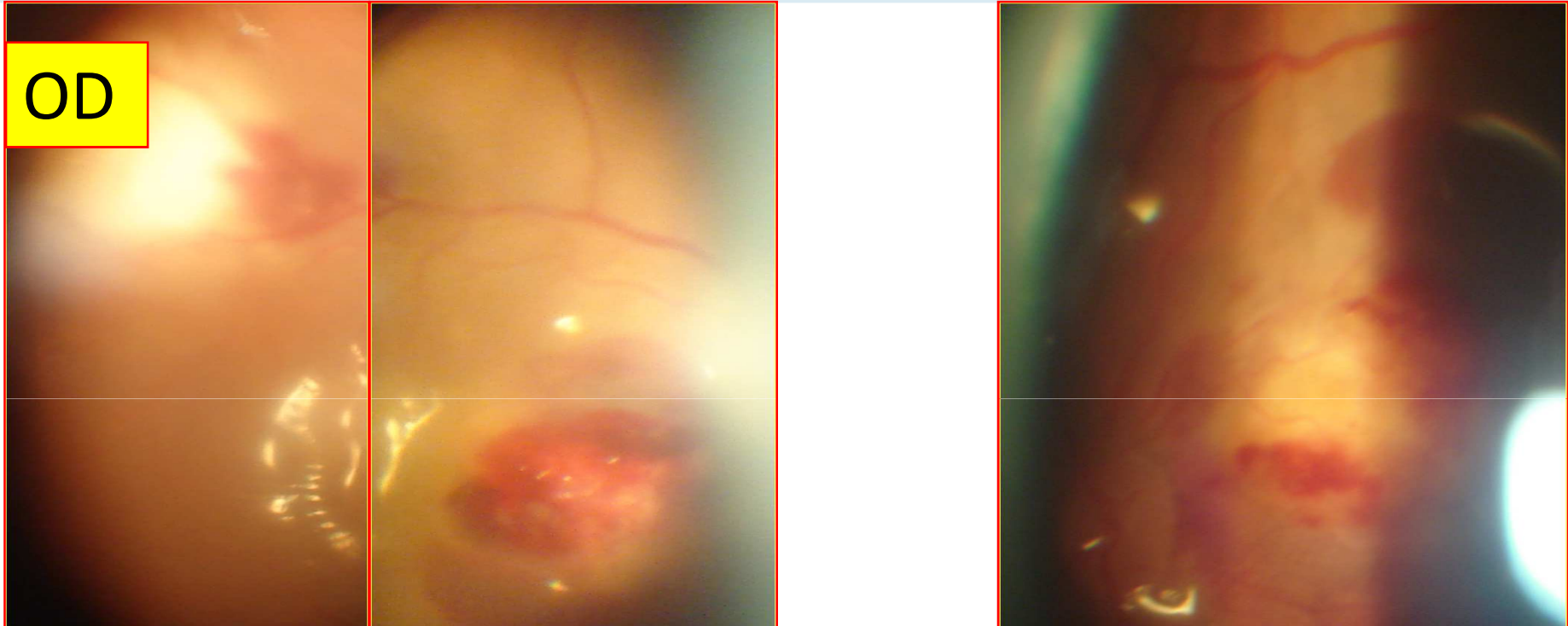


## Agudas

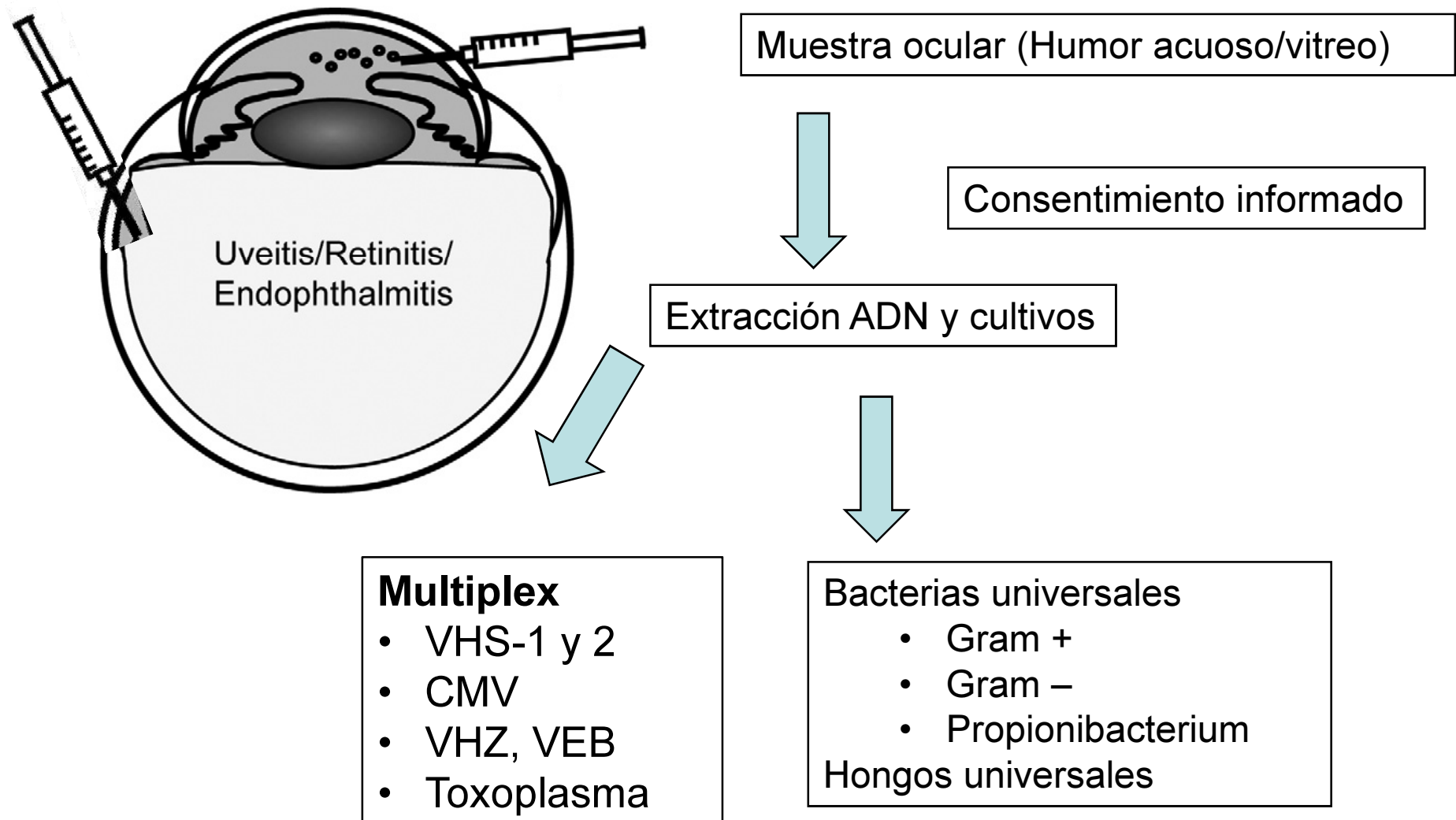
- ✓ Endophtalmitis vitrectomy study: cultivos + 70%
- ✓ PCR > 90% + bacterias o hongos
- ✓ Endoftalmitis crónicas
  - Propionibacterium acnes
  - Staphylococcus epidermidis
  - Hongos universales

	Cultivos	PCR
H. acuoso	0%	84%
Vitreo	24%	92%

# Endoftalmitis endógena



# Algoritmo: saber lo que está buscando!!!



# Conclusión



- ✓ Todos los resultados de LABORATORIO deben ser considerarse en un contexto clínico

A microscopic image showing a dense field of blue, fibrous structures. Each structure consists of a long, thin, hair-like stalk that terminates in a small, spherical, spiky head. The heads are arranged in a somewhat regular pattern, and the overall appearance is that of a biological or synthetic material with a complex, fibrous structure. The background is dark, making the blue structures stand out.

**MUCHAS GRACIAS**

MUCHAS GRACIAS

**MUCHAS GRACIAS**

# ¿Qué tipos de PCR conocemos?



- PCR
- Real Time PCR: PCR + sondas fluorescentes
  - Cuantifica ácidos nucleicos
  - Más rápida y simple
  - Reacción 1 hora
- Variantes:
  - Nested PCR: amplicon nueva PCR
    - Aumenta sensibilidad y especificidad
  - Multiplex: > de 2 primers

# Infecciones micóticas

## ✓ Sensibilidad cultivos hongos

- Endoftalmitis < 70%
- Queratitis 75-80%

## ✓ PCR:

### Pro

- Alta sensibilidad
- Horas
- Instauración precoz antifúngicos
- Evita efecto tóxico uso empírico
- Identificar especie



### Contras

- No permite estudio sensibilidad
- PCR universales:  
No permite identificación especie