



“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

Fundamentos

- Diagnóstico microbiológico
- Temprano = Vulnerabilidad = Pérdida irreversible visión



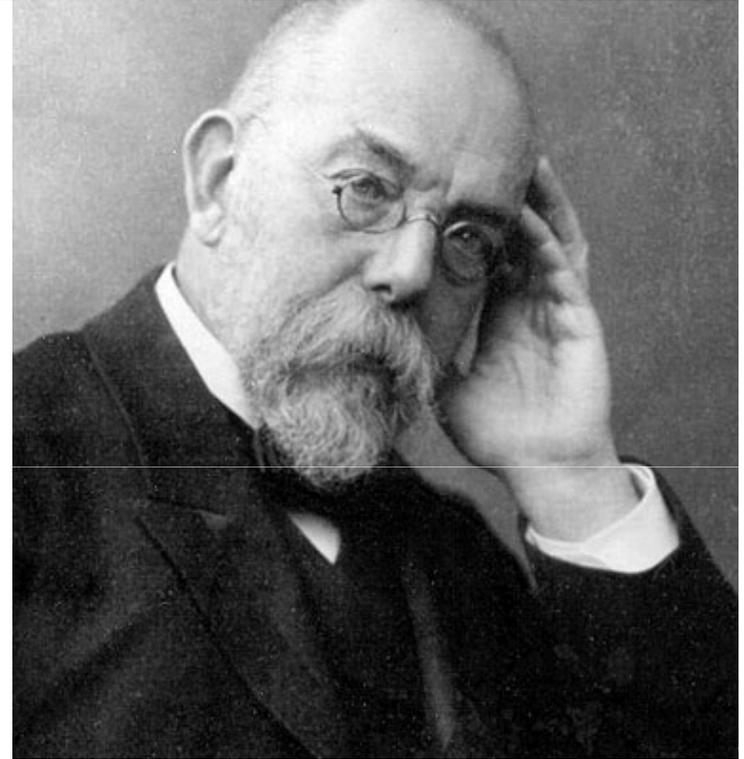
Cultivos microbianos



- CULTIVOS KOCH 1880

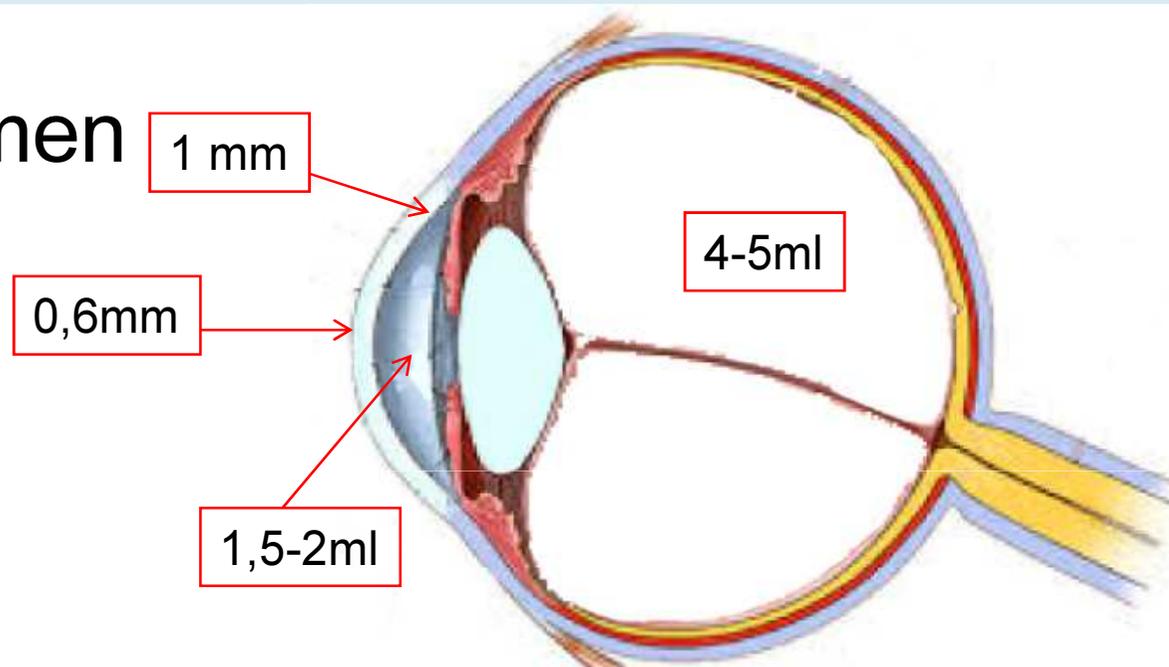
Limitaciones

- 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



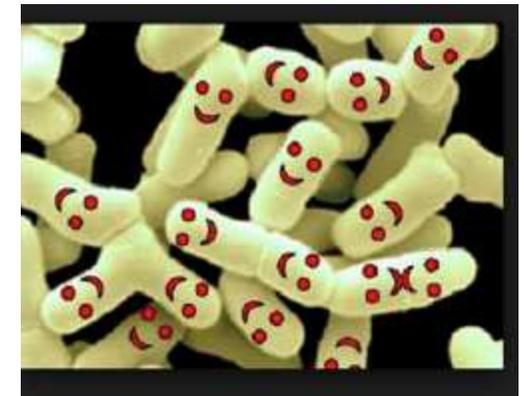
¿Cuáles son las ventajas de la PCR?

✓ Rapidez



✓ Sensibilidad y especificidad

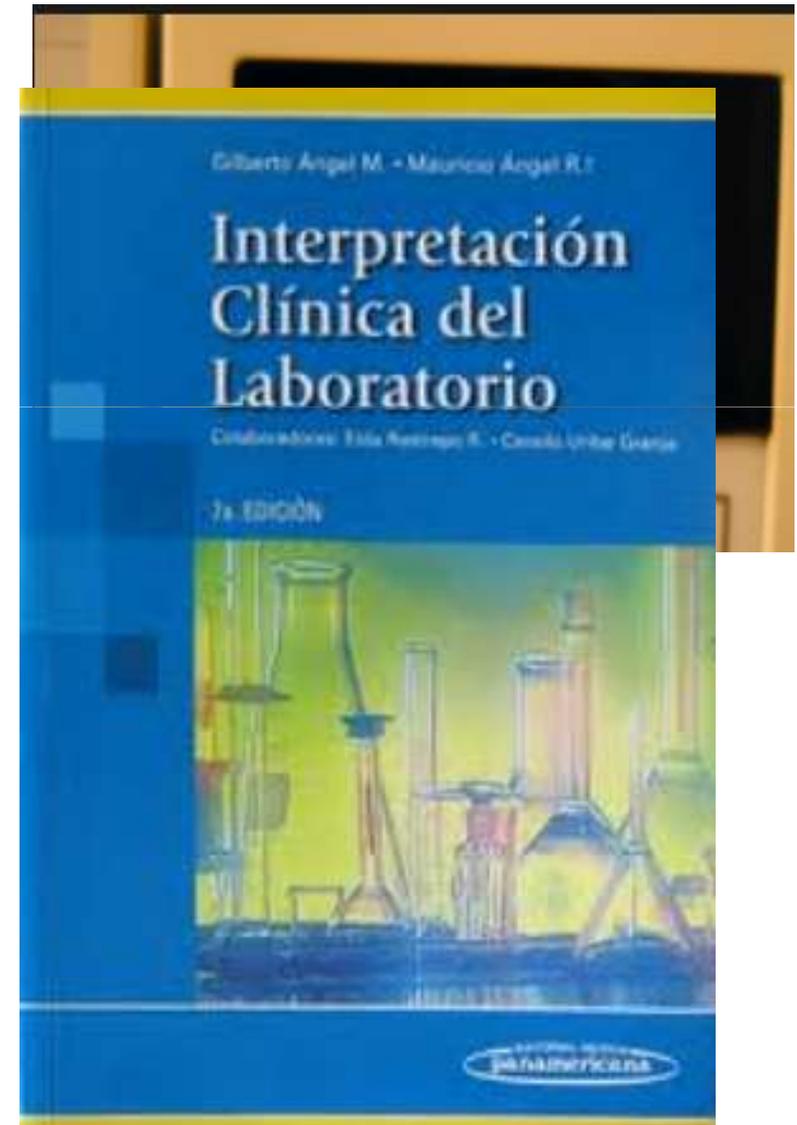
✓ No necesitan microorganismo viable



✓ 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

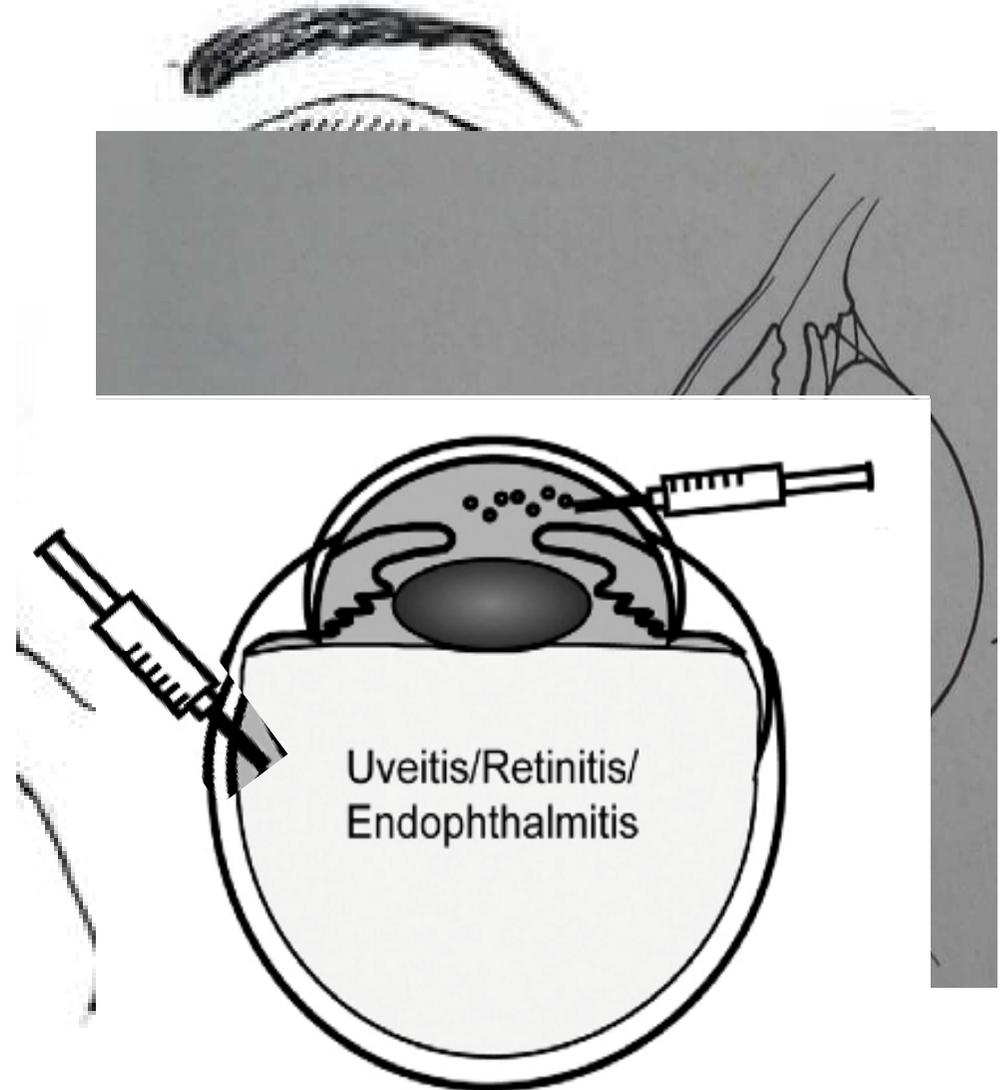
✓ Clamidia

¿De dónde tomamos la muestra?

- ✓ Conjuntiva
 - Conjuntivitis

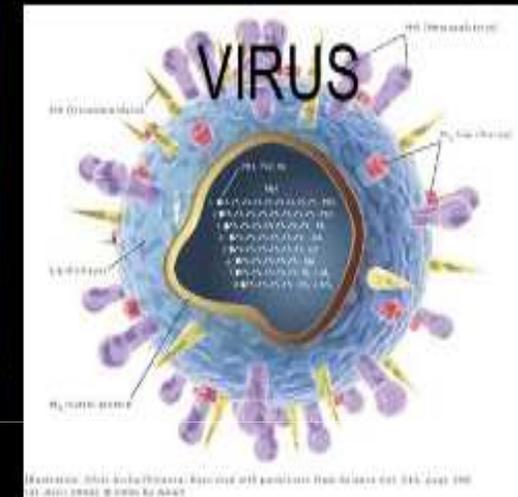
- ✓ Cornea
 - Queratitis infecciosas

- ✓ Cámara anterior
 - Endoftalmitis
 - Uveítis anteriores
 - Uveítis posteriores
 - Retinitis



¿Qué sospechamos?

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

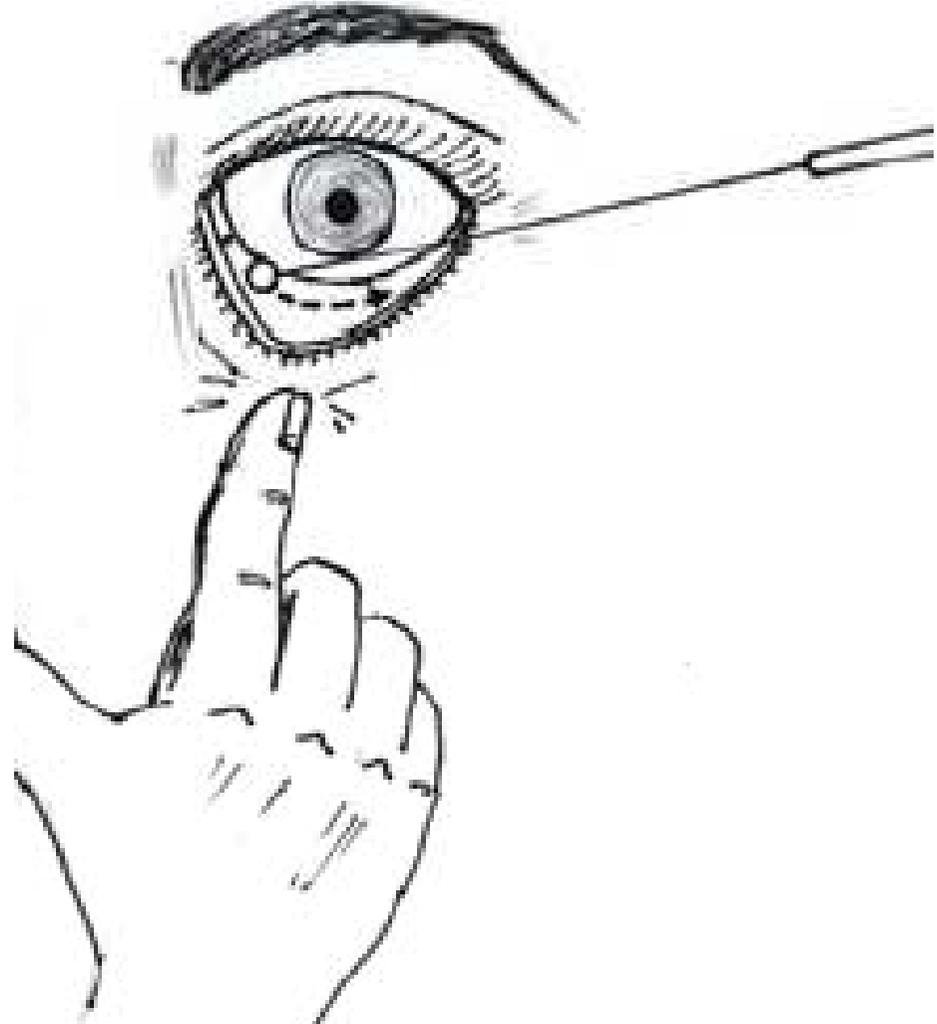


¿De dónde tomamos la muestra?

- ✓ 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

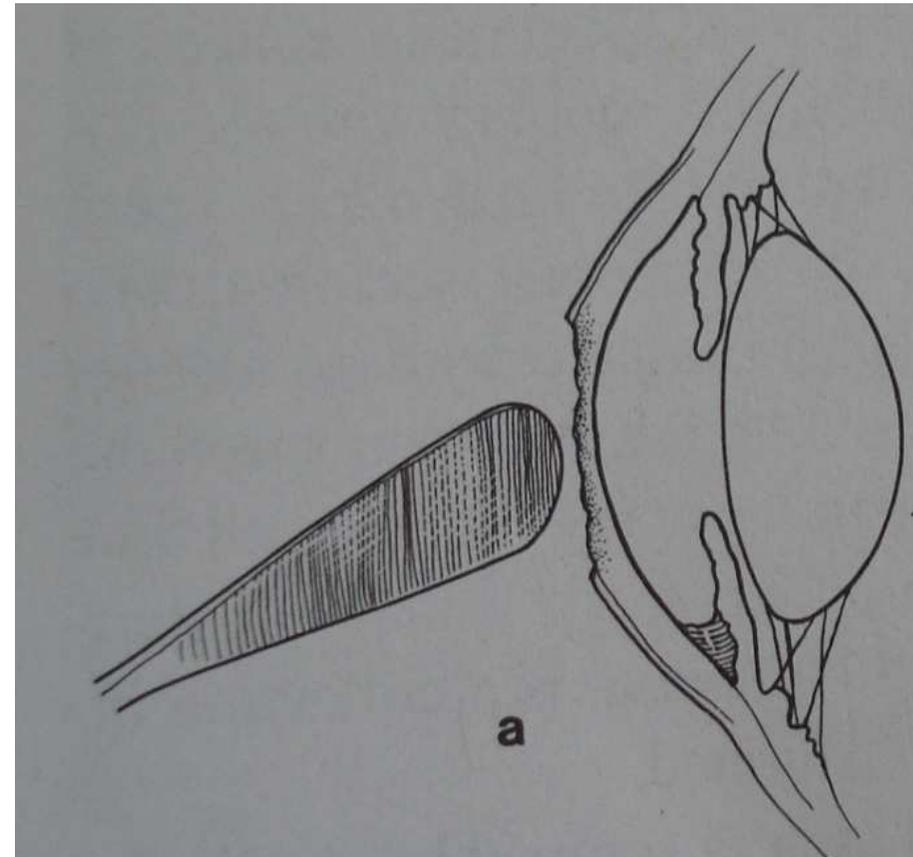


¿De dónde tomamos la muestra?

- ✓ 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

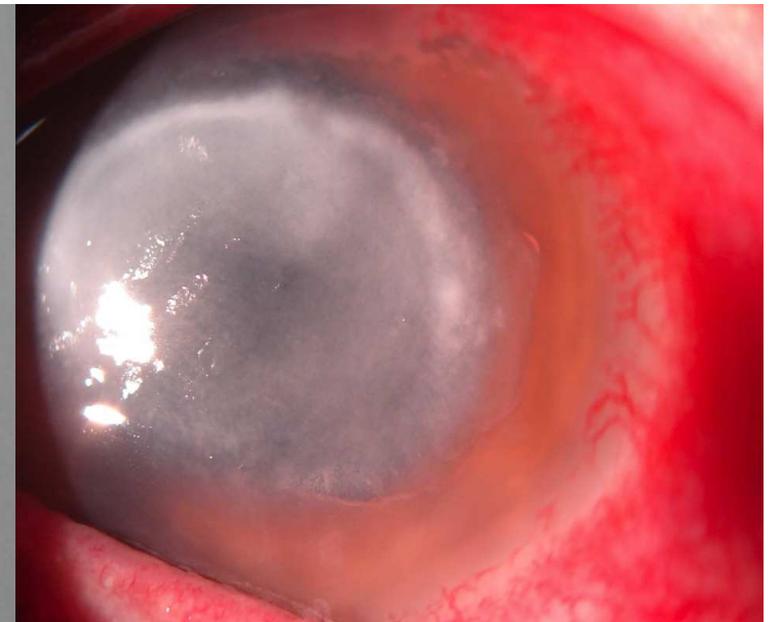
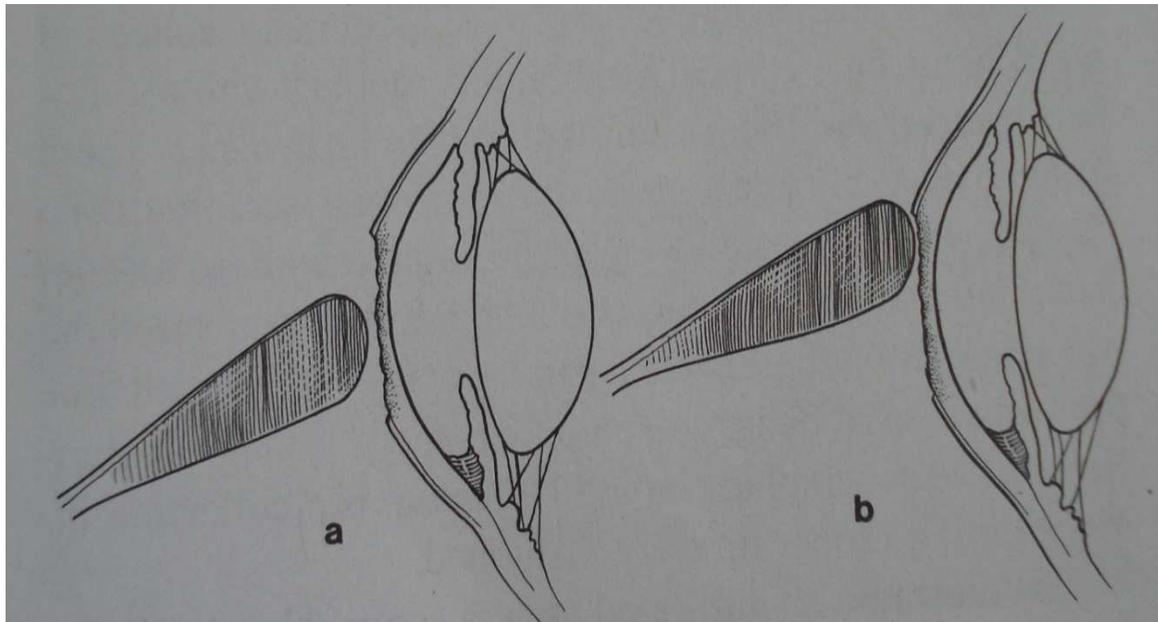


Queratitis micótica

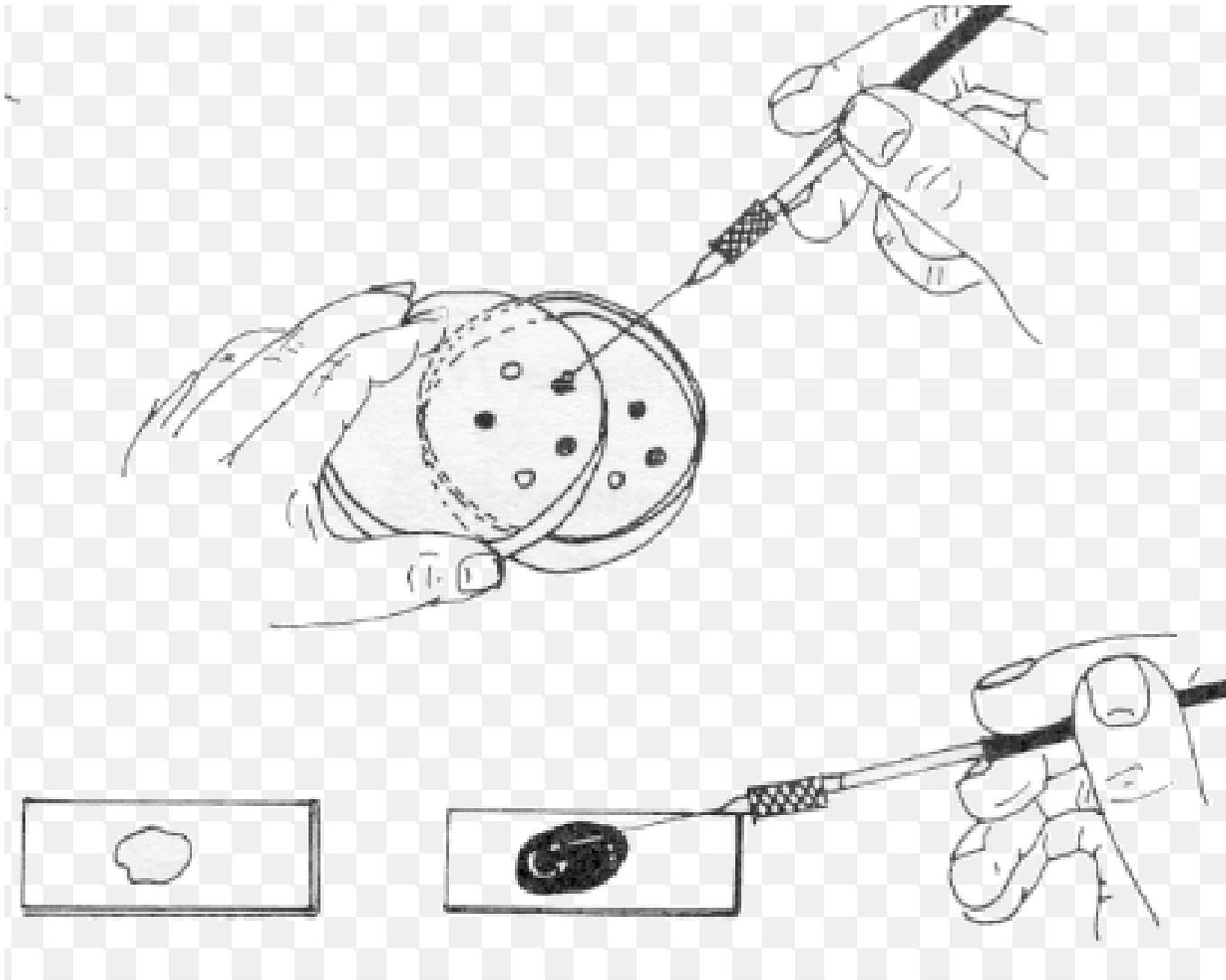


¿Cómo tomo las muestras de cornea?

- 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



	Sensibilidad bacterias¹	Sensibilidad hongos
Cultivos	57,8%	59,09%
PCR	87,88%	90,91%

➤ PCR especificidad 94,7%²

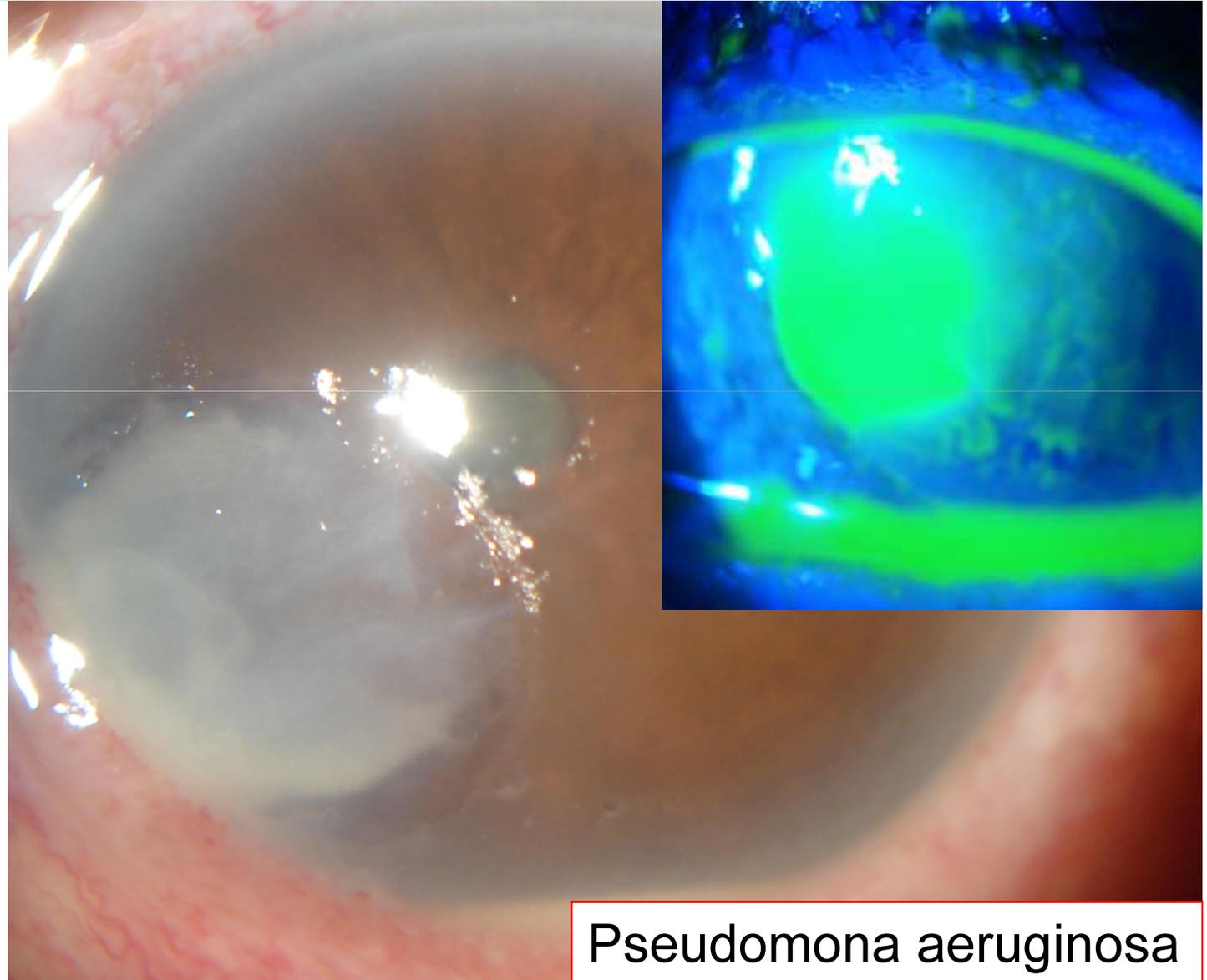
- FALSOS + Bacterias (flora normal)

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

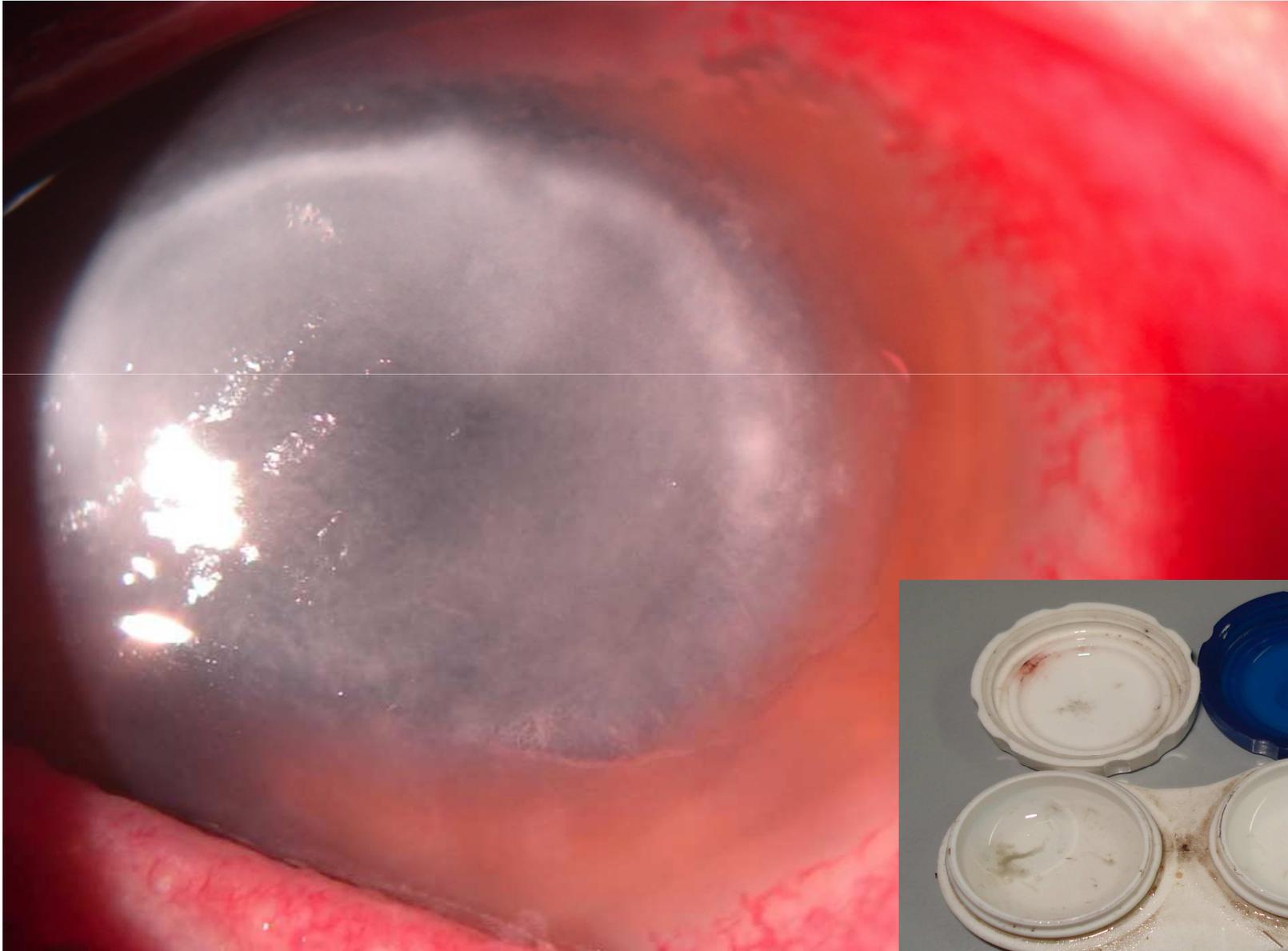
Queratitis micótica

- ✓ PCR HONGOS +
- ✓ TRAUMA CON
PIEDRA

PAECILOMYCES SP



Queratitis por acantamoeba



Queratitis por acantamoeba



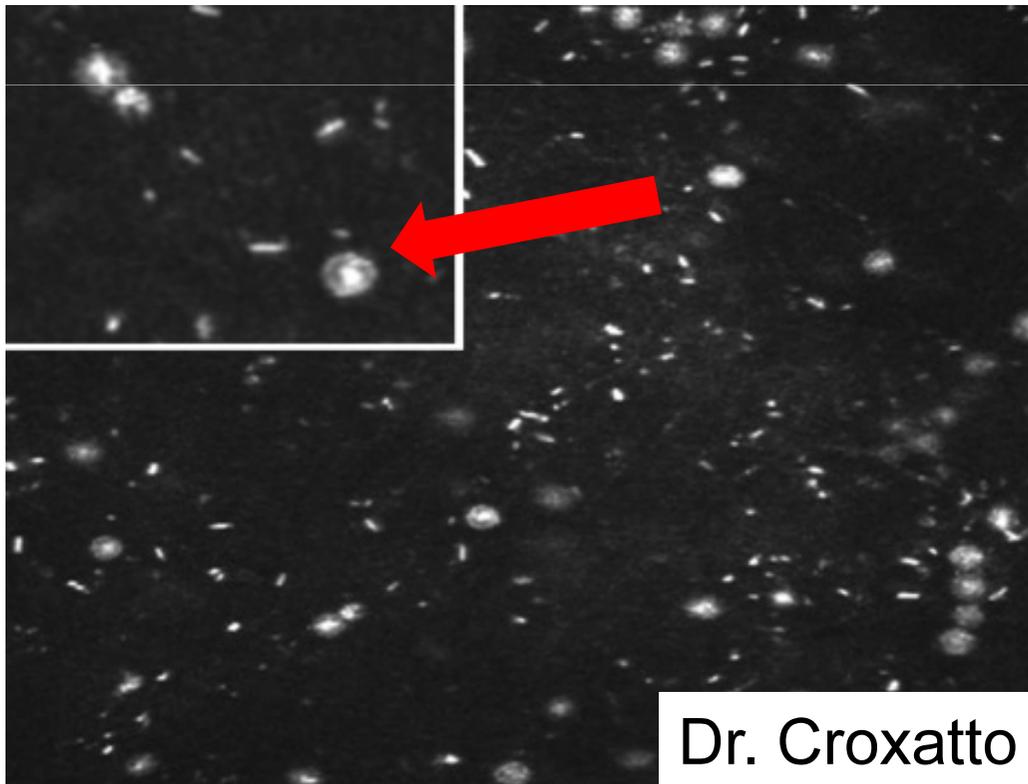
- ✓ 50 % diagnóstico tardío: síntomas y difícil aislamiento

	PCR ¹	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

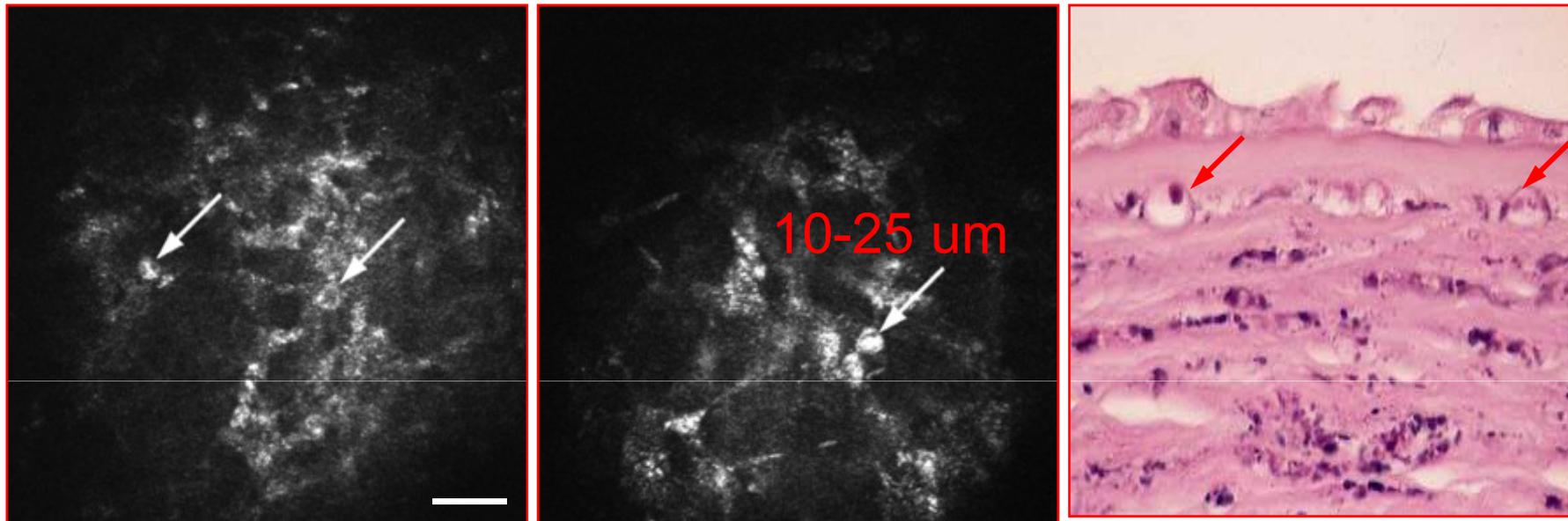
MICROSCOPIA CONFOCAL

- Quistes hasta descemet



✓ PCR + acantamoeba

Microscopía confocal



Virus: 0,012-0,025 μm
Bacterias: 0,5-1,5 μm
Hongos: 3-7 μm levadura
36 x 5,5 μm hifas
***Acanthamoeba*: 10-25 μm**
Endotelio: 20 μm

Dr. Croxatto

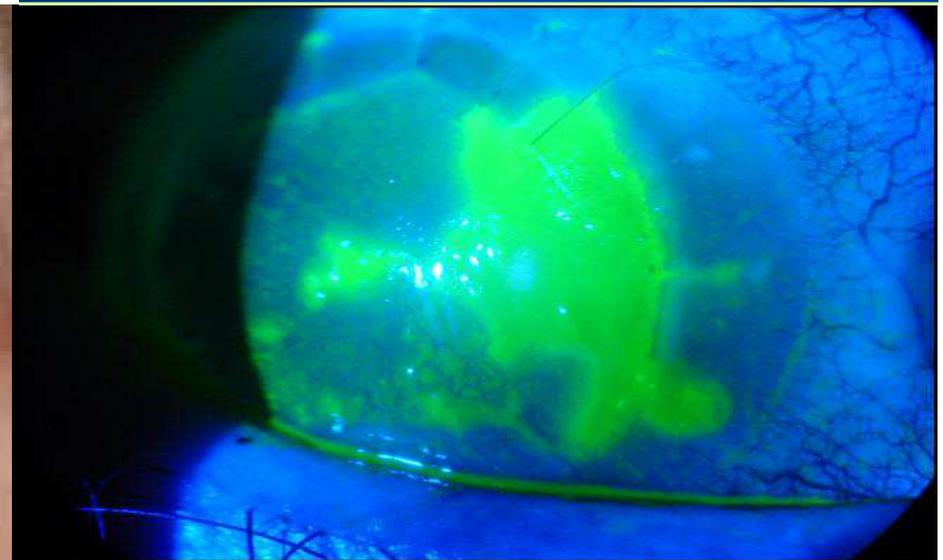
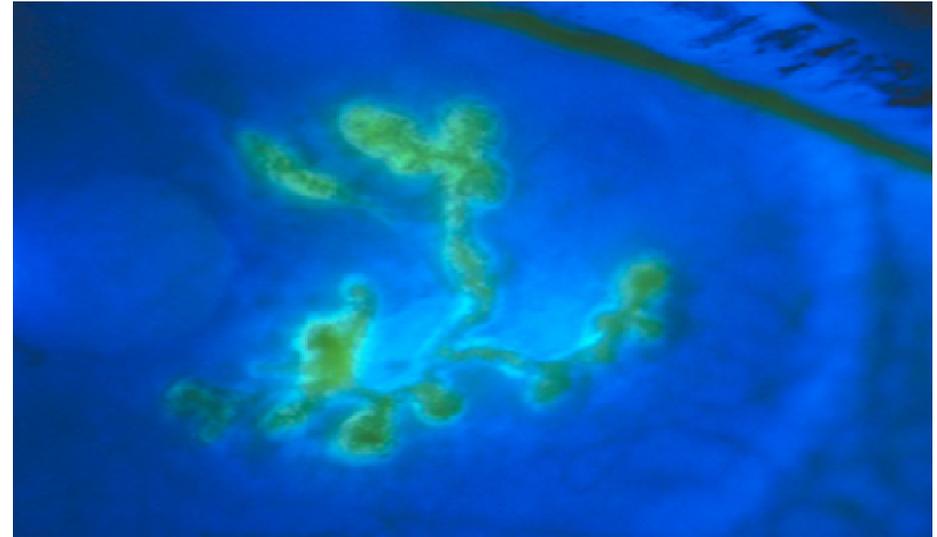
➤ Sensibilidad 94%
➤ Especificidad 78%

- ❖ 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.

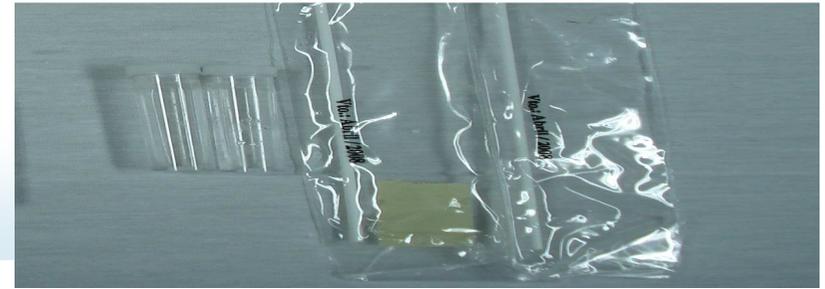
Conjuntivitis o queratitis virales

➤ 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

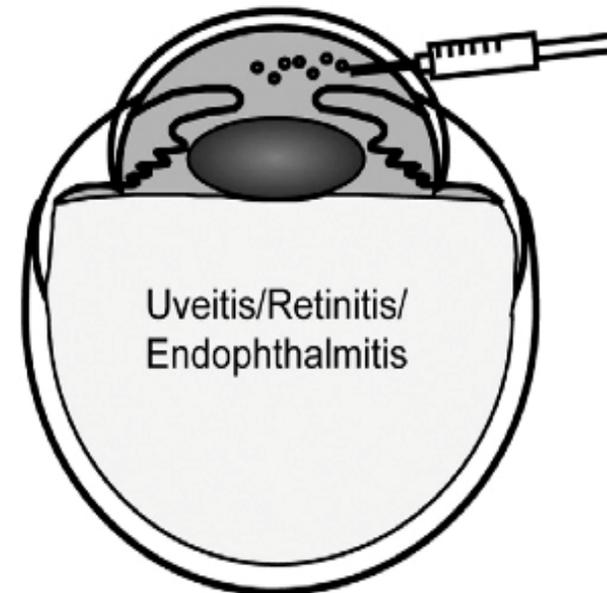
- Queratitis infecciosas

✓ Cámara anterior

- Endoftalmitis
- Uveítis anteriores
- Uveítis posteriores
- Retinitis

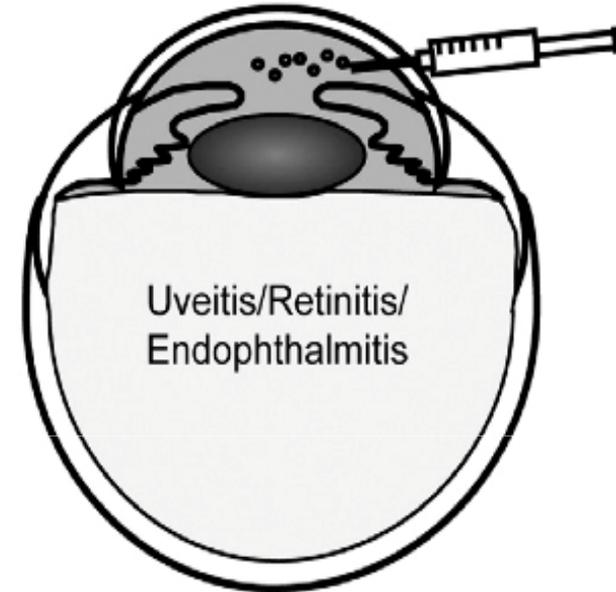
✓ Vitreo

- 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.

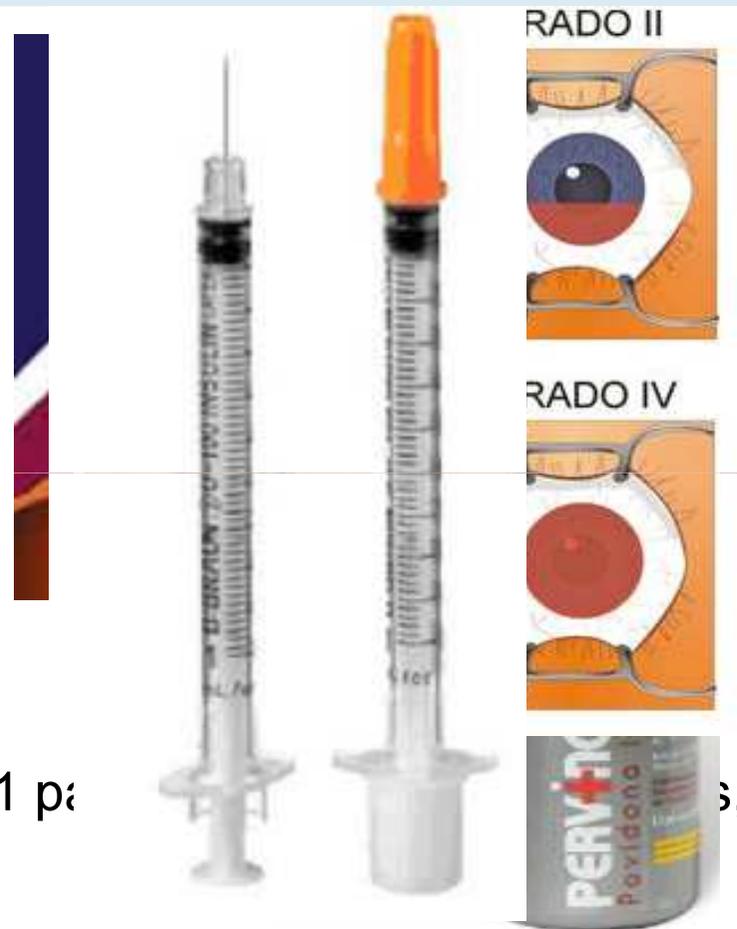


¿Cómo tomo la muestra de humor acuoso?

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 (endofthalmitis)¹
 - Hipema 7 casos



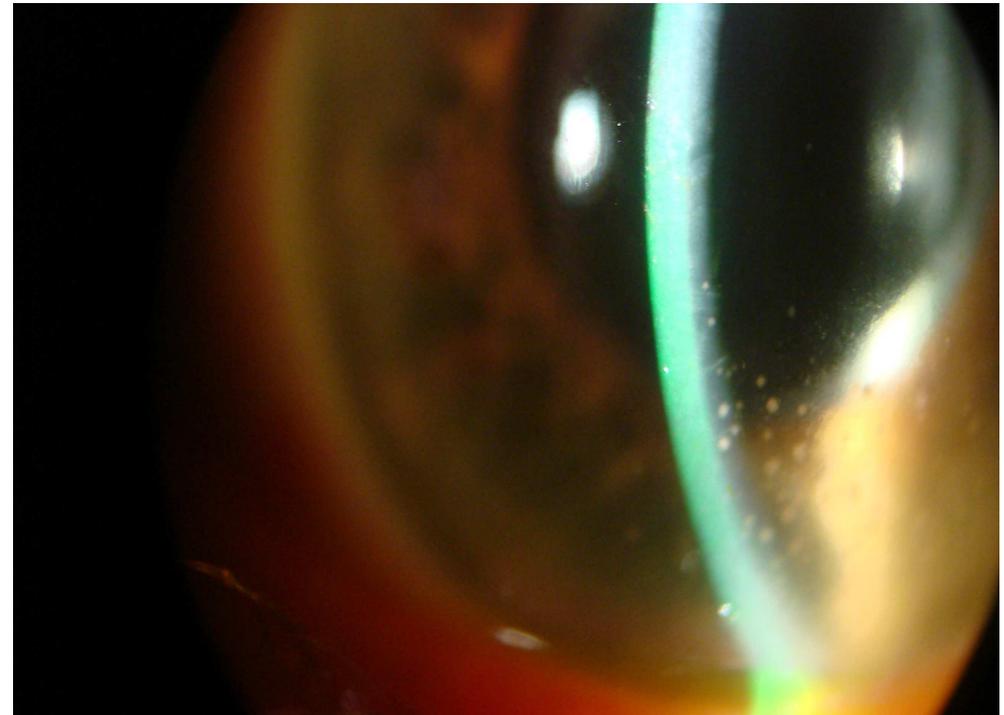
1. Van der Lelij A, Rothova A. Diagnostic anterior chamber paracentesis in uveitis: a safe procedure? Br J Ophthalmol 1997;81:976 – 9.

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

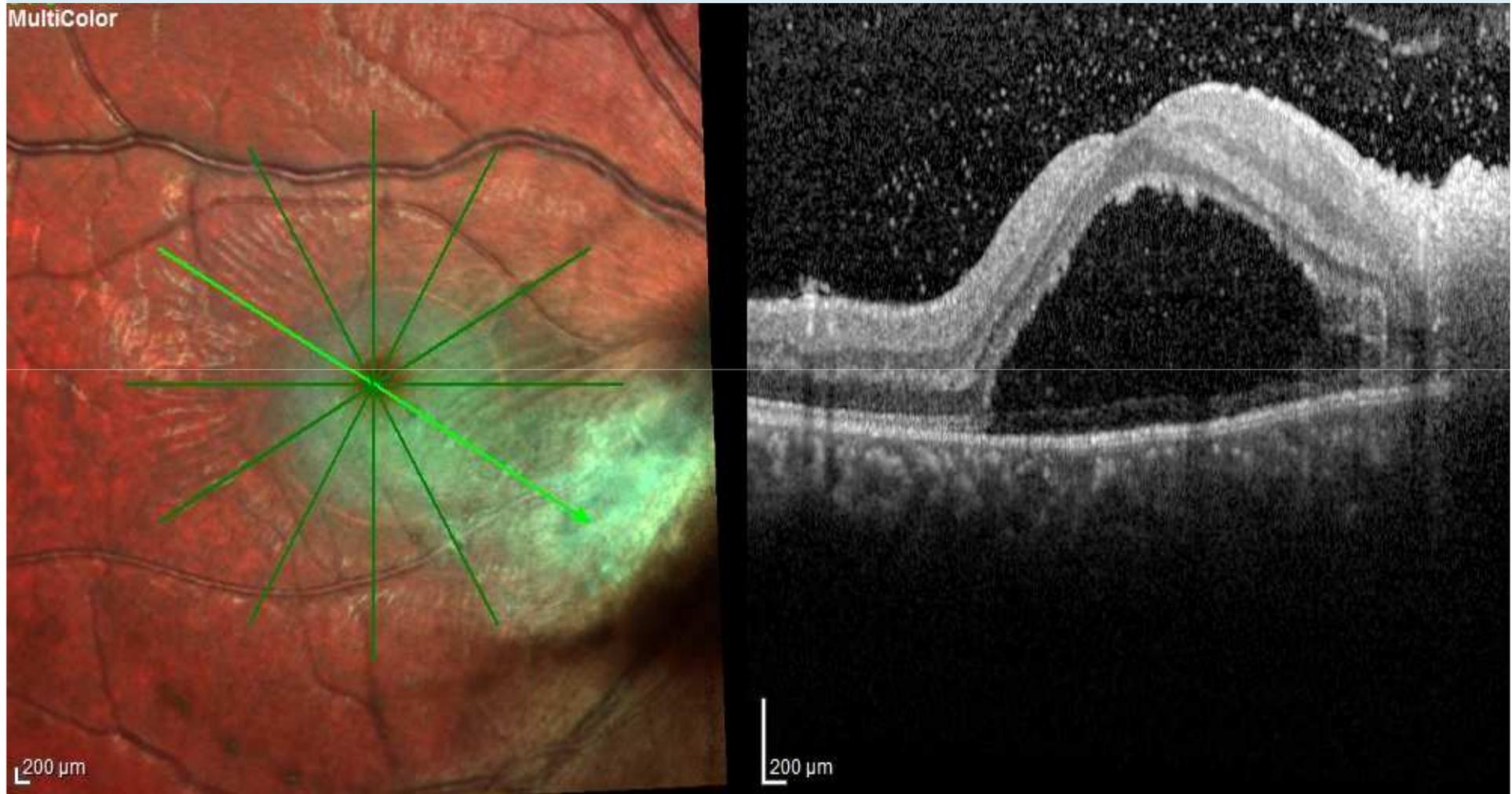


- ✓ Toxoplasmosis
 - Sensibilidad:
 - 77% PCR + IGG intraocular
 - 91% PCR + IGA

- ✓ Sífilis: VDRL, Ftabs, PCR

- ✓ TBC: PCR 35% sensibilidad (1-2% TBC)

TOXOPLASMOSIS: dx clínico



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

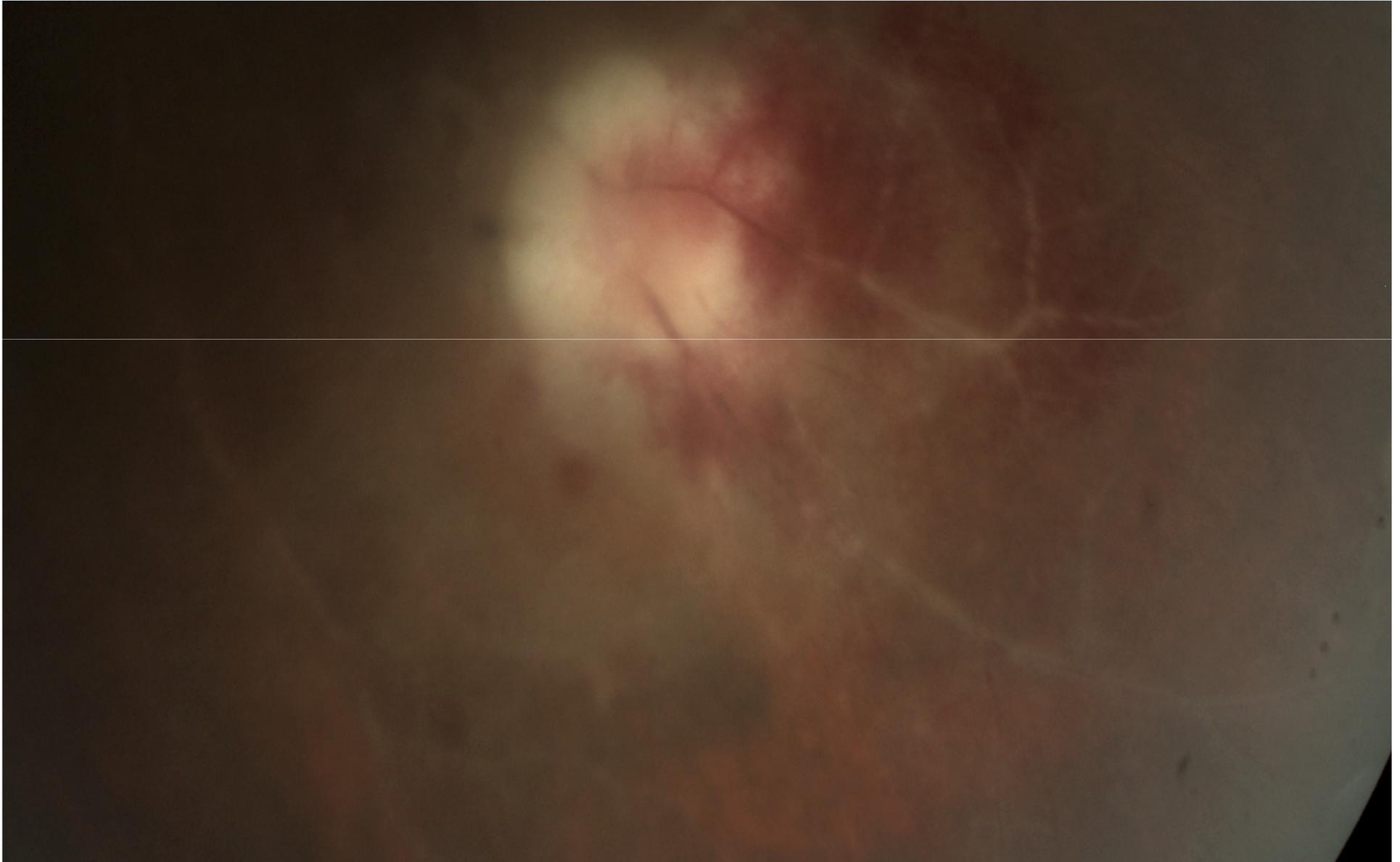
08/09/2014, OD

MColor&OCT 30° IHSI ART(9) O: 24

TOXOPLASMOSIS



TOXOPLASMOSIS ATIPICAS



Atípicas inmunosuprimidos



Retinitis necrotizantes herpéticas



3 entidades:

✓ NRA

✓ NREP

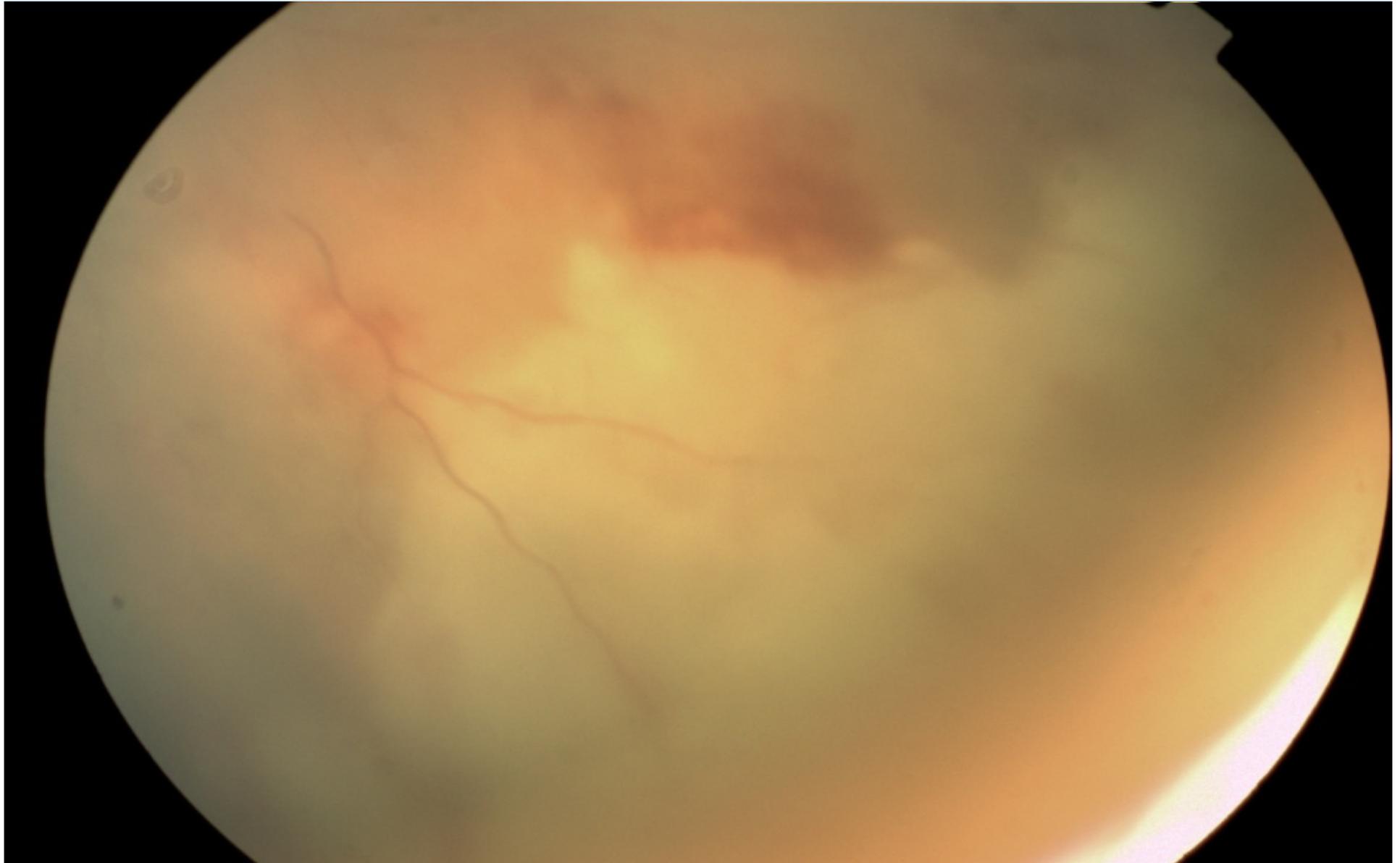
✓ CMV

PCR humos acuoso ^{1,2}	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.

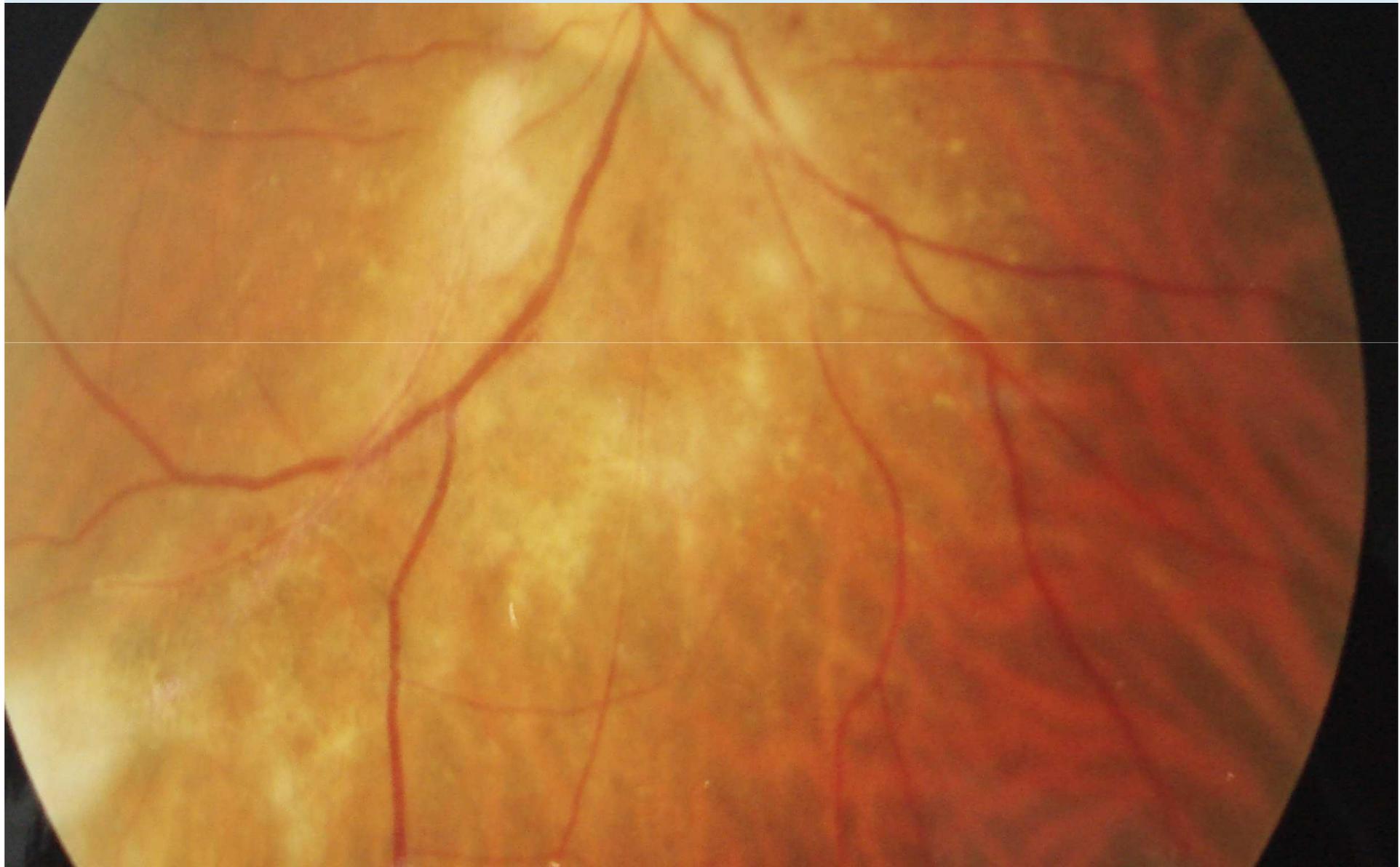
Vitreítis x/xxxx NRA



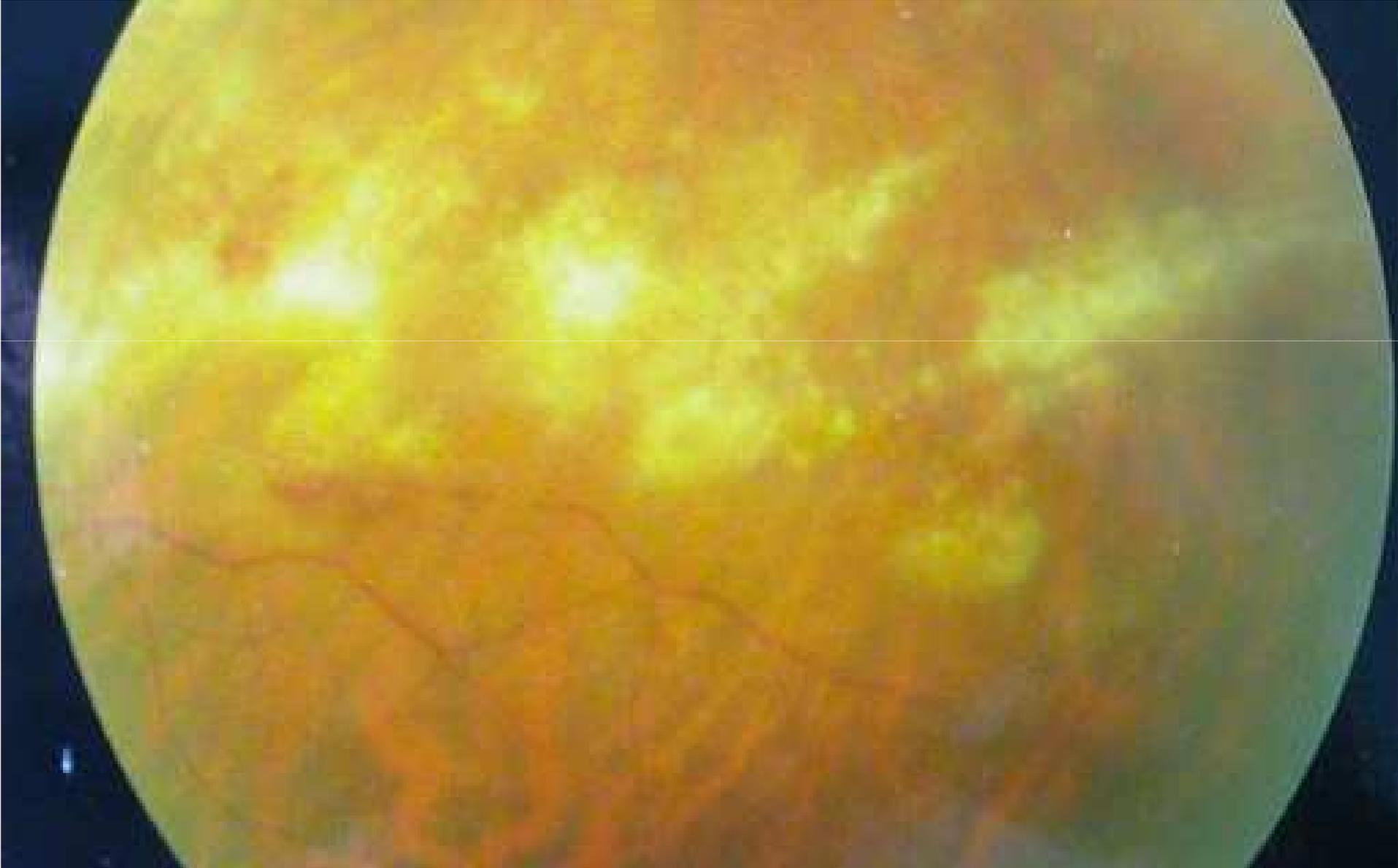
PORN



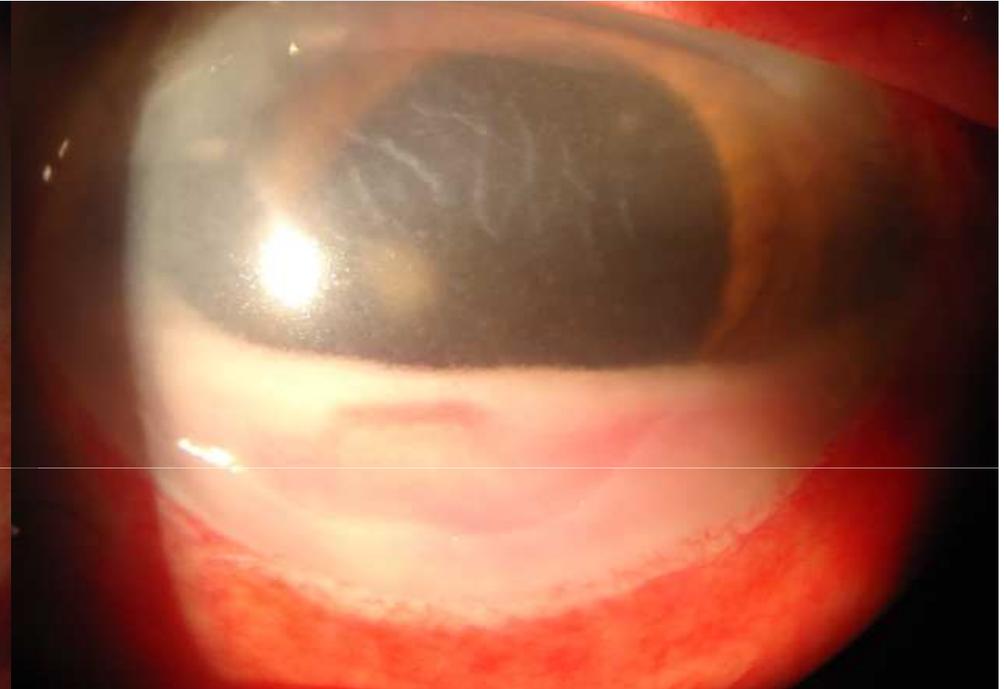
CMV



CMV



Endoftalmitis exógena



Endoftalmitis

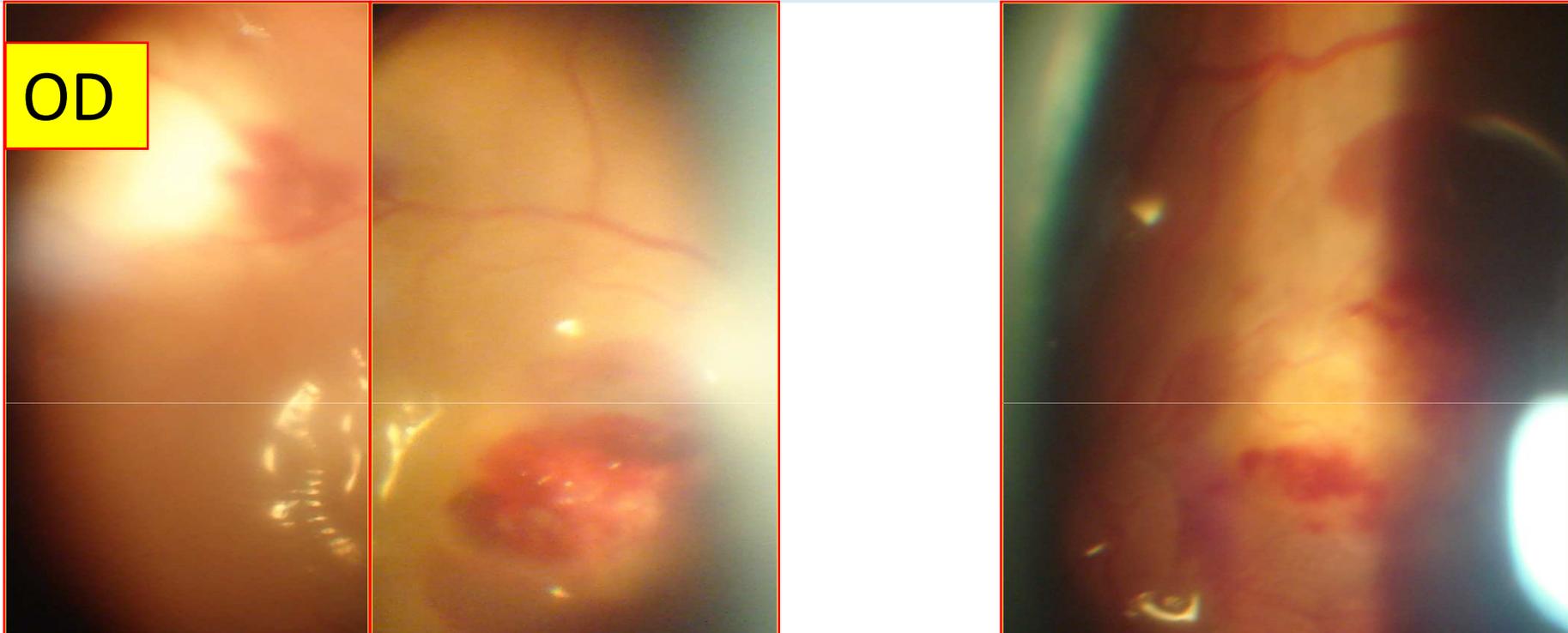


Agudas

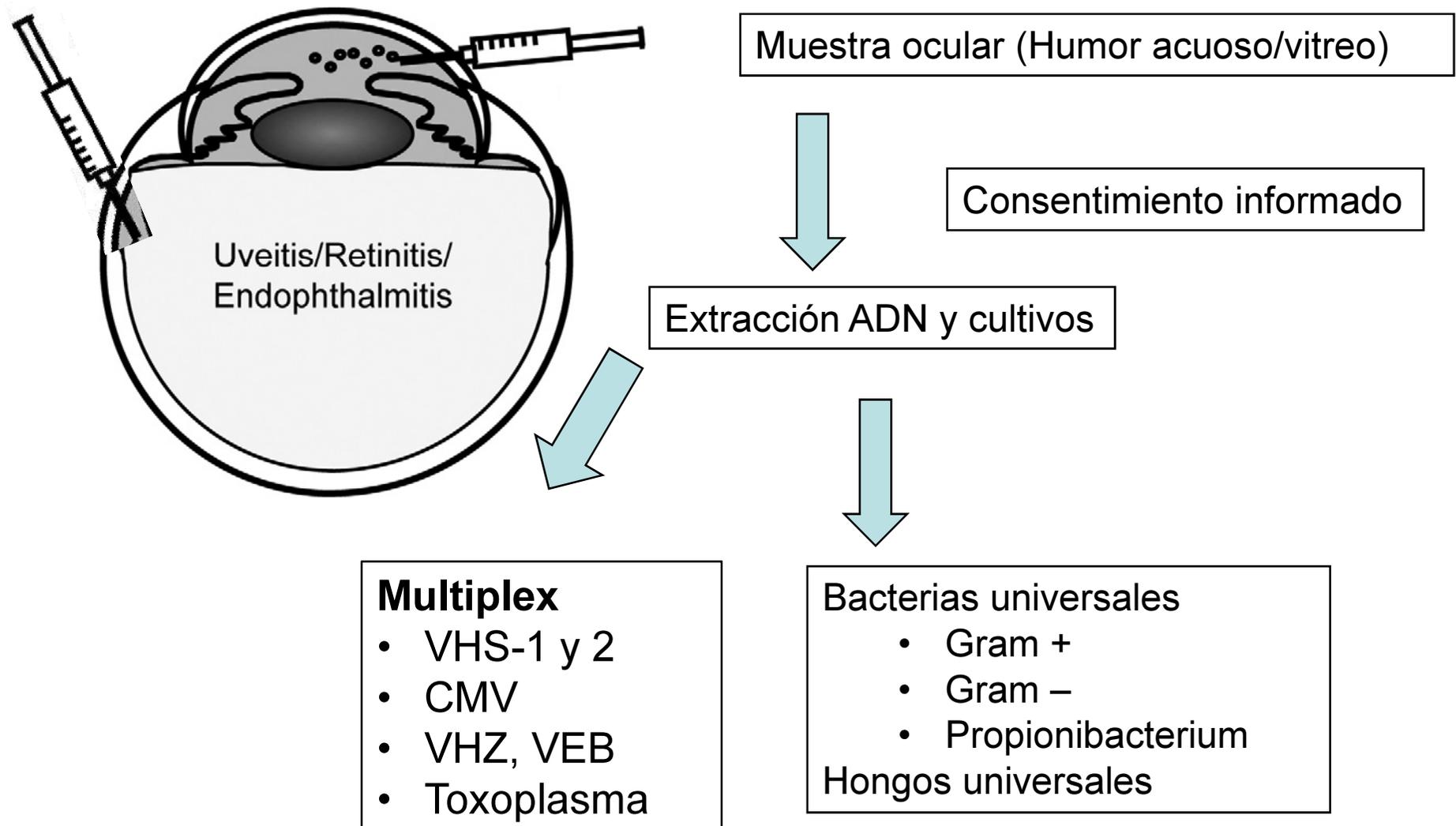
- ✓ Endophtalmitis vitrectomy study: cultivos + 70%
- ✓ PCR > 90% + bacterias o hongos
- ✓ Endoftalmitis crónicas
 - Propionibacterium acnes
 - Staphylococcus epidermidis
 - Hongos universales

	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