



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO**

SECRETARÍA DE SALUD

**INCIDENCIA DE ÚLCERAS CORNEALES MICROBIANAS EN EL SERVICIO DE
OFTALMOLOGÍA DEL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO**

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

CIRUJANO OFTALMÓLOGO

P R E S E N T A

DRA. DIANA STHEPANIE PARRA RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS: DRA. KARLA PAOLA GARCÍA CARMONA

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO

MÉXICO, D.F. 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por tener vida y por haberme conducido hasta aquí, el lugar ideal.

A mis padres por su amor, apoyo y comprensión, son lo mejor de mi vida y Alv que además de todo, es mi amigo.

A la Familia Parra Ulloa, por su cariño y apoyo incondicional a lo largo de mi vida.

A mis maestros por su enseñanza, su tiempo y permitirme conocer lo maravillosa que es la Oftalmología, en especial a la Dra. García Carmona por su conocimiento y paciencia.

A Marís, no sólo por su enseñanza, sino por haber creído en mí y hacer la llamada que me trajo hasta aquí.

A todos mis compañeros de especialidad y amigos, que han aportado mucho en este camino, alegrías, aprendizaje y una grata experiencia de vida.

Y muy en especial al laboratorio de Microbiología y Micología del Hospital General de México por su labor, que es fundamental en este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	4
MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
JUSTIFICACIÓN	12
HIPÓTESIS	12
OBJETIVOS	12
METODOLOGÍA	12
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	14
RESULTADOS.....	15
DISCUSIÓN.....	16
CONCLUSIÓN	18
ANEXOS DE FOTOGRAFÍAS.....	19
ANEXOS DE GRÁFICAS.....	23
ANEXOS DE TABLAS.....	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

RESUMEN

La úlcera corneal es la invasión de microorganismos proliferantes, de patogenicidad y virulencia variables¹, que conduce a la formación de un infiltrado estromal corneal acompañado de un defecto epitelial y secreción asociada con señales de inflamación de intensidad.^{1,2} Las úlceras corneales de origen infeccioso son una causa importante de ceguera mundial, con una incidencia anual aproximada de 1.5-2 millones de casos³ que amenaza la integridad estructural del ojo

La severidad del daño corneal depende tanto de las condiciones sistémicas del paciente como de la patogenicidad del agente infeccioso, por ello es de extrema importancia el tiempo en que se inicia un tratamiento apropiado, para lo cual es necesario tener la sospecha o mejor aún, la certeza del agente etiológico.

Ante cualquier sospecha de infección microbiana, debemos iniciar con la recolección de muestras para cultivo, posteriormente dar inicio al régimen terapéutico antimicrobiano. Es importante obtener un diagnóstico etiológico definitivo como resultado de la toma de cultivos y en caso de no tener una respuesta adecuada al tratamiento inicial, poder modificarlo, orientado al microorganismo aislado.^{1,2}

La queratitis microbiana, incluyendo la de origen fúngico, es más común en los países en desarrollo en comparación con los Estados Unidos. En países como la India, la queratitis microbiana es diez veces más común que en Estados Unidos.³ Tomando en cuenta reportes publicados en nuestro país de Institutos Oftalmológicos, encontramos similitudes con nuestro estudio, siendo los organismos Gram positivos los patógenos más comúnmente aislados, donde predomina el *Staphylococcus epidermidis* en úlceras bacterianas y con respecto a las úlceras micóticas encontramos como patógenos con mayor incidencia *Fusarium* y *Aspergillus*.^{4,5,6,7}

El presente estudio tiene como objetivo reportar la incidencia y etiología de los patógenos corneales más comúnmente aislados en úlceras infecciosas en el servicio de Oftalmología del Hospital General de México, así como reportar las características etiopatogénicas de los pacientes tratados.

Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo y transversal, en pacientes con diagnóstico de úlcera corneal microbiana, en el servicio de Oftalmología del Hospital General de México.

Palabras clave:

Úlceras, córnea, infecciosas, microbianas.

DEFINICIÓN

La úlcera corneal es la invasión de microorganismos proliferantes, de patogenicidad y virulencia variables¹, que conduce a la formación de un infiltrado estromal corneal acompañado de un defecto epitelial y secreción asociada con señales de inflamación de intensidad.^{1,2} Las úlceras corneales de origen infeccioso son una causa importante de ceguera mundial, con una incidencia anual aproximada de 1.5-2 millones de casos³ que amenaza la integridad estructural del ojo.

ÚLCERA CORNEAL MICROBIANA

La prevalencia de las úlceras corneales varía dependiendo la zona geográfica, probablemente debido a las diferencias étnicas, geográficas o socioeconómicas. En el trabajo del Profesor Gonzáles “Epidemiology and etiological diagnosis of corneal ulceration in Madurai”, realizado en la India, reportó que la incidencia anual era de 113 casos por 100,000 habitantes³, dicho reporte es 10 veces mayor que la incidencia en los Estados Unidos de Norteamérica, al comparar los resultados de la India al resto de Asia y África, el número de úlceras que aparecen anualmente en el mundo se aproxima a 1.5-2 millones de casos.³

En nuestro país el Hospital de la Luz reporta al *Staphylococcus epidermidis* como principal agente responsable de úlceras microbianas con una incidencia del 10%, en segundo lugar reportan un agente micótico, el *Fusarium sp* con el 8.1% de todos los casos estudiados.⁴

En el Hospital Conde de Valenciana en su Primer reporte anual de queratitis infecciosas, durante el periodo de enero de 2011 a diciembre de 2011, de 154 muestras de raspados corneales analizadas se encontró que las bacterias predominaron como agentes causales con el 88.2% (60 aislados) de los cultivos positivos, predominando el *Staphylococcus epidermidis* con 27.94%, y del total de aislados positivos para microorganismos fúngicos se obtuvo el 11.8% (8 aislados) donde predominaron en similar número *Aspergillus Fumigatus* y *Fusarium sp*.⁵

La Asociación para evitar la ceguera, en su estudio “Resistencia En Queratitis Bacteriana en pacientes de la Asociación para evitar la ceguera en México”, analizaron 91 expedientes de los cuales, la bacteria más frecuente es el *Staphylococcus epidermidis* con un total de 64 cultivos positivos, y no se tomaron en cuenta por ser considerados flora normal por lo tanto *Staphylococcus aureus* fue el agente patógeno más frecuente con un total de 29 cultivos positivos⁶ y en el “Análisis de queratitis micóticas en un hospital de tercer nivel”, en una revisión de 86 expedientes de pacientes con diagnóstico de queratitis micótica tratados de enero de 2000 a julio de 2009 se encontró como agentes causales micóticos más frecuentes a *Fusarium* 23% (20 casos) y *Aspergillus* 13% (11 casos).⁷

En estudios realizados a poblaciones de África y Asia indican que la úlcera corneal es la causa más importante de ceguera unilateral en países en vías de desarrollo^{8, 9}. Estudios en niños en África han mostrado que aproximadamente el 70% de todos los problemas visuales son causadas por úlcera corneal⁹. En Nepal se encontró que la úlcera corneal, después de la catarata, es la etiología más importante de ceguera e invalidez visual representando el 7,9% de todas las cegueras.¹⁰

Independientemente de la causa, las úlceras corneales requieren intervención oportuna puesto que representan una amenaza para la función visual y son por lo tanto una urgencia oftalmológica, su evolución espontánea o los casos mal tratados conllevan el riesgo de extensión de la infección con severa afectación de la córnea y en algunos casos pueden conducir a la perforación y pérdida del globo ocular.

AGENTES ETIOLÓGICOS

Existe un amplio espectro de microorganismos que han sido implicados como agentes causales de úlcera corneal microbiana, se ha verificado en literatura del continente americano, que la mayoría son de origen bacteriano (70-90%), y han predominado los gérmenes gram positivos, cabe señalar que en estudios enfocados a usuarios de lentes de contacto, pueden ser más frecuentes las bacterias gram negativas.^{11,12} Los hongos representan un 5-30% de los casos, excepto en áreas rurales, como en el sur de Asia, donde los hongos filamentosos llegan a ser el primer agente causal.¹³ En otros países en desarrollo, las úlceras micóticas oscilan entre el 4% y 60% de las úlceras corneales infecciosas.¹⁴ Estas variaciones en la incidencia se cree que se deben a los diferentes climas y geografías. En China, Nepal y Sudáfrica, la queratitis micótica comprende aproximadamente 62%, 6% y 4% respectivamente.^{8, 9,10} En el norte de China, 70% de las infecciones micóticas fueron originadas por *Fusarium spp.*¹³

La incidencia en los EEUU es mucho menor que en India y China. En zonas húmedas del sur de EEUU (Sur de Florida) 35% de las queratitis infecciosas son de origen fúngico, mientras que en regiones templadas la incidencia es solo de 1% (New York) u 8% (San Francisco).¹⁴ Un porcentaje menor (1-15%) se debe a parásitos, principalmente *Acanthamoeba spp.*, un porcentaje variable (3-21%) de los casos son polimicrobianos, combinando distintas bacterias, hongos o amebas.¹³ Se ha descrito que las úlceras de origen viral ocupan el tercer lugar en incidencia en países en vías de desarrollo y el primero en países industrializados, la infección por virus del Herpes Simple tipo 1 (VHS-1), afecta 60 % a 90 % de la población adulta a nivel mundial y constituye la principal causa de ceguera corneal unilateral en países desarrollados.¹⁵ Hasta hoy, están descritos 8 tipos de Herpes virus, sin embargo aquellos relacionados con infecciones oculares son el VHS 1 y VHS 2, siendo el VHS 1 el agente típico.

ÚLCERAS CORNEALES BACTERIANAS

Las bacterias son causa de infección corneal por invasión directa, por toxinas o por hipersensibilidad. El epitelio corneal es la barrera más resistente a la penetración microbiana. La membrana de Descemet impide el acceso de las bacterias pero no de los hongos.^{1,16} Pueden producir hipopión y perforación corneal, especialmente con tratamiento inadecuado.¹⁶

El Streptococcus pneumoniae es la única bacteria patógena corneal verdadera, todas las demás son oportunistas y provocan infección si las defensas del huésped están debilitadas.¹⁴ El *Staphylococcus aureus*, productor de exotoxinas, es uno de los microorganismos más frecuentemente implicado en las infecciones corneales.¹⁴ También pueden causar queratitis las especies de *Streptococcus sp*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Pseudomonas spp.* (colirios contaminados), de modo más excepcional *Bacillus subtilis*, los

organismos *Proteus*, *Serratia*, *Klebsiella* y otros.^{14,16}

En las úlceras corneales limbares y en los infiltrados pueden desarrollarse microorganismos patógenos y esto debe tenerse siempre en cuenta. Así, la *Alternaria* se ha hallado en los infiltrados marginales semejando a un infiltrado inmune y, ocasionalmente, organismos gram negativos se han encontrado en el pénfigo ocular con úlceras corneales. Es necesario, por tanto, obtener un diagnóstico de laboratorio a pesar de sospechar una causa inmune o de otros factores como problema primario.¹⁶

Las manifestaciones clínicas de la queratitis son las de un infiltrado del estroma con necrosis y expansión rápida en la lesión epitelial y la formación de exudado purulento adherido en la superficie de la úlcera.¹⁶ Sin embargo la úlcera corneal puede avanzar rápidamente hasta afectar toda la córnea al cabo de dos días o también consigue evolucionar de manera subaguda en el transcurso de varios días. Los síntomas generales son infrecuentes y las complicaciones son la perforación corneal, la afectación de la cámara anterior y endoftalmitis.^{14,16}

Bacterias gram-positivas: La mayoría de ellas forman parte de la flora ocular residente, pero poseen distintas capacidades de patogenicidad. Los estafilococos coagulasa-negativos y *Corynebacterium* spp son los principales componentes de la flora conjuntival y poseen escasa patogenicidad, razón por la que suelen infectar úlceras corneales producidas por enfermedades oculares crónicas, o en relación a heridas oculares.^{14,16} *Streptococcus pneumoniae* puede colonizar asintóticamente mucosas, incluyendo las conjuntivas, respecto a las infecciones oculares, es el principal agente etiológico de conjuntivitis bacterianas y ocupa un importante lugar entre los agentes etiológicos de queratitis infecciosas, asociadas a diversas enfermedades o cirugías oculares.¹⁶ Los estreptococos del grupo *viridans* son parte de la flora conjuntival en una pequeña proporción de personas y son poco patogénicos; por ello, infrecuentemente producen queratitis. La infección corneal por estos microorganismos suele tener una presentación clínica muy particular, denominada queratopatía cristalina, caracterizada por una evolución muy lenta, con escasa reacción inflamatoria y lesión corneal con forma de cristales. Finalmente, *Staphylococcus aureus* posee las dos características antes mencionadas, es un componente importante de la flora ocular y posee múltiples factores de patogenicidad.^{14,16} Esto explica por qué es el principal agente causal de queratitis, pudiendo aislarse de pacientes con cualquiera de los factores predisponentes ya mencionados.

Bacilos gram-negativos: *P. Aeruginosa* y *S. Marcescens* son los principales bacilos gram-negativos aislados en queratitis infecciosas en usuarios de lentes de contacto.¹¹ Estas bacterias pueden adherirse a las células de la córnea, capacidad favorecida por las condiciones de *stress* que ocasiona el uso de los lentes.

Además, pueden sobrevivir en ambientes áridos y con pocos nutrientes, tales como las soluciones para preservar los lentes de contacto, aún en presencia de los desinfectantes utilizados para la desinfección de los mismos. Se ha demostrado que *P. Aeruginosa* se adhiere firmemente a los lentes de contacto y al estuche de los mismos y posteriormente forma un *biofilm* sobre sus superficies, estola hace capaz de persistir en esos sitios, resistiendo desinfectantes y lavados habituales.^{16,17}

Ocasionalmente, estos u otros bacilos gram-negativos pueden aislarse en pacientes con queratitis postquirúrgicas, post-traumáticas o relacionadas a enfermedades oculares.^{14,16}

Micobacterias ambientales y bacterias filamentosas: estas bacterias pueden recuperarse de suelos y aguas, son patógenos oportunistas y producen queratitis en relación a

traumatismos oculares, pudiendo ocasionalmente recuperarse de úlceras en usuarios de lentes de contacto. La presentación clínica es variable, desde abscesos corneales francos hasta formas más indolentes como la queratopatía cristalina.^{16,17}

ÚLCERA CORNEAL DE ORIGEN FÚNGICO

Los hongos son una causa poco frecuente de queratitis en los países con clima templado y en las regiones industrializadas. Sin embargo constituyen un problema sanitario en las zonas rurales de los países de clima tropical y subtropical en vía de desarrollo.³ El porcentaje de queratitis infecciosa causadas por hongos y su incidencia aumenta al disminuir la latitud y aumentar la temperatura ambiental, suelen aparecer en personas jóvenes sanas que viven o trabajan en ambiente rural.^{3,10}

Estos hongos no son capaces de penetrar en el epitelio corneal intacto, por lo que la invasión corneal suele ser secundaria a un traumatismo corneal con material orgánico, que puede ser de origen vegetal o animal, y es el responsable de implantar las conidias directamente en el estroma o en el epitelio corneal. En los países en desarrollo, este es un factor de riesgo importante y las lesiones con material orgánico son consideradas el factor de riesgo más común. En un estudio hindú el trauma ocular fue asociado con el 90% de las úlceras fúngicas y 60% de estas fueron lesiones de origen vegetal. Más de 25% de los pacientes del sur de India con úlceras fúngicas se dedicaban a tareas agrícolas.³

En nuestro medio predominan los hongos filamentosos, fundamentalmente en queratitis postraumáticas y en menor proporción en queratitis postquirúrgicas. Los géneros más frecuentes son *Fusarium* y *Aspergillus*, habiéndose descrito más de 30 géneros y 60 especies.^{4,5,6,7,14,16}

Las queratitis debidas a hongos levaduriformes, son más frecuentes en zonas de clima templado y frío. Suelen aparecer en ojos de pacientes con enfermedades oculares o sistémicas predisponentes. Los pacientes con queratitis seca, úlceras neurotróficas, queratitis herpéticas, trasplantes de córnea, portadores de lentes de contacto, uso de esteroides tópicos, estados de inmunosupresión y diabetes mellitus, son susceptibles de padecer una úlcera micótica por levadura.^{7,13} Entre los hongos levaduriformes, destaca la *Cándida albicans*, que generalmente coloniza la conjuntiva y borde palpebral en personas sanas y es responsable de la mayor parte de las queratitis micóticas por levaduras.¹⁷

En la fisiopatología de las queratomicosis se han descrito varios factores, tales como adhesividad, toxigenicidad, secreción de proteasas e invasividad, que contribuyen a su más importante característica: la capacidad de los hongos de avanzar en profundidad, hacia los planos más profundos de la córnea, pudiendo incluso llegar a perforarla y producir endoftalmitis.¹⁸ Es por esto que el éxito terapéutico es mayor cuando el diagnóstico se realiza tempranamente.

ÚLCERA CORNEAL VIRAL

La queratitis por *herpes simplex* es producida por herpes virus humanos tipo 1 y 2. La infección primaria puede ser ocular o no, produciéndose después de ella un periodo de latencia en el que el ADN del virus puede encontrarse tanto en las neuronas del ganglio trigémino como en la córnea. Cuando se reactiva el virus viaja por las terminaciones nerviosas hasta el lugar donde produce la infección.¹⁴

Típicamente, la afectación ocular en el adulto está causada por VHS-1, mientras que la mayoría de las conjuntivitis y queratitis neonatales se debe al VHS-2 por su paso a través del canal del parto. La infección primaria puede ser o no sintomática y es seguida por un estado latente de no replicación viral. Se requiere un contacto próximo personal para la transmisión de la infección viral, siendo las principales puertas de entrada las membranas mucosas y la piel.^{14,15,19}

La afectación ocular por HSV constituye un problema de salud de primer orden. En Estados Unidos se estima que existen más de 20.000 nuevos casos anuales y un número total de episodios anual superior a los 48.000. En Francia la incidencia es de 31,5% por 100,000 personas al año, de los cuales 13,2% por 100,000 personas al año son casos nuevos y 18,3% por 100.000 personas al año son recurrencias.¹⁹ Los cuadros clínicos se distribuyeron de la siguiente manera: queratitis dendrítica (56,3%), queratitis estromal (29,5%), queratitis geográfica (9,8%). El cuadro de queratitis fue acompañado de conjuntivitis en el 18,8%, y de uveítis en el 11,8%, con afectación de los párpados en el 8,6%. Estas cifras de incidencia aumentan en patologías como la atopia y la diabetes. El riesgo de recurrencia después del primer episodio de herpes ocular es a un año, de 10%, a dos años de 23% y a 10 años de 50%.^{15,19}

ÚLCERA CORNEAL PARASITARIA (*Acanthamoeba*).

La *Acanthamoeba* spp, es una ameba de vida libre que alterna entre estados de trofozoíto y de quiste, encontrándose en diversos tipos de aguas y suelos.^{1,2} Los quistes representan una forma de resistencia a diversas condiciones ambientales desfavorables, tales como temperatura, pH, agua clorada, antibióticos e incluso a los procesos de desinfección habitualmente utilizados para el mantenimiento de los lentes de contacto.¹¹ La úlcera por *Acanthamoeba* se caracteriza por una progresión insidiosa, mucho dolor ocular y la presencia de infiltrado corneal en forma de anillo alrededor de la lesión.^{2,14} El 70-95% de los casos se produce en usuarios de lentes de contacto, mientras que el resto se asocia a trauma y/o exposición a ambientes acuáticos contaminados.¹¹

Se han descrito varios factores que podrían relacionarse a la patogenicidad de ciertas cepas de *Acanthamoeba* spp., como son: adhesión a diferentes células y superficies, evasión del sistema inmune, producción de cisteína-proteasas, serino-proteasas, elastasas, fosfolipasas y efecto citopático, entre otros.¹⁴

Microbiología ocular en el diagnóstico de úlceras infecciosas de córnea.

Los gérmenes que causan úlceras infecciosas en la córnea se visualizan con más éxito en el laboratorio si se buscan en estadios tempranos de la infección. Las muestras deben ser tomadas idealmente por el médico oftalmólogo en la lámpara de hendidura. Se debe visualizar la secreción o tejido que va a ser estudiado antes de tomarlo, esto con el fin de evitar el crecimiento de gérmenes de la flora normal ocular y evitar errores en la recolección.^{1,2} La toma se realiza en condiciones de absoluta asepsia, con los instrumentos adecuados. El paciente preferentemente, no debe estar recibiendo antibióticos orales ni tópicos.

Regularmente se utiliza anestésico tópico como el clorhidrato de tetracaína 1.5mg, para las muestras de córnea se utilizan espátulas de kimura estériles, que poseen un borde romo que ocasiona un mínimo trauma. El aplicador de alginato de calcio es muy útil ya que inhibe el crecimiento de gérmenes saprófitos.¹⁸

Idealmente en el procesamiento de muestras oculares, la muestra debe pasar directamente del ojo del paciente a láminas de vidrio para tinciones y a medios de cultivo líquidos y/o sólidos para incubación a diferentes temperaturas tan pronto sea obtenida. En el caso en que deban ser transportadas al laboratorio antes de sembrarlas, deben ser depositadas en medios de transporte específicos según la sospecha etiológica y en el menor tiempo posible, (ej.: la solución de Page o el agar base no nutritivo sembrado con bacteria para transportar *Acanthamoeba*). En medios de cultivo líquidos de enriquecimiento como el caldo tripticasa soya, tioglicolato, infusión de cerebro corazón (BHI), y el caldo de carne cocida se siembran y transportan bacterias aerobias, anaerobias y hongos.^{2, 20} Una vez en el laboratorio, se procede a teñir los extendidos para realizar tinciones de Gram, Giemsa, KOH, Azul de Lactofenol, Ziehl-Nielsen, Blanco de Calcoflúor o Naranja de Acridina según la sospecha clínica del germen causal. La muestra es sembrada a su vez en agares sólidos para luego ser incubadas a temperaturas específicas según el germen sospechado.

La técnica clásica de siembra de muestras de córnea en microbiología ocular, cuando se siembra directamente del ojo es haciendo tres filas de estrías en C. Una primera fila de estrías proviene del centro de la úlcera. La segunda y tercera fila corresponden a los bordes superior e inferior de la úlcera. En caso de estar sembrando una muestra proveniente de medios de transporte o caldos de enriquecimiento, se usan aplicadores, y se utiliza la técnica clásica de la microbiología general de la siembra en rallas discretas múltiples.²⁰

Los medios de rutina en que se hacen las siembras son el agar sangre, el agar chocolate (aeróbico y anaeróbico) y el agar sabouraud para hongos. Medios diferenciales-selectivos como el agar de Mc Konkey para gramnegativos, el agar sales de manitol para estafilococo, y el Eosina azul de metileno para gramnegativos, también pueden utilizarse en casos escogidos.

Los medios de cultivo sembrados son incubados. La incubadora se utiliza como medio para exponer la muestra a una temperatura determinada y obtener el crecimiento deseado. Para gérmenes comunes se incuban las muestras a 37°C en agar sangre y agar chocolate, por un periodo de tiempo que varía entre 48 horas y 7 días. La concentración de CO₂ debe estar entre 3 a 10%. Los anaerobios son incubados en jarra anaeróbica a 35°C, hasta por 14 días. El crecimiento de hongos puede obtenerse entre 25 y 30°C, y puede tomar entre 4 y 6 semanas. Micobacterias requieren una concentración de 5 a 10% de CO₂ y pueden tardar en crecer hasta 6 semanas.²⁰

Una vez estamos ante la presencia de colonias, procedemos a identificar la bacteria causal. Este paso se realiza mediante pruebas bioquímicas de caracterización, que son esencialmente baterías de medios diferenciales, seleccionados para identificar grupos específicos de bacterias, las pruebas se complementan con la evaluación de la morfología colonial, de la presentación microscópica de la bacteria y de características propias de la bacteria como movilidad, acción sobre la leche, comportamiento con la catalasa, lecitinasa, lipasa y otros.

En el caso de queratitis virales por Herpes simple o Zoster con presentación atípica, la demostración objetiva del virus se hace por su aislamiento y la demostración de la presencia de antígenos propios del virus en el cultivo celular. La técnica de diagnóstico genético reacción de cadena polimerasa (PCR) y la prueba de ELISA han mostrado igual eficacia en identificar el virus. En el laboratorio de microbiología se puede simplemente realizar una citología en extendidos tenidos con Hematoxilina-Eosina, Papanicolau y Giemsa (Test de Tzank), y confirmar la sospecha de infección viral al visualizar células gigantes

multinucleadas, cuerpos intracitoplasmáticos eosinófilos de Lipschutz (herpes simple y herpes zoster) o basofílicos de Cowdry (herpes simple), cuerpos de inclusión intranuclear, células epiteliales degeneradas globulosas.^{15,20}

El protozoo *Acanthamoeba* no produce colonias en los agares sólidos. En agar sangre se ven estrías características que bajo microscopio invertido de contraste de fase muestran la presencia de quistes o trofozoítos de amoeba. Agar base no nutritivo sembrado con *E. coli* es también utilizado para su transporte y crecimiento.^{1,2,20} El medio líquido por excelencia axenico para cultivar especies de *Acanthamoeba* es el Peptona-extracto de levadura-glucosa (PGY). Lo que visualizamos utilizando microscopia de luz observamos es la multiplicación del parásito cada 48 horas en forma exponencial.²⁰

En nuestro estudio se recopiló la incidencia úlceras corneales y sus microorganismos causales, la cual fue obtenida a través de la exploración oftalmológica completa y la realización de cultivos pertinentes en cada caso.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La úlcera corneal es una invasión de microorganismos proliferantes de patogenicidad y virulencia variables. Este trabajo pretende establecer las características clínicas, incidencia, edad y sexo de presentación de las úlceras corneales microbianas en la población que acude a consulta al Hospital General de México. Debido a que no se ha realizado un estudio de este tipo en esta unidad, servirá como referencia para catalogar la incidencia y etiología de dicha patología.

JUSTIFICACIÓN

La presente investigación es importante ya que con los datos obtenidos se podrá conocer la incidencia y etiología de las úlceras corneales, y con ello poder realizar una clasificación, detección oportuna y un esquema de tratamiento efectivo.

HIPÓTESIS

Si conocemos la incidencia de las úlceras corneales microbianas que se presentan en servicio de oftalmología del Hospital General de México, permitirá un diagnóstico y tratamiento oportuno de las úlceras corneales.

OBJETIVOS GENERALES

Conocer la incidencia de las úlceras corneales microbianas en paciente atendidos en el Servicio de oftalmología del Hospital General de México, teniendo presente bases anatómicas y fisiológicas de la córnea.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adquirir y fortalecer los conocimientos sobre úlceras corneales.
- Identificar agente etiológico.
- Elaboración de un proceso sistematizado de atención y diagnóstico en pacientes con úlcera corneal.
- Evaluar y analizar los factores de riesgo como edad, sexo, ocupación y área demográfica pre disponentes a úlcera corneal.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal a pacientes de cualquier edad con diagnóstico de úlcera corneal microbiana que acudieron a consulta al servicio de Oftalmología del Hospital General de México en el período comprendido entre el día 1o de marzo de 2013 y el día 1o de marzo de 2014, determinándose incidencia y etiología de la lesión.

En cada paciente se realizó examen oftalmológico completo, diagnóstico de úlcera corneal y sin iniciar tratamiento antimicrobiano el médico a cargo (adscritos al servicio, adscritos a la clínica de Córnea y médicos residentes de Oftalmología) realizaron la toma de muestra de raspado corneal mediante la siguiente técnica:

1. Instilación de anestésico tópico sobre superficie corneal.
2. Toma de muestra corneal de manera rutinaria con hisopo de alginato de calcio en periferia y centro de la úlcera.
3. La muestra se inoculó en cuatro medios sólidos (agar sangre, agar chocolate, sal manitol y Sabouraud) y uno líquido (caldo de infusión cerebro-corazón), dependiendo la sospecha etiológica.
4. Se realizó tinciones de Gram y Giemsa para todas las muestras.
5. Se tomó cultivo en unidad de micología del servicio de Dermatología, donde el médico o químico a cargo posterior a instilación de anestésico tópico sobre superficie corneal tomo una muestra corneal que se colocó sobre laminillas que fueron observadas bajo el microscopio (estudio directo) para obtener diagnóstico preliminar y sobre medios de cultivo enriquecido: Frotis con tinción de KOH, Giemsa o Calco flúor y cultivo para hongo en agar Sabouraud o agar sangre, para diagnóstico definitivo.

Se recolectó semanalmente resultados en microbiología y micología.

POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA

Población:

- Pacientes con diagnóstico de úlcera corneal microbiana en el Servicio de Oftalmología del Hospital General de México.

Tamaño de muestra:

- Pacientes con diagnóstico de úlcera corneal microbiana atendidos en el servicio de oftalmología del Hospital General de México en el periodo comprendido entre el 1º de marzo de 2013 al 1º de marzo de 2014.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN

Criterios de Inclusión:

- Pacientes de cualquier edad, sexo, raza, nivel socioeconómico, con diagnóstico de úlcera corneal microbiana atendido en la consulta de oftalmología del Hospital General de México.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con diagnóstico de úlcera corneal viral.

DEFINICIÓN DE VARIABLES A EVALUAR Y FORMA DE MEDIRLA

- Edad: numérica continua medición en meses y años.
- Género: nominal cualitativa medición en género (hombre, mujer)
- Enfermedades asociadas: nominal cualitativa medición en categoría.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó una base de datos con los datos personales del paciente (sexo, grupo etario, ocupación, lugar de origen).

Se realizó estadística descriptiva y medidas de tendencia central con Excel para Windows.

ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD

Se explicó al paciente que los procedimientos a los que será sometido no implican riesgos adicionales a su patología de base y si aportará beneficios para conocer el agente etiológico causal de úlceras microbianas y poder establecer un tratamiento específico.

RELEVANCIA Y EXPECTATIVAS

El resultado será publicado para divulgar lo encontrado en una muestra representativa de población mexicana.

Será presentado como un trabajo tipo tesis.

RECURSOS DISPONIBLES

Consulta externa del servicio de Oftalmología del Hospital General de México.

Servicio de Micología (Unidad de Dermatología), del Hospital General de México.

Unidad de Microbiología y Parasitología, (Laboratorios centrales), del Hospital General de México.

RESULTADOS

Se obtuvo un total de 51 pacientes con diagnóstico de úlcera corneal recibidos en el Servicio de Oftalmología del Hospital General de México, en el periodo de 1º de marzo de 2013 a 1º de marzo de 2014, de los cuales 23 fueron hombres (45.09%) y 28 mujeres (54.90%) (**Gráfica 1**). Para clasificar a los pacientes de acuerdo al rango de edad (**Gráfica 2**), se dividieron en grupos de 10 años, ej. de 0 a 10 años, de 11 a 20 años, y así sucesivamente. Según la edad de presentación se encontró una edad mínima de 11 años y una máxima de 93 años, la mayor incidencia de presentación se encontró en el rango de edad comprendido entre los 21 a 30 años con 10 pacientes (19.60%) de la muestra (51 pacientes-100%).

De los pacientes de nuestro estudio 21 se dedican al hogar (41.17%), 12 son empleados (23.52%), 5 comerciantes (9.80%), 4 estudiantes (7.84%), 3 campesinos (5.88%), 3 constructores (5.88%), 1 profesionista (1.96%). El lugar de origen por orden de frecuencia fue el Distrito Federal con 15 aislados (29.41%), Estado de México con 8 aislados (15.68%), Guerrero con 2 aislados (3.92%) y Veracruz con 2 aislados (3.92%). (**Tabla 1**)

Del total de pacientes diagnosticados, 6 de ellos (11.76%) contaban con el antecedente de ser usuarios de lente de contacto.

Al interrogatorio 33 pacientes (64.70%) refirieron haber iniciado antibioticoterapia tópica previa a la toma de cultivos, no especificada en la mayoría de los casos.

El cultivo fue positivo en 27 pacientes (52.94%) y en 24 pacientes (47.05%) no se encontró desarrollo microbiano (**Gráfica 3**). Se identificaron 10 microorganismos diferentes y no se encontraron infecciones polimicrobianas. (**Gráfica 4**)

Las bacterias fueron responsables de 18 cultivos positivos (35.29% del total de los cultivos positivos), los hongos de 9 cultivos positivos (17.64% de los cultivos positivos). (**Foto 1**)

Del total de 51 pacientes (100%), 16 cultivos (31.37%) fueron positivos para bacterias gram positivas, y 2 (3.92%) para Gram negativos (**Tabla 2**), siendo el *Staphylococcus epidermidis*, el microorganismo más común con 8 cultivos positivos (15.68%) (**Foto 2**), quedando en segundo lugar el *Streptococcus pneumoniae* con 3 cultivos positivos (6%) y *Corynebacterium sp.* en tercer lugar con 2 cultivos (4%), y como única bacteria gram negativa, se obtuvo *Pseudomonas aeruginosa* en 2 cultivos (4%).

Del total de los cultivos positivos para hongos el microorganismo predominante fue *Fusarium* con 4 cultivos positivos (7.84%) (**Foto 3, 4, 5**), seguido por *Candida albicans* con 3 cultivos positivos (5.88%), quedando en tercer lugar *Aspergillus fumigatus* con 2 cultivos positivos (3.92%). De los 9 aislados positivos para hongos, 3 pacientes pertenecían al Estado de México, 3 al Distrito Federal, 2 a Guerrero y 1 a Veracruz, realizando sólo 3 de ellos labores del campo, 2 pacientes dedicadas al hogar, 1 empleado, 1 comerciante, 1 profesionista y 1 estudiante.

No se encontró ningún cultivo positivo para parásitos, siendo buscado en algunos casos específicos que parecían presentar un cuadro clínico orientador hacia esa etiología.

DISCUSIÓN

El interés en realizar este tipo de estudio se debe a que la úlcera corneal microbiana es una patología frecuente en el servicio de oftalmología, al conocer sus características, y su agente etiológico causal más frecuente, nos permite elaborar una estrategia de tratamiento oportuna que prevenga y limite el daño visual. **(Foto 6)**

En este estudio se obtuvieron 51 pacientes con diagnóstico de úlcera corneal microbiana encontrando predominio en el sexo femenino (28 mujeres, 54.90%) con respecto al sexo masculino (23 hombres, 45.09%). En los reportes mundiales se sitúa al sexo masculino como predominante en padecer esta patología con un 65%.^{1,4,5,6,12} De las 51 muestras estudiadas, resultaron positivas a desarrollo 27 (52.94%) y se encontraron sin desarrollo 24 (47.05%), Kaye²¹, en su estudio encuentra múltiples causas para un cultivo negativo como son la toma insuficiente del raspado corneal, un paciente no cooperador, un operador no experimentado en la toma de muestras y en el uso del laboratorio microbiológico, el envío de una pequeña cantidad de inóculo para siembra el cuál a través de la dilución puede dar un error en el muestreo, no seguir el método tradicional de utilizar múltiples placas y muestras para el cultivo **(Foto 7)**, no hacer uso del correcto medio de transporte, el inadecuado almacenamiento de las muestras, así como la terapéutica previa con antimicrobianos tópicos²¹**(Foto 8)**. La población en riesgo se encuentra entre los 21 a 31 años (población económicamente activa), la cual resulta en nuestro estudio, la población con mayor incidencia de afectación, en pacientes dedicados al hogar (41.17%), empleados (23.52%) y comerciantes (9.80%) en tercer lugar. Encontramos que la mayoría de casos provienen de zona urbana, Distrito Federal (29.41%) y Estado de México (15.68%), lo cual es un dato esperado ya que este Hospital al ser un centro de referencia Federal Nacional se encuentra asentado en la capital de la República.

Se encontró mayor incidencia de úlceras bacterianas, en su mayoría microorganismos Gram positivos 31% (16 aislados) y como agente más frecuente el *Staphylococcus epidermidis* 15% (8 cultivos), lo cual coincide con la literatura mundial, nuestros resultados son similares a los reportados en Norteamérica por nuestra cercanía y similitud geográfica.^{1,4,5,6,12}

En el estudio realizado en el 2012 en el Instituto Conde de Valenciana, de 154 pacientes, el 88.2% de los cultivos fueron positivos para bacterias y el *Staphylococcus epidermidis* fue el microorganismo más comúnmente aislado con 27.94%, en 2o lugar *Pseudomonas aeruginosa* con 14.71%, el 11.8% positivos para infecciones fúngicas, encontrando el mismo número de casos (3 aislados) para *Aspergillus* y *Fusarium*⁵ y coincide con nuestro resultado en el predominio bacteriano que del total de cultivos positivos (27 cultivos, 52.94%), el 35% (18 cultivos) fue para bacterias y el *Staphylococcus epidermidis* fue el más encontrado, diferimos en que nuestro segundo agente bacteriano más encontrado fue *Streptococcus pneumoniae* con el 6% (3 cultivos), en tercer lugar *Corynebacterium* sp con 4% (2 cultivos), con el mismo número de aislados para Gram negativos con 2 cultivos positivos para *Pseudomonas aeruginosa* (4%) y en el caso de cultivos positivos para hongos obtuvimos el 18% (9 cultivos) de los cuales predominó *Fusarium* 8% (4 cultivos), en segundo lugar *Candida albicans* 6% (3 cultivos) y en tercer lugar *Aspergillus* 4% (2 cultivos).

En los resultados del estudio realizado en el Instituto Oftalmológico Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz donde encontraron coincidencias con nuestro estudio al

encontrar como microorganismo más frecuente en cultivos positivos a *Staphylococcus epidermidis* (10% de cultivos positivos) y en segundo lugar *Fusarium sp* con el 8.1% de todos los casos, similares a nuestro estudio.

La Asociación para evitar la Ceguera presenta en su estudio de "Resistencia en queratitis bacteriana" como agente causal principal al *Staphylococcus aureus* con 29 aislados positivos de 91 revisados, ya que el agente microbiano que encontraron más frecuentemente (*Staphylococcus Epidermidis*) no lo tomaron en cuenta y se consideró flora normal.⁶ En su "Análisis de queratitis micóticas en un hospital de tercer nivel" donde se incluyeron 86 pacientes, predominó el sexo masculino (64%), con una edad promedio de 51 años, se obtuvieron como patógenos más comunes a *Fusarium* 23% (20 casos), *Aspergillus* 13% (11 casos) y *Cándida* 12% (10 casos)⁷, coincidentes con nuestro estudio obteniendo en primer lugar a *Fusarium* con la variable de que obtuvimos en segundo lugar *Cándida albicans* y en tercero *Aspergillus*.

En los textos internacionales es *Aspergillus sp*, el microorganismo responsable de la mayoría de las úlceras corneales fúngicas a nivel mundial.^{7,13} En nuestro país es *Fusarium sp* el de mayor incidencia, coincidiendo además con literatura norteamericana, donde se sitúa en primer lugar dependiendo la situación geográfica y las características propias del paciente estudiado¹⁷, encontrando así que los hongos filamentosos septados son los de mayor predominio. Es importante tener en cuenta que los principales factores de riesgo para la infección micótica son el antecedente de trauma, uso de lentes de contacto y antecedentes quirúrgicos así como alteraciones de la superficie corneal, aunado al antecedente del origen sociodemográfico del paciente. En nuestro estudio de los 9 aislados positivos para hongos (18%), 6 de ellos son originarios de la ciudad y área conurbada (12%), realizando sólo 3 de ellos labores del campo (6%) y el resto, labores de aparente bajo riesgo.

Durante el período 2000-2006, el doctor Pueyo y colaboradores realizaron un estudio en el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza España de los microorganismos presentes en las queratitis bacteriana, reportando que el 44,4% eran bacilos gram negativos, el 33,3% correspondía a cocos gram positivos y el 22,2% bacilos gram positivos. Dentro del porcentaje de especies se encontró que el 28,5 % correspondía a *P. aeruginosa*, el 11,1 % *S. aureus*, y 22,2% *Corynebacterium diphtheriae*¹¹, comparándolo con nuestros resultados coincidimos en que los microorganismos gram positivos (bacilos y cocos) son los aislados más frecuentes, aunque en nuestro estudio el más frecuente fue *Staphylococcus epidermidis* y en ese estudio no obtuvo reporte, a diferencia del bacilo *P. Aeruginosa* el cual fue el más prevalente en dicho reporte y que en nuestro estudio fue el único gram negativo aislado con solo 2 cultivos (4%), con el mismo número que el gram positivo, *Corynebacterium sp*.

Es importante recalcar que del total de 51 pacientes, 33 de ellos (64.70%) mencionaron haber recibido tratamiento antibiótico tópico previo, este procedimiento pudiera explicar en parte, el elevado porcentaje de cultivos sin desarrollo (24 aislados, 47%).

Otro número de pacientes refiere haber recurrido a remedios tradicionales, siendo el más común, la aplicación del té de manzanilla, que pudiera promover potencialmente la contaminación de la herida y agravar el desarrollo y progresión de la úlcera.

CONCLUSIÓN

Las infecciones corneales representan un elevado riesgo de pérdida de la visión por lo que deben ser tratadas oportuna y eficientemente. Es importante instaurar un plan de acción eficaz iniciando con una adecuada exploración oftalmológica y debido a que es muy variable la prevalencia de los agentes causales, es de suma importancia la realización de tinciones y cultivos pertinentes en cada caso con el fin de obtener un diagnóstico microbiológico específico, el cual es fundamental para poder dirigir acertadamente nuestro tratamiento evitando la progresión de la enfermedad y con ello sus complicaciones.

El conocimiento de la incidencia de cada microorganismo, nos ayuda a dirigir un diagnóstico presuntivo y sumado al resultado preliminar y final del estudio microbiológico, da un mejor pronóstico visual.

ANEXOS FOTOGRÁFICOS

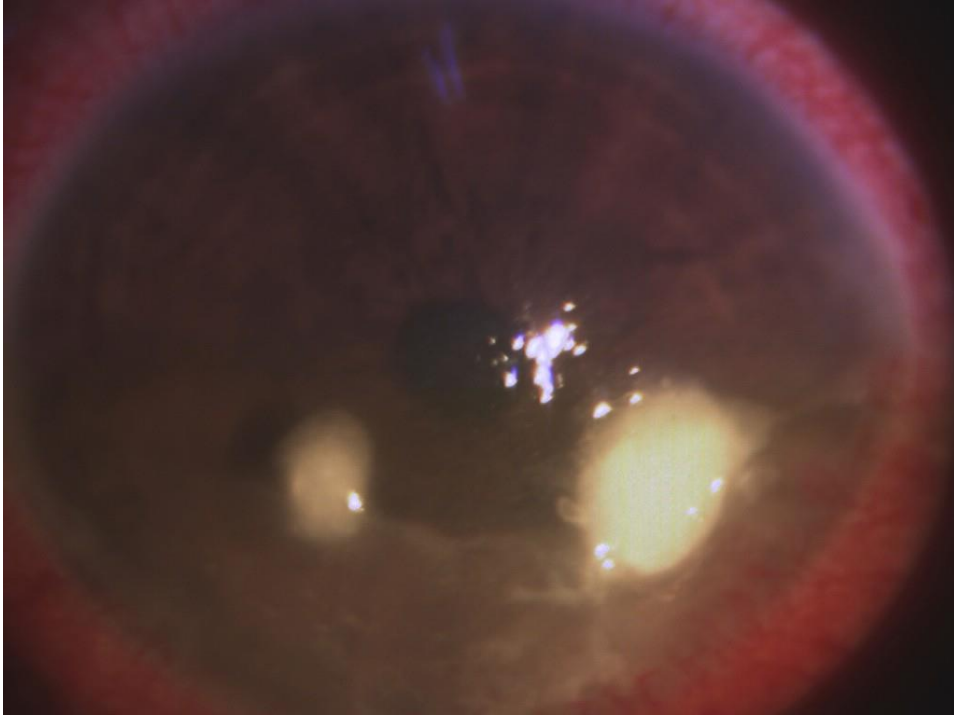


Foto 1. Fotografía clínica de úlcera corneal bacteriana.



Foto 2. Crecimiento en Agar Mc Conkey, de *Staphylococcus epidermidis*.

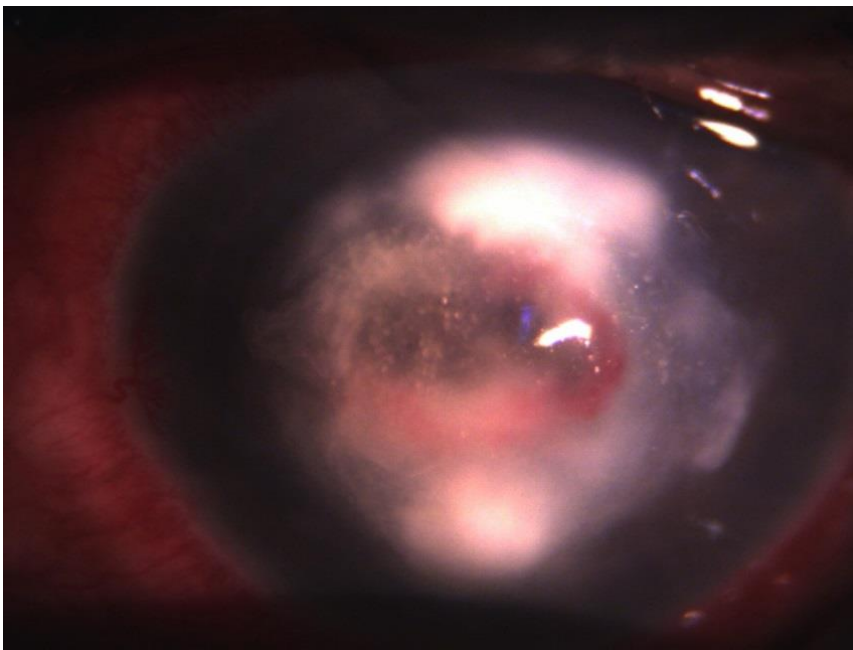


Figura 3. Úlcera corneal por *Fusarium*

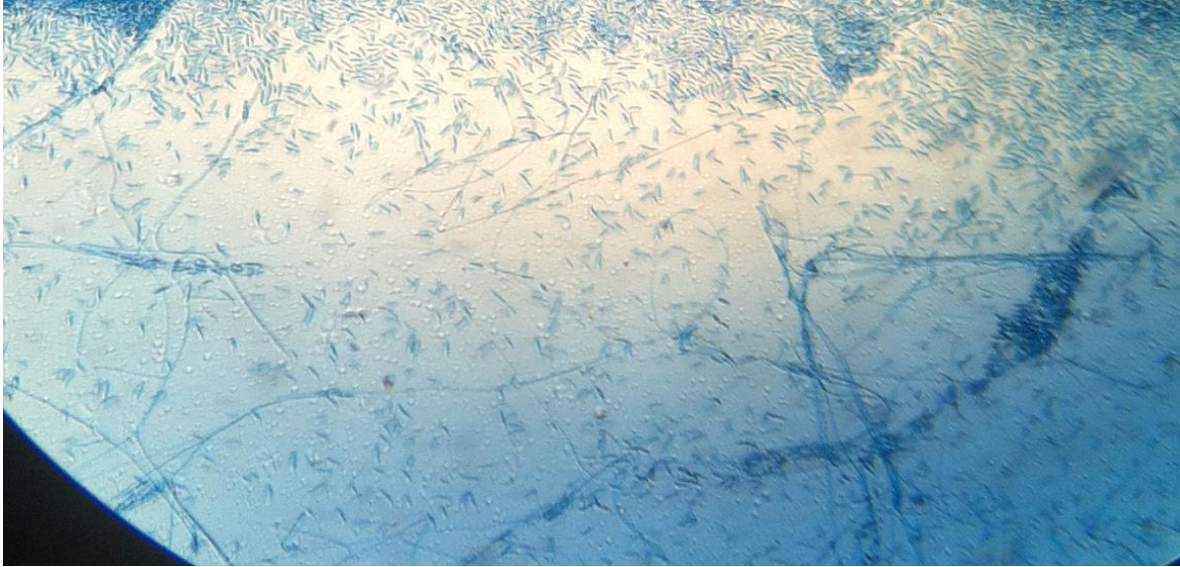


Figura 4. Cultivo de Fusarium sp.

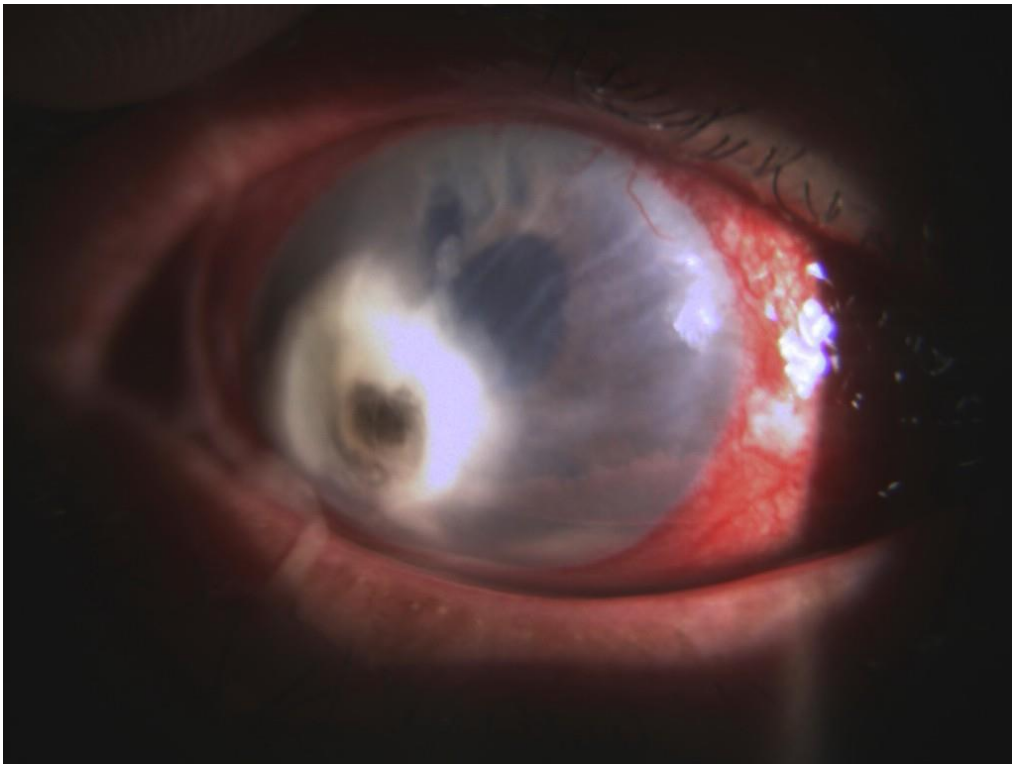


Foto 5. Fotografía clínica de úlcera corneal micótica

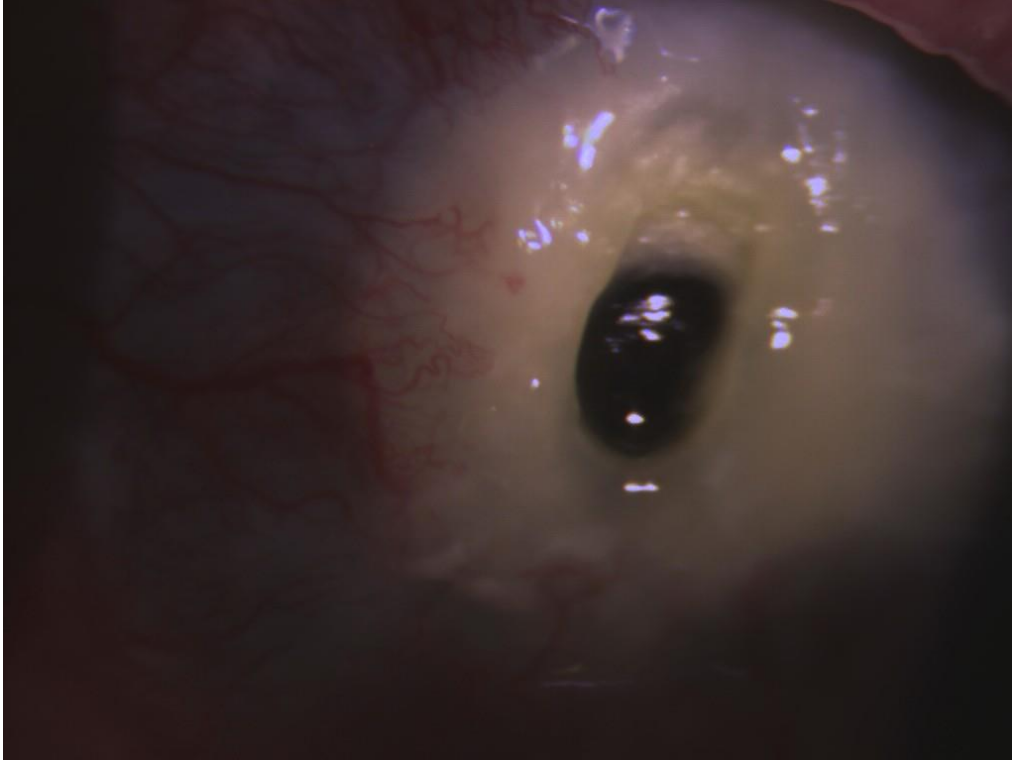


Foto 6. Fotografía clínica de úlcera corneal perforada.

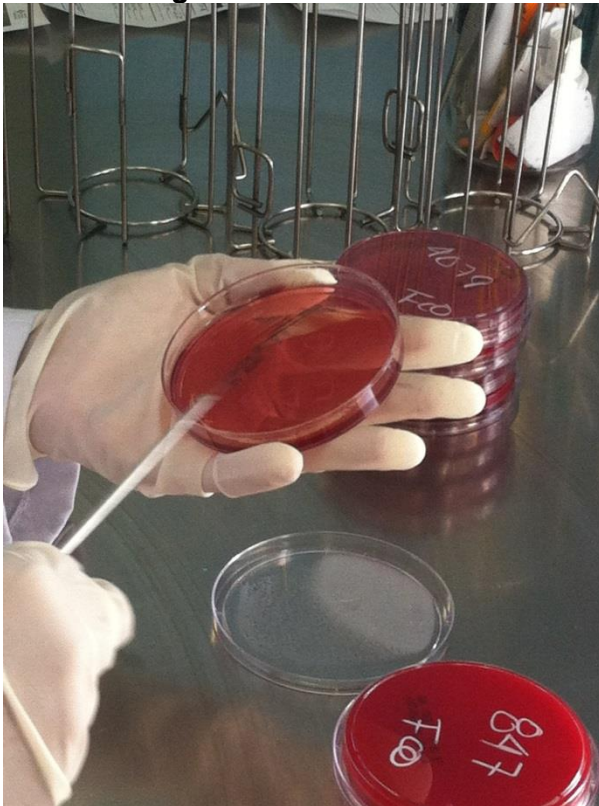


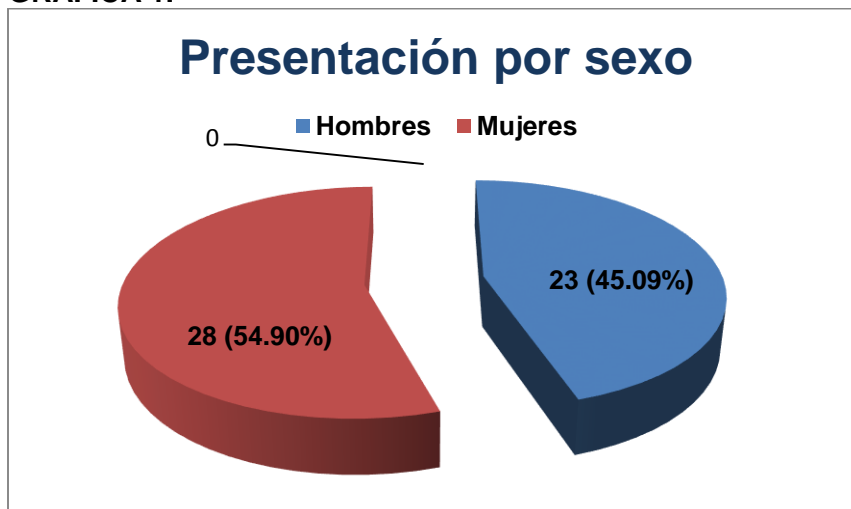
Foto 7. Siembra de muestras en medio enriquecido.



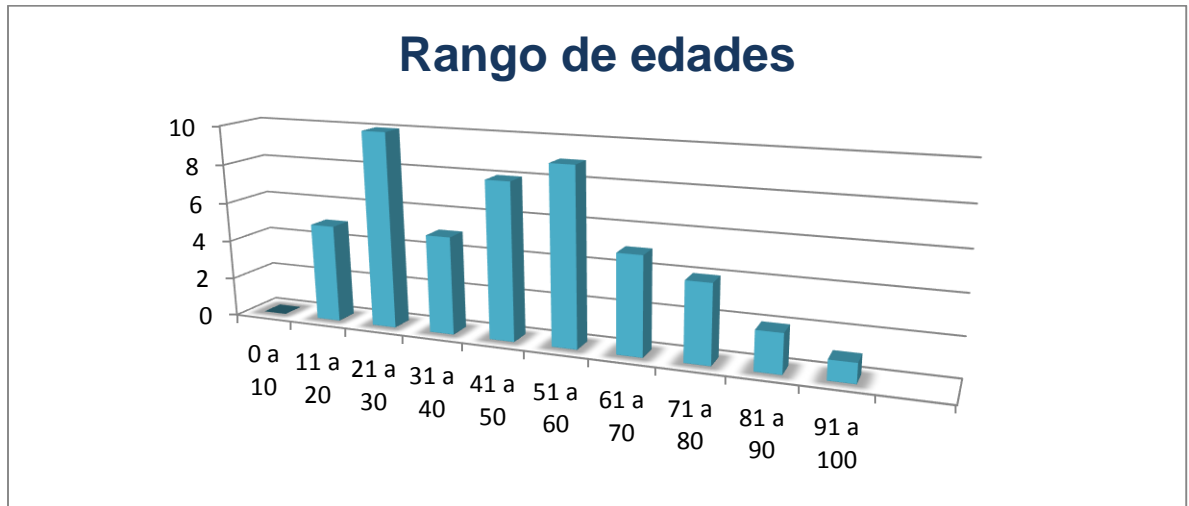
Foto 8. Procesamiento de muestras oculares en laboratorio.

ANEXOS DE GRÁFICAS

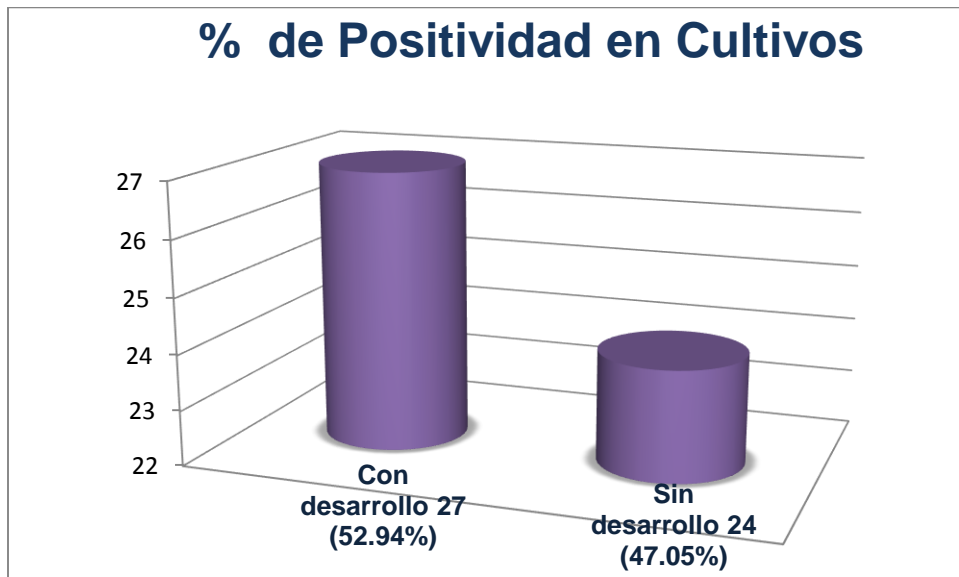
- GRÁFICA 1.



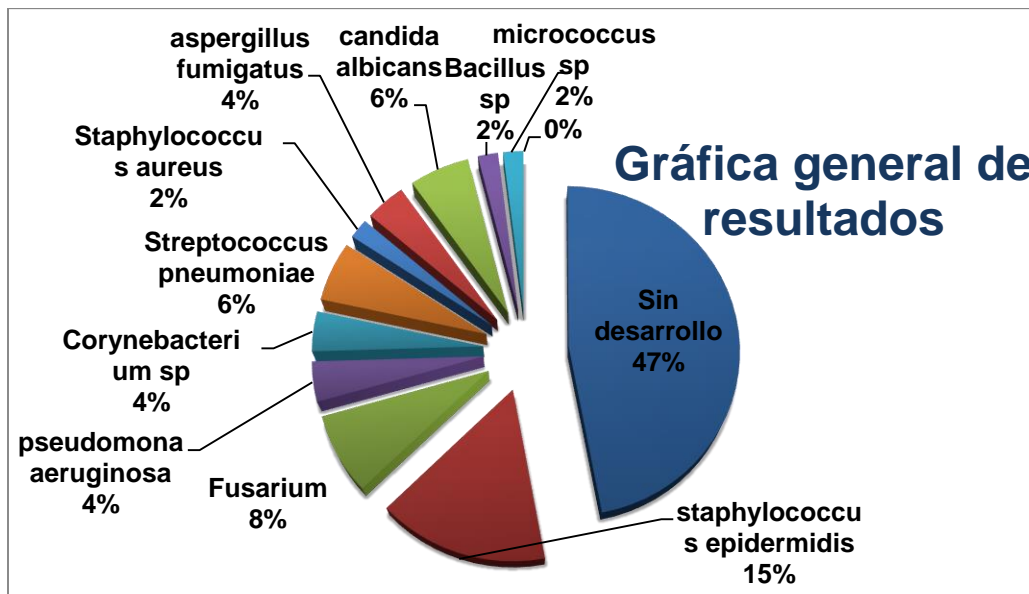
- **GRÁFICA 2**



- **GRÁFICA 3**



- **GRÁFICA 4**



ANEXOS DE TABLAS

TABLA1. Tabla Comparativa De Resultados De 51 Pacientes Con Cultivo Microbiológico Positivo.

No.	Sexo	Edad	Ocupación	Origen	Tto. Antibiótico/esteroide	Agente etiológico
1	F	65	Hogar	Guerrero	si	Aspergillus
2	M	52	Profesionista	Edo. México	si	Fusarium sp
3	M	36	empleado	D.F.	si	Fusarium
4	F	11	estudiante	Guerrero	no	Fusariumsp
5	F	54	Empleada	D.F.	no	Aspergillus
6	F	71	Hogar	D.F.	si	S. Pneumoniae
7	M	64	campesino	Edo. México	no	S.pneumoniae
8	F	20	Hogar	Edo. México	si	P. Aeruginosa
9	M	21	Comerciante	D.F.	si	Candida albicans
10	F	32	Hogar	D.F.	si	S. Epidermidis
11	F	27	Comerciante	D.F.	si	S. Epidermidis
12	F	23	Comerciante	Edo. México	si	S. Epidermidis
13	F	88	Hogar	D.F.	no	S. Pneumoniae
14	F	18	estudiante	Edo. México	si	S. Epidermidis
15	M	67	campesino	Veracruz	si	S. Epidermidis
16	F	20	Hogar	Edo. México	si	Candida albicans
17	F	76	Hogar	D.F.	no	Bacillus sp
18	M	59	Comerciante	Edo. México	no	S. Epidermidis
19	M	35	empleado	D.F.	si	Corynebacterium sp
20	M	73	Hogar	D.F.	si	S. Aureus
21	M	60	Hogar	Edo. México	SI	S. Epidermidis
22	M	50	Constructor	D.F.	SI	Micrococcus sp
23	F	26	estudiante	D.F.	si	Corynebacterium sp
24	F	57	Hogar	D.F.	no	P. Aeruginosa
25	M	41	empleado	D.F.	NO	S.pneumoniae
26	F	59	Hogar	D.F.	si	Candida albicans
27	M	43	Campesino	Veracruz	no	Fusarium sp.

TABLA 2. TABLA DESCRIPTIVA POR AGENTES ETIOLÓGICOS.

Queratitis infecciosa dividida por especies

Gram Positivos

Cultivos

Porcentaje

	positivos	
Staphylococcus Epidermidis	8	15%
Staphylococcus aureus	1	2%
Corynebacteriumsp	2	4%
Streptococcus pneumoniae	3	6%
Bacillussp	1	2%
Micrococcussp	1	2%
Gram Negativos		
PseudomonaAeruginosa	2	4%
<i>Total de aislados bacterianos</i>	18	35%
Microorganismos Fúngicos		
Aspergillus Fumigatus	2	4%
Fusarium	4	8%
Candidaalbicans	3	6%
<i>Total de aislados fúngicos</i>	9	18%
<u>Total</u>	<u>27</u>	<u>53%</u>

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bourcier T, Thomas F, Borderie V, et al. Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Br. J. Ophthalmol.* 2003;87: 805-806.
2. Bennett HGB, Hay J, Kirkness CM, et al. Antimicrobial management of presumed microbial keratitis: guidelines for treatment of central and peripheral ulcers. *Br. J. Ophthalmol.* 1998;82: 137-145.
3. Srinivansan M, Gonzales CA, George C, Cevallos V, Mascarenhas JM, Wilkins J, Smolin G, Whitcher JP. Epidemiology and etiological diagnosis of corneal ulceration in Madurai, south India. *Br J Ophthalmol.* 1997 Nov; 81(11): 965-7.
4. Alegría Gómez Elisa, et al. Prevalencia de agentes etiológicos en queratitis infecciosas en pacientes de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P. Tesis de Posgrado. 2012. p. 18-23.
5. Hernández J, Graue E, Chirinos P, Navas A. Infectious keratitis: microbiological and antibiotic sensitivity trends. First annual report of the ocular microbiology study group from The Instituto de oftalmología "Conde de Valenciana". *Revista mexicana de oftalmología.* 2012; 86 (4):213-222.
6. Hernández A. Resistencia En Queratitis Bacteriana En Pacientes De La Asociación Para Evita La Ceguera En México. Tesis de Posgrado. 2010. p. 11-16.
7. Villegas M, Castellanos M, Beltrán F. Análisis de las queratitis micóticas en un hospital de tercer nivel. *Revista Mexicana de Oftalmología.* 2012;86(4):231-239.
8. Khan MU, Hague MR, Khan MR. Prevalence and causes of blindness in rural Bangladesh. *Ind J Med Res.* 1985; 82:257-262.
9. Gilbert CE, Wood M, Waddel K, Foster A. Causes of childhood blindness in East Africa: results in 491 pupils attending 17 schools for the blind in Malawi, Kenya and Uganda. *Ophthalmic Epidemiol* 1995; 2:77-84.
10. Brilliant LB, Pokhrel RP, Grasset NC, et al. Epidemiology of blindness in Nepal. *Bull WHO* 1985; 63:375-386.
11. Egea MC, Pueyo V, Noles B, Sánchez A, Brito C, Honrubia FM. Queratitis Microbiana en Portadores de Lentes de Contacto. *Rev. ESP.CONTACT.* 2006; 13: 00.
12. Berra I, Nicola F, Torres R, Veliz M, Brunzini R, Brunzini M et al. Retrospective study of infectious keratitis in Argentina: comparing a large ophthalmic center and a specialized center in ocular infections. 2004 ARVO Annual Meeting, 2004. Resumen 4893, p. 257, Fort Lauderdale, Florida, EE.UU.
13. Gopinathan U, Garg P, Fernandes M, Sharma S, Athmanathan S, Rao G. The epidemiological features and laboratory results of fungal keratitis: A 10-year review at a referral eye care center in South India. *Cornea* 2012. 21: 555-559.
14. M. Green, A. Appel. Fiona Stapleto. Risk factors and causative organisms microbial keratitis. *Cornea* 2008 Vol. 27 No. 1. Enero.

15. Holbach I, Font R, Naumann G. Herpes simplex stromal and endothelial keratitis. *Ophthalmology* 1990; 97:722-728.
16. Varaprasathan G, Miller K, Lietman T, Whitcher JP, Cevallos V, Okumoto M, et al. Trends in the etiology of infectious corneal ulcers at the F. I. Proctor Foundation. *Cornea* 2004. 23: 360-364.
17. Alexandrakis G, Alfonso EC, Miller D. Shifting trends in Bacterial keratitis in South Florida and emerging resistance to fluoroquinolones. *Ophthalmology* 2000. 107:1497-1502.
18. Schaefer F, Bruttin O, Zografos L. Bacterial keratitis: a prospective clinical and microbiological study. *Br J Ophthalmol* 2001;85:842-847.
19. Labetoulle M, Auquier P, Conrad H, Crochard A, Daniloski M, Bouée S, El Hasnaoui A, Colin J. Incidence of herpes simplex virus keratitis in France. *Ophthalmology* 2005; 112: 888-95.
20. Khanal B, Deb M, Panda A, Sethi HS. Laboratory diagnosis in ulcerative keratitis. *Ophthalmic Res* 2005. 37: 123-127.
21. Kaye, Stephen B. Et al. Simplifying collection of corneal specimens in cases of suspected Bacterial keratitis. *J. Clin. Microbiol.* 2003, 41(7):3192-3197.