

Evaluation of 292 ocular swabs, vitreous and aqueous cultures in pathologies with severe prognosis during a 24-month observation period

Franco Giardini¹, Giuseppe Grandi¹, Romolo Protti², Cristina Pollino¹, Renata Murisciano¹, Fabio Leone¹

¹ Ospedale Oftalmico, Laboratorio Analisi, Torino

² Ospedale Oftalmico, Divisione Traumatologia, Torino

Key words: Bactec Plus, Ocular swabs, Vitreous and aqueous cultures

Valutazione di 292 colture da vitreo, acqueo e tamponi oculari in patologie a prognosi severa durante un periodo di osservazione di 24 mesi

SUMMARY

Introduction. Different part of the eye can be infected by bacteria, fungi, parasites and viruses (5).

The aim of this study was to assess the importance of ocular swabs culture in pathologies with severe prognosis.

Methods. We examined 292 patients with a severe diseases: 98% of those used topical and/or systemic antibiotic therapy. All sample were cultured both into a chocolate agar medium and into an *Haemophilus* selective agar and, at the same time, inoculated onto a modified blood culture.

Results. 75 out of 292 (25.7%) patients tested negative. The most representative microorganisms were: Coagulase-negative staphylococci (CNS) (20%), *Staphylococcus aureus* (12%), member of the *Pseudomonadaceae* family (10.9%), *Streptococcus pneumoniae* (9%), alpha haemolytic streptococci (8.2%), Fungus and Yeast (5.4%).

Considering the type of cultures: 54.5% of the vitreous cultures were positive and 45.5% were negative; 38.2% of the positive cultures were referred to endophthalmitis, with prevalence of CNS (32.5%) and *S. aureus* (22.9%), while 27.6% were due to an abscesses, with prevalence of members of the *Pseudomonadaceae* family (53.3%), CNS (23.3%) and *S. pneumoniae* (16.7%).

Conclusions. This data suggest the importance of the ocular swabs, vitreous and aqueous cultures in the therapeutic approach of the diseases with a severe prognosis and emphasize the good performance of the modified Bactec Plus system.

INTRODUZIONE

Ciascuna parte dell'occhio può essere infettata da batteri, funghi, parassiti o virus. La superficie oculare esterna acquista una flora microbica alla nascita ed alcuni dei commensali possono diventare popolazione microbica residente nella congiuntiva e nelle palpebre ed avere una possibilità di trasformarsi in patogeni. Oltre alla comunità dei germi residenti qualsiasi microorganismo dall'ambiente può formare una flora transitoria nell'occhio ed invadere i tessuti oculari (5). Ci sono molti "reports" in letteratura, da diversi continenti del mondo, che descrivono la prevalenza di batteri, funghi e parassiti patogeni in cornee ulcerate (1).

Fra gli organismi che causano celluliti orbitali ed ascessi figurano *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* non tipizzabile, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus* di gruppo A, *S. aureus* e anaerobi. Il trattamento comprende una terapia antimicrobica per via intravenosa e, in alcuni casi, drenaggio chirurgico (2).

L'eccessiva lacrimazione dell'occhio ("epiphora") è un problema comune nella pratica oftalmologica quotidiana e la sua valutazione diagnostica differenziale non sempre è cosa semplice (3).

Nelle endofalmiti i microrganismi più comuni che si osservano nella coltura da materiale proveniente dalla superficie oculare e dalla camera anteriore sono lo *S. aureus* e lo *S. epidermidis*. Il principale trattamento è l'antibiotico intravitreale usato insieme a corticosteroidi e ad antibiotici subcongiuntivali, locali e per via intravenosa (6).

La diagnosi microbiologica dell'endofalmitide si basa solitamente sulla microscopia e sulla coltura dei microrganismi su fluidi vitreali (incisione o biopsia) e/o proveniente dalla camera anteriore. Le lacrime prodotte da questi campioni possono essere esaminate immediatamente dopo colorazione con di Gram o Giemsa per patogeni infettivi. Si può utilizzare la colorazione "Calcofluor White" quando si sospetta un'etiologia fungina. Sebbene l'esame delle lacrime sia una

metodica rapida, la sua sensibilità è bassa. Recentemente è stata pubblicata una delle più ampie serie di endofalmiti fungine del mondo (5).

Appare, così, evidente l'importanza fondamentale che assume la precisa identificazione dell'agente eziologico per poter elaborare una corretta diagnosi quando si trattano le forme infettive oculari, soprattutto se presentano una prognosi severa. Questa corretta identificazione rappresenta il presupposto indispensabile per poter trattare il paziente con un'opportuna terapia mirata; l'esame culturale presenta difficoltà maggiori nel caso in cui il paziente sia stato sottoposto in precedenza a terapia antibiotica non mirata o guidata da un antibiogramma. Scopo di questo studio è stato quello di evidenziare l'importanza della coltura da tampone oculare nelle patologie gravi.

MATERIALI E METODI

Sono stati arruolati 292 pazienti afferiti al nostro Pronto Soccorso e successivamente ricoverati presso il nostro ospedale con patologie gravi, quali endofalmiti, ascessi, celluliti orbitarie, ulcere gravi, dacrioflemmoni (24 mesi di osservazione).

Il nostro è un ospedale monospécialistico di riferimento per l'oftalmologia e per questa ragione arrivano campioni da reparti oftalmologici di diversi ospedali della regione. Spesso ci troviamo di fronte a pazienti già trattati con antibiotici; infatti, il 98% dei 292 pazienti arruolati era già stato precedentemente sottoposto ad antibiotico-terapia locale e, spesso, sistemica.

Abbiamo, pertanto, valutato 292 colture oculari. I campioni di vitreo e acqueo sono stati trasportati nel settore di microbiologia con terreno Portagerm (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) e, alla stregua dei tamponi trasportati con terreno di Stuart (Kima, Padova, Italia), sono stati seminati su agar Cioccolato (Becton Dickinson and Company, Belgio), in condizione di aerobiosi alla temperatura di 37°C per due giorni, e su agar *Haemophilus* per l'identificazione di

Corresponding author: Giuseppe Grandi

Via Juvarra 19; 10122 Torino

Tel.: 0039 11 5666031 - Fax: 0039 11 5666186

E-mail: grandi.giuseppe@libero.it

Haemophilus spp. (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), in condizione di capnofilia alla temperatura di 37°C per due giorni, e contestualmente inoculati con volumi tra lo 0.1 e lo 0.3 ml in flaconi (Aerobic Ped Plus e Mycosis) per emocolture (Becton Dickinson and Company). Infine incubati in apparecchiatura Bactec 9050 con protocollo 5 giorni.

I Bactec Plus sono sistemi per l'emocoltura da noi opportunamente adattati per la ricerca di batteri e funghi. In particolare, avendo cura di lavorare sotto cappa e accanto al bunsen acceso, con una pinzetta sterile si apre la guarnizione metallica attorno al tappo e, mentre un operatore apre e flamba il flacone attorno alla fiamma, un secondo operatore inocula il brodo.

L'inoculo viene fatto con il campione di vitreo e acqueo o con un tampone che ha raccolto eventuale materiale purulento, sudato, frustoli.

RISULTATI

75 (25%) colture erano negative. I patogeni frequentemente isolati erano: 60 CNS (20%), 36 *S. aureus* (12%), 32 ceppi appartenenti alla famiglia delle *Pseudomonadaceae* (10.9%), 27 *S. pneumoniae* (9%), 24 streptococchi alfa emolitici (8.2%), 16 Miceti e Lieviti (5.4%). Tra le colture di vitreo: 18 (54.5%) erano positive e 15 (45.5%) negative; questa percentuale di positività è da ritenersi particolarmente alta ed è stato possibile ottenerla grazie all'utilizzo del sistema Bactec Plus adattato. Percentuali sovrapponibili sono state osservate per i campioni di acqueo. Di tutti i campioni positivi: il 38.2% era riferito ad endoftalmiti, con prevalenza di CNS (32.5%) e *S. aureus* (22.9%), mentre il 27.6% ad ascessi, con prevalenza di microorganismi appartenenti alla famiglia delle *Pseudomonadaceae* (53.3%), CNS (23.3%) e *S. pneumoniae* (16.7%). I dati sono riportati in Tabella 1.

CONCLUSIONI

La coltura da tampone oculare nelle patologie severe, da vitreo o acqueo si rivela fondamentale per un corretto approccio terapeutico nonché utile sotto il profilo epidemiologico e statistico.

È, inoltre, da evidenziare che le percentuali di positività ottenute sono state particolarmente alte grazie all'utilizzo del sistema Bactec Plus adattato alla diagnostica microbiologica oculare per le infezioni gravi che ha, dunque, prodotto ottimi risultati. Infatti, i flaconi, contenendo resine, a scambio cationico e non ionico che in parte neutralizzano la presenza di eventuali sostanze antibiotiche inibenti la crescita batterica consentono di raggiungere valori percentuali di positività superiori al 75% per i casi gravi a livello clinico; mentre con il solo esame colturale su agar Cioccolato ed agar per l'identificazione di *Haemophilus*, nonché in brodo Cuore Cervello, si raggiungono generalmente valori percentuali di positività ben inferiori al 50%.

BIBLIOGRAFIA

- Gopinathan U, Sharma S, Garg P, Rao GN. Review of epidemiological features, microbiological diagnosis and treatment outcome of microbial keratitis: Experience of over a decade. *Indian J Ophthalmol* 2009; 57: 273-9.
- Jack S Wu. Orbital Cellulitis and Abscess. *West J Emerg Med*. 2010; 11 (4): 398-9.
- Meyer-Rüsenberg HW, Emmerich KH. Modern Lacrimal Duct Surgery From the Ophthalmological Perspective. *Dtsch Arztebl Int*. 2010; 107 (14): 254-8.
- Nuzzi R, Tonini L, Consolandi G, Pollino C, Giardini F. Endoftalmiti: clinica, indagini di laboratorio e terapia. *Minerva Oftalmologia* 2009; 15 (3).
- Sharma S. Ocular infections: Research in India. *Indian J Med Microbiol* 2010; 28: 91-4.
- Wade PD, Khan SS, Khan MD. Endophthalmitis: Magnitude, treatment and visual outcome in northwest frontier province of Pakistan. *Ann Afr Med* 2009; 8: 19-24.

INFEZIONI A PROGNOSI SEVERA – ESITI CULTURALI

MICROORGANISMO	N° CASI	ULCERE	ENDOFTALMITI	VITREO	ACQUEO	ASCESSI	ALTRO
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27	6	9	-	-	10	2
<i>Streptococco alfa-emolitico</i>	24	3	7	5	1	8	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28	7	9	-	-	12	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	36	2	19	3	2	8	2
<i>Stafilococco coagulasi negativo</i>	60	11	27	5	3	14	1
<i>Moraxella catarrhalis</i>	3	2	-	-	-	-	1
<i>Streptococco beta-emolitico</i>	2	1	1	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	4	1	1	1	-	-	1
<i>Klebsiella ozaenae</i>	3	-	2	-	-	1	-
<i>Escherichia coli</i>	3	1	2	-	-	-	-
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	-	-	-	-	-	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	1	-	-	-	1	-
<i>Pseudomonas putida</i>	1	1	-	-	-	-	-
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	-	-	-	-	1	-
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Peptostreptococcus tetradius</i>	2	1	-	1	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	1	-	-	-	-	1	-
<i>Candida albicans</i>	5	-	4	1	-	-	-
<i>Candida krusei</i>	2	-	-	-	-	1	1
<i>Candida parapsilosis</i>	1	-	-	-	-	1	-
<i>Fusarium</i>	1	1	-	-	-	-	-
<i>Alternaria</i>	2	1	1	-	-	-	-
<i>Sporotrichum</i>	1	-	-	-	-	1	-
<i>Scedosporium</i>	1	-	-	-	-	1	-
<i>Absidia</i>	1	-	1	-	-	-	-
<i>Paecilomyces</i>	1	-	-	-	1	-	-
<i>Aspergillus versicolor</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Acanthamoeba</i>	1	-	-	-	1	-	-
NEGATIVI CULTURALI	75						