

Epidemiological characteristics of microbiological results on patients with infectious corneal ulcers: a 13-year survey in Paraguay.

LAS ÚLCERAS DE CÓRNEA DE ORIGEN BACTERIANO EN LA CATEDRA DE OFTALMOLOGÍA PERIODO 1988- 2003.

Cibils D², F Laspina F¹, Samudio M¹, Albornó RM¹, Fariña N¹, Sanabria R¹, Balmaceda MA¹, Ruiz A¹, Miño de Kaspar H³, ¹Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (UNA). ²Cátedra de Oftalmología, Hospital de Clínicas (UNA). ³Augenklinik der Universitat Munchen (Alemania).

RESUMEN

La úlcera de córnea, después de la catarata, es la etiología más importante de ceguera e invalidez visual en muchos países en vías de desarrollo en Asia, África, y el Medio Oriente. A pesar de que la úlcera de córnea se considera como una causa mundial de pérdida visual unilateral, hay sorprendentemente pocos estudios que evalúan los factores etiológicos que predisponen a una población a la infección de córnea. La mayoría de las infecciones oculares son causadas por bacterias o virus, y bajo condiciones adecuadas también los hongos pueden ser agentes causales. El diagnóstico diferencial entre una infección micótica y bacteriana es un pre-requisito para un tratamiento efectivo. Este trabajo describe las características microbiológicas y epidemiológicas de 737 pacientes con úlceras de córnea (rango de edad: 0-89 años), provenientes de la Sala de Ojos del Hospital de Clínicas. El material obtenido por raspado de córnea se utilizó para examen en fresco (KOH al 10%), coloración de Gram., inoculación en medios selectivos para bacterias y hongos. Los cultivos fueron positivos en 580 pacientes (78%), distribuidos en 54% de origen bacteriano, 45% micótico, y 1% micótico y bacteriano. Los *Estafilococos* coagulasa negativa representaron el 25% de las bacterias aisladas; *Staphylococcus aureus* 25%, *Pseudomonas aeruginosa* 14% y *Streptococcus pneumoniae* 13%, entre las más frecuentes. *Acremonium spp* constituyó el 40% de todos los hongos identificados seguido de *Fusarium spp* 15%. La infección mixta más frecuente fue con los *estafilococos* coagulasa negativa (31%) y *S. aureus* (24%). Más del 40% de los pacientes tuvieron antecedentes de traumatismo y más del 80% ya había empezado tratamiento empírico antes del examen inicial. El 80% de los pacientes, consultaron y tuvieron un diagnóstico dentro del mes de evolución de la lesión. El rol exacto de los *estafilococos* coagulasa negativa como agente etiológico no se puede precisar debido a que constituyen flora normal del ojo y en el 90% de los casos se aisló de medio de enriquecimiento. El rápido diagnóstico y tratamiento de las úlceras de corneas es de vital importancia para evitar la perforación del globo ocular, lo cual llevaría a la pérdida de la visión a pesar de los esfuerzos terapéuticos.

Palabras claves. Úlcera corneal, Epidemiología, Etiología

EPIDEMIOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CORNEAL ULCERATION IN THE PERIOD 1988-2001

ABSTRACT

Corneal ulcer, after cataract, is the most important cause of blindness and visual disability in many of the developing countries in Asia, Africa, and the Middle East. Even though corneal ulcer is considered to be a

worldwide cause of monocular visual loss, there are surprisingly few studies evaluating the aetiological factors predisposing a population to corneal infection. Bacteria and viruses cause most of the eye infections, but under certain circumstances fungi may also be the aetiological agents. The differential diagnosis between a fungal and bacterial infection is a pre-requisite for an effective treatment. This study describes the epidemiological and microbiological characteristics of 737 patients with corneal ulcers (age range: 0-89 years old) seen at the Sala de Ojos of Hospital de Clínicas. Material obtained by scraping the ulcer was used for direct microscopy examination with 10% KOH, Gram stain, inoculation into selective medium for fungi and bacteria. Cultures were positive in 580 patients (78%) and out of these positive cultures 54% was bacterial, 45% fungal, and 1% fungal and bacterial. Coagulase negative staphylococcus represented the 25% of the 430 bacteria isolated, *Staphylococcus aureus* 23%, *Pseudomonas aeruginosa* 14% and *Streptococcus pneumoniae* 13%, among the most frequent. *Acremonium spp* represented the 40% of all identified fungi followed by *Fusarium spp* (15%). The most frequent bacteria plus fungus mixture was with coagulase negative staphylococcus 31% and *S. aureus* 24%. Over 40% of the patients had a history of previous trauma and over 60% already started a treatment before their initial medical examination. 80% of the patients consulted and had a diagnosis within the month of the onset of the symptoms. The exact role of the coagulase negative staphylococcus as the aetiological agent can not be since they are part of the normal flora of the eye and in 90% of the cases they were isolated from enriched medium. The early diagnosis and treatment of the corneal ulcers is of vital importance in order to avoid the perforation of the ocular globe, which would lead to a visual loss despite therapeutic efforts.

Key words. Corneal Ulcer, Epidemiology, Aetiology

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente la ceguera corneal en los países en desarrollo se ha atribuido a trachoma, xeroftalmía, sarampión, oftalmía neonatal y lepra. La importancia del trauma corneal superficial en agricultores, que rápidamente lleva a la ulceración de la cornea y pérdida visual, ha sido frecuentemente subestimada como una causa mundial de ceguera unilateral. Sin embargo, Thylefords estima que hasta el 5% de todas las cegueras están directamente relacionadas al trauma ocular y a su posterior infección.

Estudios realizados a nivel poblacional en Africa y Asia indican (1,2,3,4,5,6) que la úlcera de córnea es la causa más importante de ceguera unilateral en los países en vías de desarrollo. En Nepal se encontró que la úlcera de córnea, después de la catarata, es la etiología más importante de ceguera e invalidez visual representando el 7,9% de todas las cegueras. Estudios en niños en Africa han mostrado que aproximadamente el 70% de todos los problemas visuales son causadas por opacificación corneal (7).

Considerando la importancia de la úlcera de córnea como una causa mundial de pérdida visual unilateral, hay sorprendentemente pocos estudios que evalúan los factores etiológicos que predisponen a una población a la infección de córnea (8,9,10).

Varios investigadores han reportado la prevalencia de patógenos bacterianos y fúngicos aislados de la úlcera de córnea (10,11,12,13,14,15) pero no existe un estudio poblacional que demuestre la verdadera incidencia de keratitis microbiana en un país en vías de desarrollo. De importancia es un informe preliminar que reporta que el 44% de las úlceras de córnea en India son causadas por hongos (16). Este alto predominio de patógenos fúngicos en India del Sur es significativamente mayor que la encontrada en estudios similares en Nepal (17%), (8), Bangladesh (36%), (14) y Florida sur (35%) (17). La severidad de estas infecciones y la pobre respuesta al tratamiento de la mayoría de las úlceras micóticas significa que estos ojos invariablemente llegarán a la ceguera.

El patrón epidemiológico de las úlceras de córnea varía significativamente de un país a otro, e incluso de una región a otra. En un estudio preliminar en 43 pacientes se detectó en Asunción, Paraguay que aproximadamente el 60% de los casos de úlceras corneales remitidas al laboratorio de Microbiología del IICS eran causadas por hongos saprófitos oportunistas (18). La patogenicidad de éstos, está dada por el microorganismo invasor y el estado de las defensas del huésped, traumatismo ocular especialmente en agricultores, uso de medicación tópica conteniendo corticoides, lo que crea un ambiente ideal para el desarrollo de queratomycosis.

Para desarrollar una estrategia comprensiva para el diagnóstico, tratamiento, y finalmente para la prevención de infecciones corneales, deben determinarse los factores etiológicos predisponentes y los organismos patógenos responsables de la úlcera corneal. Las respuestas a estas preguntas son cruciales para

que las medidas terapéuticas a ser instituidas sean las apropiadas y si un programa de prevención se está considerando.

El propósito de este estudio fue evaluar todas las úlceras de córnea consideradas infecciosas vistas en la Sala de Ojos del Hospital de Clínicas de la Universidad de Asunción durante un periodo de 14 años. Se documentaron los factores predisponentes para desarrollar una úlcera de cornea y se identificaron los organismos específicos responsables de la infección.

MATERIALES Y MÉTODO

Pacientes y lugar del estudio. Fueron incluidos en este estudio 737 pacientes (edad promedio: 38 años, rango 0-89 años) con úlceras de córnea consideradas infecciosas, que consultaron en la Sala de Ojos del Hospital de Clínicas de la Universidad Nacional de Asunción, desde marzo de 1988 a julio de 2003. La Sala de Ojos del Hospital de Clínicas es un centro de referencia importante y parte del Hospital escuela de la Universidad de Asunción. Una vez que se realizó el diagnóstico clínico y microbiológico inicial de la úlcera de córnea, los pacientes fueron examinados consecutivamente. La úlcera se definió como una pérdida del epitelio corneal con infiltración estromal subyacente y supuración asociada con señales de inflamación con o sin hipopion. Las úlceras virales típicas y las úlceras cicatrizadas se excluyeron como también las úlceras de Mooren, úlceras marginales, keratitis intersticiales, úlceras estériles neurotróficas, y cualquier úlcera asociada con cuadros autoinmunes. En un cuestionario se registró los datos sociodemográficos de cada paciente, así como la información clínica incluyendo la duración de los síntomas, tratamiento previo a la consulta inicial, condiciones oculares predisponentes, y factores de riesgos asociados.

Toma de muestra: Las muestras fueron tomadas por oftalmólogos entrenados, con una espátula de kimura u otro esclarificador oftálmico estéril.

Examen laboratorial: El material obtenido por raspado de la córnea se utilizó para a) examen en fresco (KOH al 10%), b) coloración de Gram, c) cultivo para aislamiento de hongos en medios selectivos (sabouraud + cloramfenicol al 1%, biggy agar) a una temperatura de incubación de 28°C durante 15 días, d) cultivo para aislamiento de bacterias en agar chocolate al 10% en atmósfera de CO₂ y caldo tioglicolato a una temperatura de 37°C durante 5 días. La identificación de los hongos se realizó por microcultivo en agar sabouraud + cloramfenicol al 1 %, y la de bacterias por los métodos microbiológicos convencionales. La determinación de la sensibilidad se realizó por el método de difusión de Kirby Bauer y la interpretación, de acuerdo a las normas estandarizadas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

RESULTADOS

Características epidemiológicas. La población estudiada se distribuyó en cinco periodos y su distribución se muestra en la Tabla 1. El mayor número de casos se observó en el periodo 1991-1993 y en el periodo 2000-2003

Del total de 737 pacientes, 485 (65.8%) fueron del sexo masculino y 252 (34.2) del sexo femenino (Figura 1). La distribución por grupo etario fue homogénea, desde 0-69 años. El menor porcentaje se observó en el rango de edad entre 70-79 años. De importancia es el hecho de que el 24,8% de los pacientes eran menores de 19 años (Tabla 2). La mitad (50,3%) de la población femenina eran ama de casa y 73,3% procedentes de zonas urbanas. El 45,4% de los varones eran agricultores y 50,3% procedentes de áreas rurales.

El 82,9% de los pacientes fue examinado y tratado dentro del mes de aparecer los síntomas (Tabla 3). En las Tablas 4 y 5 se exponen los antecedentes de traumatismo y tratamiento antes de la consulta inicial. Antecedente de traumatismo fue registrado en el 48,8%, siendo el agente traumático más frecuente productos de origen vegetal. Un 82,3% de los pacientes ya había comenzado un tratamiento empírico antes de la consulta inicial, siendo una mezcla de antibióticos y corticoides las más utilizada (43,4%). Uso de antibiotico también fue referido por un número importante (38%) de pacientes.

Resultados microbiológicos. El perfil del resultado microbiológico en los cinco periodo se muestra en la Figura 2.

Los cultivos fueron positivos en 580 pacientes (78%) y de estos cultivos positivos el 54% fue de origen bacteriano, 45% micótico y 1% micótico y bacteriano.

De las 314 bacterias aisladas, el 25% constituyeron los estafilococos coagulasa negativa, 24% *Staphylococcus aureus*, 11% *Pseudomonas aeruginosa* y 8% *Streptococcus pneumoniae*.

Se aislaron un total de 266 hongos, de los cuales el 31% fue *Acremonium spp*, seguido de *Fusarium spp* (15%),

La infección mixta (hongo y bacteria) más frecuente fue con los estafilococos coagulasa negativa (39,5%) y *S. aureus* (27%).

DISCUSIÓN

La prevalencia de problemas visuales debida a opacidad de la córnea varía según el lugar geográfico, y en áreas donde trachoma, oncocercosis, lepra y otras enfermedades oculares de origen infeccioso, puede llegar hasta 3%. En nuestro país no se cuenta con datos estadísticos que documente la prevalencia de ceguera debida a traumatismo de córnea, de ahí la importancia de realizar este estudio.

En nuestro estudio, en un periodo de 14 años hemos recibido para su diagnóstico microbiológico 652 pacientes con úlcera de córnea, con una mayor proporción del sexo masculino (65%), lo cual coincide con otros estudios donde encontraron que los varones en su sexta década de vida están particularmente bajo riesgo (16), lo cual no concuerda con nuestros resultados pues encontramos una distribución homogénea en los diversos grupos etarios, llamando incluso la atención el hecho de que 24,8% de los pacientes eran menores de 19 años. La literatura reporta que ambos sexos tienden a desarrollar úlceras de córnea en la mediana edad cuando probablemente son más activos físicamente y a un riesgo más alto para desarrollar lesión en la córnea. Lo llamativo en nuestro estudio fue el gran porcentaje de niños con úlcera debida, según refirieron los padres, a traumatismos.

Se aislaron microorganismos de 580 (78%) de las 737 úlceras de córnea que fueron cultivadas, proporción de aislamiento comparable al 80% informada en Nepal por Upadhyay y col (8), o la tasa de recuperación de 81.7% informado por Dunlop y col (14) en Bangladesh y superior al 68,4% obtenido por Srinivasan y col (22). El 48% de todas las úlceras de córnea con cultivos positivos fueron de origen micótico, resultado similar al trabajo realizado en India, pero mayor que los estudios de Nepal (17%), Bangladesh (36%), y Florida del Sur (35%), pero menor a nuestro estudio preliminar de 60% reportado en el año 1991 (18); lo cual se explica por el aumento de la población estudiada.

Acremonium spp. fue el hongo más frecuentemente aislado, seguido de *Fusarium spp*, siendo estos hongos oportunistas frecuentemente reportados en la literatura como agente causal de úlceras de córnea. La infección mixta más frecuente fue con los estafilococos coagulasa negativa y el *S. aureus*. Las bacterias que en mayor número fueron aisladas (en ausencia de hongos) encontramos al Estafilococos coagulasa negativa (25%), *Staphylococcus aureus* (24%), *Pseudomonas aeruginosa* (11%) y *Streptococcus pneumoniae* (8%). El rol exacto de los estafilococos coagulasa negativa como agente etiológico no se puede precisar debido a que constituyen flora normal del ojo y en el 90% de los casos se aisló de medio de enriquecimiento.

El 82% de los pacientes, consultaron y tuvieron un diagnóstico dentro del mes de evolución de la lesión, lo cual es de vital importancia para evitar la perforación del globo ocular, que llevaría a la pérdida de la visión.

La mayoría de los pacientes del sexo masculino fueron obreros agrícolas (45%), albañiles (11%), o jornaleros (4%), un perfil de ocupación similar a Nepal pero en marcado contraste con Ghana dónde sólo 16,1% de los pacientes estaban envueltos en actividades agrícolas. Los pacientes que llegan a la Sala de Ojos del Hospital de Clínicas de la UNA en su mayor parte, se dedican a la agricultura, a la construcción, o al transporte físico de materiales pesados.

Es de interés señalar que solo el 24,6% de los pacientes en este estudio, consultaron dentro de la primera semana de aparecer los síntomas, lo cual no coincide con los resultados reportados de Nepal dónde se vieron que el 43,7% de los pacientes consultó en la primera semana de su enfermedad. En este estudio al igual que el de Nepal, al 17,1% le tomó mucho más de un mes para llegar a un centro asistencial. La mayoría de los pacientes en Paraguay no tiene acceso, al cuidado relativamente sofisticado de los ojos, pero aún así el 83% de los pacientes consultaron y recibieron tratamiento dentro del mes de aparecer los síntomas.

En general, la mayoría de las medicaciones oftálmicas en Paraguay se venden sin prescripción médica. Por consiguiente, no es sorprendente que el 82% de los pacientes ya habían empezado una medicación tópica empírica antes de su examen inicial en el hospital, siendo una combinación de

antibióticos tópicos y corticoides las más utilizadas. También es de interés mencionar que muchos pacientes refirieron algún tipo de tratamiento tópico tradicional o herbario. Los remedios caseros más comunes fueron la aplicación de té de manzanilla y miel de abeja. La contaminación potencial de las medicaciones tradicionales con hongos o bacterias propone un problema real de posibles efectos perjudiciales en el desarrollo y progresión de las úlceras de córnea, con la consiguiente pérdida de la visión, a pesar de los esfuerzos terapéuticos.

El 44% de los pacientes tenía una historia de trauma corneal causada por una variedad de objetos. Thylefors (21) ha observado que a menudo en los países en vías de desarrollo el trauma corneal superficial durante el trabajo agrícola lleva a la úlcera, progresando rápidamente a la pérdida de la visión. Aunque la cantidad de ceguera en el mundo causada por traumatismo no se conoce con precisión, Thylefors estima que hasta un 5% de todas las cegueras o por lo menos medio millón de individuos en el mundo ha perdido su visión como consecuencia del trauma. Un considerable número de los pacientes atribuyó como traumatismo a materiales de origen vegetal. Obviamente cualquier programa de prevención debe dirigirse a esta alta proporción de lesión ocular asociada con la úlcera de córnea.

Tabla 1. Distribución según sexo en los periodos de estudio de 737 pacientes con úlcera de córnea

<i>Periodo</i>	<i>M</i>	<i>F</i>	<i>Total</i>
1988	21 (72,4%)	8 (27,6%)	29 (4,4%)
1989-1991	110 (65%)	59 (35%)	169 (25,8%)
1992-1994	79 (60%)	52 (40%)	131 (20%)
1995-1997	88 (68,8%)	40 (31,2%)	128 (19,5%)
1998-2000	98 (65%)	52 (35 %)	150 (22,9%)
2001	35 (73%)	13 (27%)	48 (7,3%)
Total	431 (65,8%)	224 (34,2%)	737

El 65,8% de los pacientes eran del sexo masculino, oscilando entre 60%-73% en los diferentes periodos. Entre 1989-1991 se observó el mayor número de casos de úlcera.

Tabla 2. Distribución por grupo etario y sexo de 575 pacientes con úlcera de córnea

Grupo etario	M	F	Total
0-9	45 (%)	34 (%)	79 (%)
10-19	41(%)	22 (%)	62 (%)
20-29	55 (%)	20 (%)	75 (%)
30-39	56 (%)	19 (%)	75 (%)
40-49	56 (%)	22 (%)	77 (%)
50-59	48 (%)	22 (%)	69 (%)
60-69	46 (%)	24 (%)	69 (%)
70-79	29 (%)	23 (%)	52 (%)
>80	5 (%)	8 (%)	13 (%)
Total	381	194	575

Tabla 3. Tiempo de evolución de los 582 pacientes con úlcera de córnea

Evolución (días)	N	Frec. relativa	Frec acumulada
0-7	143	24,6	24,6
8-15	229	39,3	63,9
16-23	52	8,9	72,8
24-31	59	10,1	82,9
>31	99	17,1	100

Tabla 4. Antecedentes de traumatismo y tratamiento previo en pacientes con úlcera de córnea

Periodo	Traumatismo n=523	Tratamiento previo n=547
1988-1990	63 (75%)	79 (92,9%)
1991-1993	55 (44%)	110 (86,6)
1994-1996	49 (47%)	88 (82,2%)
1997-1999	43 (34%)	103 (78%)
2000-2001	47 (50,5%)	73 (76%)
Total	255 (48,8%)	453 (82,3%)

Tabla 5. Tipo de material traumático y tratamiento previo en pacientes con úlcera de córnea

Tipo de material traumático		
Vegetal	117	52
Animal	10	4
Metal	20	8,9
Otros	78	34,7
Tipo de tratamiento previo		
ATB	112	38
Corticoides	17	5,8
ATB + Corticoides	127	43,4
Casero	3	1,2
Antifúngico	6	1,9
Antiviral	2	0,4
Otros	26	9,3
Total	26	9,3

Tabla 6. Distribución del n° de aislados de hongos de 252 úlceras de córnea

Nombre	N°	%
Acremonium sp	79*	31
Fusarium sp	38	15,1
Aspergillus fumigatus	23*	8,7
Curvularia	15	6
Aspergillus sp	9	3,6
Cladosporium	7	2,8
Aspergillus flavus	4	1,6
Aspergillus niger	1	0,4
Penicillium	1	0,4
Alternaria	1	0,4
Pseudoallescheria boydii	3	1,2
Dreschlera sp	1	0,4
Candida sp	3	1,2
Colletotrichum dematium	1	0,4
Cylindrocarpon lichenicola	1	0,4
Diplodia	1	0,4
FPCN	48	19
HFNI	16	6,3

HFNI: Hongo filamentoso no identificado, FPCN: Fresco positivo pero cultivo negativo, un paciente presentó combinación de los dos hongos.

Tabla 7. Distribución del n° de bacterias de 385 pacientes con úlcera de córnea

Nombre de la Bacteria	N°	%
<i>Estafilococo coagulasa negativa</i>	108	25,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	102	23,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46	10,7
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	36	8,3
<i>Corynebacterium sp</i>	21	4,9
<i>BGNMF</i>	19	4,4
<i>Serratia marcescens</i>	15	3,5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	14	3,3
<i>Bacillus sp</i>	13	3
<i>Acinetobacter sp</i>	12	2,8
<i>Streptococcus beta hemolíticos</i>	6	1,4
<i>Enterococcus sp</i>	5	1,2
<i>Burkholderia cepacia</i>	4	0,9
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	0,7

otros	26	6
Total de bacterias aisladas	430	

Otros: Streptococcus viridans, Klebsiella pneumoniae, Moraxella nonliquefasciens, Proteus mirabilis, Neisseria gonorrhoeae, Escherichia coli, Haemophilus sp
 BGNNF: Bacilos Gram negativos no fermentador

REFERENCIAS

1. Chirambo MC, Tielsch JM, West KP, Katz J. Blindness and visual impairment in southern Malawi. Bull WHO 1986;**64**:567-572.
2. Chirambo MC. Causes of blindness among students in blind school institutions in a developing country. Br J Ophthalmol 1976;**60**:665-668.
3. Rapoza PA, West SK, Katala SJ, Taylor HR. Prevalence and causes of vision loss in central Tanzania. Int Ophthalmol 1991;**15**:123-129.
4. Brilliant LB, Pokhrel RP, Grasset NC, Lepkowski JM, Kolstad A, Hawks W, et al. Epidemiology of blindness in Nepal. Bull WHO 1985;**63**:375-386.
5. Khan MU, Hague MR, Khan MR. Prevalence and causes of blindness in rural Bangladesh. Ind J Med Res 1985;**82**:257-262.
6. 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.
7. Thylefors B, Negrel AD, Pararaja Segaram R, Dadzie KY. Available data on blindness (update 1994). Ophthalmic Epidemiol 1995;**2**:5-39.
8. Upadhyay MP, Karmacharya PC, Koirala S, Tuladhar N, Bryan LE, Smolin G, et al. Epidemiologic characteristics, predisposing factors, and etiologic diagnosis of corneal ulceration in Nepal. Am J Ophthalmol 1991;**111**:92-99.
9. Di Bisceglie AM, Carmichael TR. Factors predisposing to central corneal ulceration in a developing population. S Afr Med J 1987;**71**:769-770.
10. Ormerod LD. Causation and management of microbial keratitis in subtropical Africa. Ophthalmology 1987;**94**:1662-1668.
11. Katz NN, Wadud SA, Ayazuddin M. Corneal ulcer disease in Bangladesh. Ann Ophthalmol 1983;**15**:834-837.
12. Mahajan VM. Ulcerative keratitis: an analysis of laboratory data in 674 cases. J Ocul Ther Surg 1985;**4**:138-141.
13. Carmichael TR, Wolpert M, Koornhob HJ. Corneal ulceration at an urban African hospital. Br J Ophthalmol 1985;**69**:920-926.
14. Dunlop AA, Wright ED, Howlader SA, Nazrul I, Husain R, McClellan K, et al. Suppurative corneal ulceration in Bangladesh: a study of 142 cases examining the microbiological diagnosis, clinical and epidemiological features of bacterial and fungal keratitis. Aust NZ J Ophthalmol 1994;**22**:105-110.
15. Hagan M, Wright E, Newman M, Dolin P, Johnson G. Causes of suppurative keratitis in Ghana. Br J Ophthalmol 1995;**79**:1024-1028.
16. Gonzales CA, Srinivasan M, Whitcher JP, Smolin G. Incidence of corneal ulceration in Madurai District, South India. Ophthalmic Epidemiol 1996;**3**:159-166.
17. Liesegang TJ, Forster RK. Spectrum of microbial keratitis in south Florida. Am J Ophthalmol 1980;**90**:38-47.
18. Miño de Kaspar H, G. Zoulek, ME Paredes, R Albornó, D Medina, M Centurión, M Ortiz and F Agüero. Mycotic keratitis in Paraguay. Mycoses 34, 251-54 (1991)

19. Smith GT, Taylor HR. Epidemiology of corneal blindness in developing countries. *Refract Corneal Surg* 1991;**7**:436-439.
20. Courtright P, Lewallen S, Kanjaloti S, Dighton D. Traditional eye medicine use among patients with corneal disease in rural Malawi. *Br J Ophthalmol* 1994;**78**:810-812.
21. Thylefors B. Epidemiological patterns of ocular trauma. *Aust NZ J Ophthalmol* 1992;**20**:95-98.
22. Srinivasan M, Gonzalez C, George C, Cevallos V, Mascarenhas JM, Asokan B, Wilkins J, Smolin G, Whitcher JP. Epidemiology and aetiological diagnosis of corneal ulceration in Madurai, south India. *Br J Ophthalmol*, 1997; 81:965-971.