



## Queratitis por *Lasiodiplodia theobromae*: comunicación de un caso y revisión de la literatura

Margarita Samudio, Florentina Laspina, Norma Fariña, Alicia Franco,  
Herminia Mino de Kaspar y Gustavo Giusiano

Universidad Nacional de  
Asunción, Paraguay.

Instituto de Investigaciones en  
Ciencias de la Salud.  
Laboratorio de Microbiología (MS,  
FL, NF).

Banco de Ojos, "Don Fernando Oca  
del Valle" (AF).

Clinical Ophthalmology der  
Universität München (Munich,  
Alemania) (HMK).

Universidad Nacional del  
Nordeste, Argentina.

Instituto de Medicina Regional.  
Departamento de Micología (GG).

Los autores declaran no tener  
conflictos de interés.

Financiamiento: Fundación  
Georg\_Hannelore Zimmermann,  
Munich, Alemania.

Recibido: 10 de abril de 2014

Aceptado: 30 de octubre de 2014

Correspondencia a:

Margarita Samudio  
microbiologia@iiacs.una.py

### Keratitis by *Lasiodiplodia theobromae*: a case report and literature review

We report a case of mycotic keratitis caused by *Lasiodiplodia theobromae* in a 60-year-old man with a history of ocular trauma with vegetable matter. Ophthalmological assessment with slit-lamp and microbiological evaluation of the corneal ulcer by conventional microbiological techniques were performed. Mycology study of the corneal scraping showed the presence of fungal filaments and the isolate was identified as *Lasiodiplodia theobromae*. Patient was treated with natamycin 5% and fluconazole 0.2% for 37 days. The infection was controlled but the corneal scars required a cornea transplant. This is the first case of keratitis by *Lasiodiplodia theobromae* in Paraguay. Difficulties in the management of these cases, which often requires surgical procedures, are discussed.

**Key words:** Mycotic keratitis. *Lasiodiplodia theobromae*. Paraguay.

**Palabras clave:** Queratitis micótica, *Lasiodiplodia theobromae*, Paraguay.

### Introducción

La queratitis infecciosa constituye una de las principales causas de ceguera no reversible en el mundo<sup>1</sup>. Dentro de las etiologías, las de origen fúngico se presentan desde 6 a 60%, dependiendo principalmente de la localización geográfica<sup>2-5</sup>. Se considera una infección oportunista asociada principalmente a trauma ocular con materiales vegetales. Los hongos filamentosos, entre ellos, *Fusarium* spp. y *Aspergillus* spp. son los agentes etiológicos de mayor frecuencia<sup>2-7</sup>. En cambio, en países desarrollados la causa principal se relaciona al uso de lentes de contacto, siendo más frecuente la infección por levaduras, como *Candida* spp<sup>6</sup>.

La queratitis fúngica es una entidad de peor pronóstico que una infección bacteriana y requiere de un diagnóstico precoz para evitar consecuencias irreversibles<sup>6,7</sup>.

### Caso clínico

Paciente agricultor de 60 años de edad, con antecedente de trauma ocular con material vegetal, consultó por una disminución brusca de la agudeza visual de 48 h de evolución, acompañado de dolor ocular moderado y fotofobia. Al examen oftalmológico, el ojo derecho presentaba una agudeza visual de 20/100 con el segmento anterior normal y el ojo izquierdo con una buena proyección luminosa en los cuatro cuadrantes y una úlcera central de 0,6 x 0,6 mm con bordes difusos. El paciente refirió como co-morbilidad una hipertensión arterial de dos años de evolución.

Se realizó el diagnóstico clínico de una queratitis infecciosa. Se tomó una muestra de la úlcera para estudio microbiológico e inmediatamente se inició tratamiento tópico con fluconazol 0,2% y moxifloxacina 0,5% cada 1 hora.

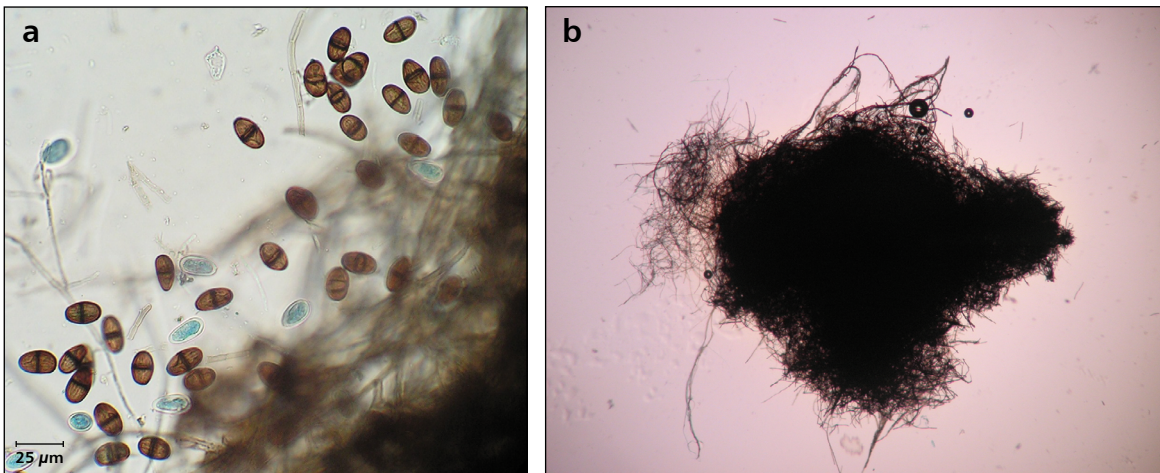
A las 24 h, en el primer control, el examen micológico directo reveló la presencia de elementos fúngicos, por lo que se agregó natamicina 5% en gotas cada una hora y se espació la administración de moxifloxacina tópica cada 3 h. Como el paciente refirió intenso dolor ocular, se prescribió colirio de atropina, tres veces al día.

En el segundo control, a las 48 h, se observó una hiperemia conjuntival moderada y tres lesiones satélites. En el tercer control, a las 72 h, el paciente refirió dolor ocular muy intenso por lo que se le prescribió nuevamente atropina en gotas. La queratitis y las lesiones satélites siguieron sin cambios, observándose colgajos corneales. Se continuó tratamiento con natamicina y fluconazol tópico y moxifloxacina en gotas, 4 veces al día.

Después de una semana, el paciente refirió menos dolor ocular y se observó ligera mejoría de la lesión, por lo que se suspendió la moxifloxacina. En los seis siguientes controles, las lesiones satélites ya no fueron visibles, hubo disminución de los colgajos corneales, el tamaño de la queratitis disminuyó a 0,5 x 0,5 mm y el paciente ya no refirió dolor.

Después de 41 días de tratamiento se observó ausencia de actividad en la lesión, sin embargo, persistió la cicatriz corneal.

El último control se realizó tres meses después del traumatismo ocular, momento en que se recomendó



**Figura 1.** Características de *Lasiodiplodia theobromae*: **a.** conidias jóvenes hialinas aceptadas y conidias maduras de 25  $\mu\text{m}$ , oscuras y septadas; **b.** picnidio entre porta y cubreobjetos (10X).

cirugía de cataratas y trasplante de córnea debido a la cicatrización de la córnea.

#### Estudio microbiológico

El material de raspado de la lesión corneal fue realizado por el médico oftalmólogo con espátula de Kimura y se envió para estudio microbiológico al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud.

En el examen en fresco con KOH 10% (40X) y en la tinción de Gram se observaron hifas septadas ramificadas.

Los cultivos bacterianos se realizaron en caldo tioglicolato a 35°C y en agar sangre y agar chocolate en atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% a igual temperatura; todos resultaron negativos.

Los cultivos para hongos se realizaron en agar Sabouraud y agar papa dextrosa y se incubaron a 28°C. A las 72 h de incubación se obtuvo desarrollo de colonias de un hongo filamentoso de aspecto flocoso, coloración inicialmente blanca y que se fue oscureciendo con el tiempo tomando finalmente una coloración gris oscura a los 7 días y con abundante micelio aéreo, sin difundir pigmento al medio de cultivo. La colonia fue derivada al Departamento de Micología del Instituto de Medicina Regional de la Universidad Nacional del Nordeste (Argentina) para su identificación. La micro-morfología reveló la presencia de picnidios color café oscuro a negro con paráfisis hialinas septadas. Conidios elipsoidales de (18-30) x (10-15)  $\mu\text{m}$ , inicialmente hialinos y no septados que al madurar se observaron de color marrón oscuro con un septo medio y con estrías longitudinales (Figura 1). El aislado fue identificado como *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., según la referencia bibliográfica de Alves y cols<sup>8</sup>.

No se determinó la sensibilidad antifúngica debido a que no se hace de rutina y no hay metodologías de

referencia que estandaricen el estudio de sensibilidad para este hongo.

#### Discusión

*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. es la especie tipo del género *Lasiodiplodia*. Es un ascomycete pleomórfico y plurívoro que tiene una amplia distribución geográfica pero con mayor prevalencia en áreas tropicales y subtropicales<sup>8</sup>.

Este agente ha sido reportado como agente causante de sinusitis, neumonía, onicomycosis, absceso glúteo, feohifomicosis subcutánea y de varias patologías oculares, entre ellas, más frecuentemente queratitis y escleritis<sup>9-11</sup>. Sin embargo, *L. theobromae* sigue siendo una causa excepcional de queratitis micótica con menos de 50 casos publicados en el mundo. En la Tabla 1 se presentan los casos de queratitis humana causada por *L. theobromae* reportados en la literatura médica<sup>11-28</sup>.

En 1967, Puttanna y cols.<sup>12</sup> informaron los dos primeros casos de queratitis por este hongo en la India. Posteriormente, surgieron otros reportes también en India; Sri Lanka, sur de los E.U.A y de otros países<sup>11,13-28</sup> que confirmaron la capacidad patogénica oportunista de este hongo para la córnea humana.

En Brasil, en un estudio retrospectivo de 32 años sobre queratitis en adultos mayores se mencionan dos casos causados por este hongo<sup>4</sup>. En Ghana, *L. theobromae* ha sido asociada a 5,5% de las queratitis micóticas y en India entre 0,3% y 3,9%<sup>21,30</sup>.

En países tropicales como Paraguay, la incidencia de queratitis por hongos es relativamente alta debido a las condiciones climáticas<sup>31</sup>; sin embargo, el caso que se presenta es la primera comunicación de una queratitis causada por *L. theobromae*.



Tabla 1. Resumen de publicaciones de queratitis por *Lasiodiplodia theobromae*

Referencia	n de casos	Lugar	Año	Diagnóstico	Resultado del tratamiento
Slomovic et al. <sup>11</sup>	1	Florida	1985	Panofthalmitis	No reportado
Puttanna et al. <sup>12</sup>	2	India	1967	Queratitis	No reportado
Laverde et al. <sup>13</sup>	1	Colombia	1973	Queratitis	No reportado
Valenton et al. <sup>14</sup>	1	Filipinas	1975	Queratitis	No reportado
Rebell et al. <sup>15</sup>	4	Florida	1976	Queratitis	3 buena recuperación y 1 queratoplastía 11 días post natamicina tópica
Liesegang et al. <sup>16</sup>	5	Florida	1980	Queratitis	No reportado
Thomas <sup>17</sup>	1	India	1991	Queratitis	queratoplastia
Gonawerdena et al. <sup>18</sup>	1	Sri Lanka	1994	Queratitis	Tratamiento no fue evaluado
Rosa et al. <sup>19</sup>	2	Florida	1994	Queratitis	No reportado
Dunlop et al. <sup>20</sup>	2	Bangladesh	1994	Queratitis	No reportado
Hagan et al. <sup>21</sup>	6	Ghana	1995	Queratitis	No reportado
Borderie et al. <sup>22</sup>	1	Francia	1997	Endoftalmitis	Evisceración
Srinivasan et al. <sup>23</sup>	5	India	1997	Queratitis	No reportado
Garg et al. <sup>24</sup>	3	India	2000	Queratitis	No reportado
Gopinathan et al. <sup>25</sup>	7	India	2002	Queratitis	No reportado
Donnio et al. <sup>26</sup>	1	Francia	2006	Endoftalmitis	Manejo quirúrgico
Thew et al. <sup>27</sup>	2	Australia	2008	Queratitis	No reportado
Saha et al. <sup>28</sup>	1	India	2012	Queratitis	Queratoplastía
Presente estudio	1	Paraguay	2014	Queratitis	Cicatriz corneal con necesidad de trasplante después de tratamiento tópico con natamicina y fluconazol por 37 días

En general las queratitis micóticas pueden ser graves y en ocasiones evolucionan a una endoftalmitis y panofthalmitis. El 82% de los casos de queratitis causadas por *L. theobromae* en la India fueron graves y, en los casos no tratados correctamente o en aquellos donde fueron utilizados corticosteroides tópicos, las úlceras producidas por este hongo se diseminaron y comprometieron las capas más profundas de la córnea, con extensión intraocular o la formación de descemetocel.<sup>32</sup> En uno de los casos de queratitis por *L. theobromae* estudiados en Miami, E.U.A, se observó el hongo en la córnea e invadiendo la membrana de Descemet, requiriendo un tratamiento queratoplástico después del empleo tópico de natamicina por 11 días<sup>15</sup>. Se ha afirmado que *L. theobromae* puede causar una queratitis grave que no responde al tratamiento médico y que requiere queratoplastia penetrante<sup>15,22</sup>. En nuestro caso *L. theobromae* produjo una invasión corneal, con lesiones satélites y colgajos corneales, dejando lesiones cicatriciales con indicación de trasplante de córnea.

En base a la bibliografía revisada, presentada en la Tabla 1, se observa que la infección por este hongo frecuentemente es el resultado de la inoculación directa, sin otro factor agravante asociado. En nuestro caso, el paciente tenía el antecedente de un trauma en la córnea con material vegetal y sólo refería hipertensión arterial

como enfermedad subyacente.

La virulencia de los hongos fitopatógenos está relacionada con una serie de mecanismos que les dan la capacidad de adaptarse al hospedero. Estos cambian su morfología, según estímulos físicos y fisiológicos, para lograr la infección y forman estructuras particulares para promover la penetración, como tubos germinativos, aprensorios y agregados hifales más complejos. La penetración puede verse favorecida por digestión enzimática<sup>33,34</sup>. *Lasiodiplodia theobromae* expresa proteínas extracelulares con actividades proteolíticas y moléculas extracelulares con propiedades citotóxicas sobre líneas celulares Vero<sup>34</sup>. Para el tratamiento de las queratitis se utilizan principalmente tratamientos tópicos, mientras que para las endoftalmitis tratamientos tanto sistémicos como locales<sup>35</sup>. En muchos países el fármaco de elección para las queratitis por hongos filamentosos es la natamicina<sup>36</sup>; sin embargo, se ha reportado una baja tasa de tratamiento exitoso por la escasa penetración ocular del fármaco<sup>37</sup>. Voriconazol, un derivado sintético del fluconazol, se ha convertido en los últimos años en una alternativa prometedora para el tratamiento de esta patología, dada su excelente penetración ocular y su gran espectro antifúngico<sup>38</sup>, siendo el fármaco actualmente recomendado para el tratamiento de queratitis por hongos filamentosos<sup>35</sup>.



La mayoría de las publicaciones acerca de queratitis producidas por hongos dematiáceos muestran una proporción significativa de casos debidos a *L. theobromae*, sin embargo, no hay información sobre los resultados del tratamiento (Tabla 1). La evaluación de la efectividad a la terapia se basa en reportes de casos. En general, *L. theobromae* tiene escasa respuesta al tratamiento por lo que se requiere finalmente queratoplastia<sup>15,17,28</sup>.

Se ha descrito resistencia *in vitro* de aislados oculares de *L. theobromae* a miconazol, ketoconazol, itraconazol, econazol y natamicina, según la revisión realizada por Thomas<sup>39</sup>. En la publicación de Saha y cols.<sup>28</sup>, el aislado de *L. theobromae* mostró resistencia *in vitro* a itraconazol y fluconazol y sensibilidad a voriconazol (1 µg/ml) y a anfotericina B (4 µg/ml); sin embargo, observaron una falta de respuesta clínica al tratamiento inicial con voriconazol tópico, lo que llevó a la progresión de la lesión requiriendo posteriormente una queratoplastia terapéutica. Si bien se ha demostrado que voriconazol tiene buena penetración ocular, es probable que con el tratamiento tópico inicial no se haya alcanzado los valores de CIM a nivel ocular<sup>38</sup>. En nuestro caso, la sensibilidad *in vitro* no fue realizada y el tratamiento con natamicina y fluconazol controló la infección, sin embargo, el paciente quedó con cicatrices en la córnea con necesidad de trasplante.

En conclusión, *L. theobromae* es un patógeno oportunista para el ser humano que causa fundamentalmente queratitis micóticas graves las cuales, muchas veces,

requieren de procedimientos quirúrgicos y trasplante de córnea. Es muy importante el rápido diagnóstico de estas afecciones con la identificación del agente etiológico a fin de evitar o minimizar consecuencias irreparables.

*Agradecimientos.* Este trabajo fue realizado dentro de un proyecto apoyado por la Fundación Hannelore-Georg Zimmermann, Munich, Germany.

## Resumen

Se presenta un caso clínico de queratitis causada por *Lasiodiplodia theobromae* en un agricultor de 60 años de edad, con antecedentes de un trauma ocular con un vegetal. Se realizó un examen oftalmológico con lámpara de hendidura y estudio microbiológico de la úlcera corneal por técnicas microbiológicas convencionales. El examen micológico del raspado corneal reveló la presencia de hifas septadas y el cultivo fue identificado como *Lasiodiplodia theobromae*. El paciente fue tratado con natamicina al 5% y fluconazol al 0,2% durante 37 días. La infección fue controlada, sin embargo, el paciente quedó con cicatrices corneales y con necesidad de trasplante. Es el primer caso de queratitis por *Lasiodiplodia theobromae* en Paraguay. Se discute la dificultad de manejo de estos casos que a menudo requieren procedimientos quirúrgicos y trasplante de córnea.

## Referencias bibliográficas

- Whitcher J P, Srinivasan M, Upadhyay M P. Corneal blindness: a global perspective. Bull World Health Org 2001; 79: 214-21.
- Vellegas-Flores M, Castellanos-González M, Beltrán Díaz-de la Vega. Análisis de queratitis micóticas en un hospital de tercer nivel. Rev Mex Oftalmol 2012; 86: 231-9.
- Cruz Choappa R. Queratitis micótica: identificación de especies en Valparaíso. Bol Micol 2013; 28: 48-52.
- Passos R M, Cariello A J, Yu M C, Höfling-Lima A L. Microbial keratitis in the elderly: a 32-year review. Arq Bras Oftalmol 2010; 73: 315-9.
- Iyer S A, Tuli S S, Wagoner R C. Fungal keratitis: emerging trends and treatment outcomes. Eye Contact Lens 2006; 32: 267-71.
- Tuli S S. Fungal keratitis. Clin Ophthalmol 2011; 5: 275-9.
- Thomas P A, Leck A K, Myatt M. Characteristic clinical features as an aid to the diagnosis of suppurative keratitis caused by filamentous fungi. Br J Ophthalmol 2005; 89: 1554-8.
- Alves A, Crous P W, Correia A, Phillips A J L. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. Fungal Diversity 2008; 28: 1-13.
- Kindo A J, Pramod C, Anita S, Mohanty S. Maxillary sinusitis caused by *Lasiodiplodia theobromae*. Indian J Med Microbiol 2010; 28: 167-9.
- Woo P C, Lau S K, Ngan A H, Tse H, Tung ET, Yuen K Y. *Lasiodiplodia theobromae* pneumonia in a liver transplant recipient. J Clin Microbiol 2008; 46: 380-4.
- Slomovic A R, Forster R K, Gelender H. *Lasiodiplodia theobromae* panophthalmitis. Can J Ophthalmol 1985; 20: 225-8.
- Puttana S T. Mycotic infections of the cornea. J All India Ophthalmol Soc 1967; 15: 11-8.
- Laverde S, Moncada L H, Restrepo A, Vera C L. *Mycotic keratitis*: 5 cases caused by unusual fungi. Sabouraudia 1973; 11: 119-23.
- Valenton M J, Rinaldi M G, and Butler E E. A corneal abscess due to the fungus *Botryodiplodia theobromae*. Can J Ophthalmol 1975; 10: 416-8.
- Rebell G, Forster R K. *Lasiodiplodia theobromae* as a cause of keratomycoses. Sabouraudia 1976; 14: 155-70.
- Liesegang T J, Forster R K. Spectrum of microbial keratitis in South Florida. Am J Ophthalmol 1980; 90: 38-47.
- Thomas P A, Garrison R G, Jansen T. Intrahyalal hyphae in corneal tissue from a case of keratitis due to *Lasiodiplodia theobromae*. J Med Vet Mycol 1991; 29: 263-7.
- Gonawerdena S A, Ranasinghe K P, Arseculeratne S N, Seimon C R, Ajello L. Survey of mycotic and bacterial keratitis in Sri Lanka. Mycopathologia 1994; 127: 77-81.
- Rosa R H Jr, Miller D, Alfonso E C. The changing spectrum of fungal keratitis in South Florida. Ophthalmology 1994; 101: 1005-13.
- Dunlop A A, Wright E D, Howlader S A, Nazrul I, Husain R, McClellan K, et al. Suppurative corneal ulceration in Bangladesh: a study of 142 boxes, examining the microbiological diagnosis, clinical and epidemiological features of bacterial and fungal keratitis. Aust N Z J Ophthalmol 1994; 22: 105-10.
- Hagan M, Wright E, Newman M, Dolin P, Johnson G. Causes of suppurative keratitis in Ghana. Br J Ophthalmol 1995; 79: 1024-8.
- Borderie V M, Bourcier T M, Poirot J L, Baudrimont M, Prudhomme de Saint-Maur P, Laroche L. Endophthalmitis after *Lasiodiplodia theobromae* corneal abscess. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1997; 235: 259-61.
- Srinivasan M, Gonzales C A, George C,



- Cevallos V, Mascarenhas J M, Asokan B, et al. Epidemiology and aetiological diagnosis of corneal ulceration in Madurai, South India. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 965-71.
- 24.- Garg P, Gopinathan U, Choudhary K, Rao G N. Keratomycosis: clinical and microbiologic experience with dematiaceous fungi. *Ophthalmology* 2000; 107: 574-80.
- 25.- Gopinathan U, Garg P, Fernandes M, Sharma S, Athmanathan S, Rao G N. The epidemiological features and laboratory results of fungal keratitis. A 10-year review at a referral eye care center in South India. *Cornea* 2002; 21: 555-9.
- 26.- Donnio A, Desbois N, Boiron P, The'odose R, Mouniee D, Thoumazet F, et al. Mycotic keratitis and endophthalmitis caused by unusual fungi: *Lasiodiplodia theobromae*. *J Fr Ophtalmol* 2006; 29: e4.
- 27.- Thew M R, Todd B. Fungal keratitis in far north Queensland, Australia. *Clin Experiment Ophthalmol* 2008; 36: 721-4.
- 28.- Saha S, Sengupta J, Banerjee D, Khetan A. *Lasiodiplodia theobromae* keratitis: a case report and review of literature. *Mycopathologia* 2012; 174: 335-9.
- 29.- Thomas P A, Kalavathy C M, Devanandan P. *Lasiodiplodia theobromae* keratitis-a clinical profile. *J Tamilnadu Ophthalmol Assoc* 1998; 39: 31-2.
- 30.- Leck A K, Thomas P A, Hagan M, Kalamurthy J, Ackuaku E, John M, et al. Aetiology of suppurative corneal ulcers in Ghana and south India, and epidemiology of fungal keratitis. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 1211-5.
- 31.- Laspina F, Samudio M, Cibils D, Ta C N, Fariña N, Sanabria R, et al. Epidemiological characteristics of microbiological results on patients with infectious corneal ulcers: a 13-year survey in Paraguay. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004; 242: 204-9.
- 32.- Stern G A, Buttross M. Use of corticosteroids in combination with antimicrobial drugs in the treatment of infectious corneal disease. *Ophthalmology* 1991; 98: 847-53.
- 33.- Struck C. Infection strategies of plant parasitic fungi. En: Cooke B M, Jones G D, Kaye B, eds. *The Epidemiology of Plant Diseases*, 2<sup>nd</sup> ed. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 2006; 117-37.
- 34.- Mendgen K, Hahn M, Deising H. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annu Rev Phytopathol* 1996; 34: 367-86.
- 35.- Mellado F, Rojas T, Cumsille C. Fungal keratitis: review of diagnosis and treatment. *Arq Bras Oftalmol* 2013; 76: 52-6.
- 36.- Natamycin approved-first US drug for fungal keratitis. *FDA Drug Bull* 1978; 8: 37-8.
- 37.- O'Day D M, Head W S, Robinson R D, Clanton J A. Corneal penetration of topical amphotericin B and natamycin. *Curr Eye Res* 1986; 5: 877-82.
- 38.- Hariprasad S M, Mieler W F, Lin T K, Sponsel W E, Graybill J R. Voriconazole in the treatment of fungal eye infections: A review of current literature. *Br J Ophthalmol* 2008; 92: 871-8.
- 39.- Thomas P A. Current perspectives on ophthalmic mycoses. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 730-97.