

2015-2016



ioba

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

Máster: **Subespecialidades Oftalmológicas**

Especialidad: **Inflamación Intraocular y Uveítis**

Utilidad del Análisis de las Muestras Intraoculares en el Diagnóstico de las Uveítis

ALUMNA:

Lda. María Soledad Peña

DIRECTORES:

Dra. Margarita Calonge Cano

Dr. Roberto Reinoso Tapia

COLABORACION:

Lda. Lidia Cocho Archiles (MsC)

Breve Curriculum Vitae

Datos Personales

- Nombre y apellidos: María Soledad Peña
- Lugar y fecha de nacimiento: Cipolletti (Argentina), 03/01/1979.

Formación Académica

- 1997–2004: Licenciada en Medicina por la Universidad de Buenos Aires (Argentina).
- 2006-2010: Especialista en Oftalmología, por el sistema MIR, en el Departamento de Oftalmología, Hospital Universitario La Fe, Valencia.
- Desde 05/2014: Fellow of the European Board of Ophthalmology (FEBO).
- Curso 2015-2016: Máster Oficial en Subespecialidades Oftalmológicas. Especialidad: Inflamación Intraocular y Uveítis. IOBA, Universidad de Valladolid.

Experiencia Laboral

- Desde 05/2010: Adjunta de Oftalmología en el Hospital General de Castellón; encargada de la Unidad de Uveítis.
- Desde 05/2015. Tutora de residentes de Oftalmología. Hospital general de Castellón.
- Curso académico 2015-2016. Tutora de la asignatura “Enfermedades Neurológicas y Oftalmológicas”, del grado en Medicina de la Universidad Jaume I, Castellón.

Últimas comunicaciones en congresos

- Septiembre 2015. Orbital abscess due to accidental rupture of frontal mucocele during peribulbar anesthesia. XXIII Congress of the ESCRS. Barcelona. (Póster)
- Octubre 2015. Tocilizumab as an alternative treatment in refractory Birdshot Disease. XV ESASO Retina Academy. Barcelona. (Póster)
- Abril 2016. Neuropatía óptica sifilítica: un diagnóstico a considerar en el edema de papila unilateral. Congreso SOCV. Valencia (comunicación oral)
- Junio 2016. Vasculitis intratable de origen desconocido. II congreso SEIO. Madrid. (Póster)
- Junio 2016. A rapidly growing retinal mass produced by intraretinal hemorrhage. XVI Esaso Retina Academy. Estoril, Portugal. (Póster)
- Junio 2016. Cystoid macular oedema in a patient with retinitis pigmentosa in the context of a Hallervorden-Spatz syndrome: A case report. XVI Esaso Retina Academy. Estoril, Portugal. (Póster)

Publicaciones

- Montoliu Antón A, León Ibañez L, Gorro Miró A, Peña MS. Los fármacos antiVEGF en la cirugía del pterigión: artículo de revisión. Rev Esp Inv Oftal 2015;5(4):195-8.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Dra Calonge, por brindarme la posibilidad de realizar este máster y por enseñarme la profesionalidad y perseverancia que exigen las uveítis.

Gracias a Lidia Cocho, que con su paciencia infinita y su apoyo constante, ha sido la mano amiga que me guio tan sabiamente todo este año.

Gracias al Dr. Reinoso, por estar siempre dispuesto a ayudarme y aclararme las dudas y porque su impecable labor en el laboratorio es la piedra angular de este trabajo de fin de máster.

Gracias al Prof. Pastor y a toda la familia del IOBA, por su hospitalidad y cariño, ya que en cada viaje, me hicieron sentir como en casa.

ABREVIATURAS

95% IC: intervalo de confianza del 95% para la media.

ADN: ácido dexoxirribonucleico

ANOVA: análisis de la varianza.

AV: agudeza visual

CMV: citomegalovirus

DT: desviación típica.

ELISA: acrónimo inglés de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas

GW: cociente Goldmann-Witmer

HA: humor acuoso

HV: humor vítreo

IgG: Inmunoglobulina G

IQR: rango intercuartílico.

OD: Ojo derecho

OI: Ojo izquierdo

PCR: acrónimo inglés de reacción en cadena de la polimerasa

VEB: virus Epstein-Barr

VHH-6: virus Herpes Humano tipo 6

VHS-1: virus Herpes Simple tipo 1

VHS-2: virus Herpes Simple tipo 2

VVZ: virus Varicela-Zóster

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	6
4. METODOLOGÍA	
4.1 Aspectos Éticos	8
4.2 Diseño del estudio y pacientes.....	8
4.3 Muestras oculares	9
4.4 Recogida y análisis de los datos	11
4.5 Niveles de utilidad de las pruebas.....	12
4.6 Análisis del coste de las pruebas.....	12
4.7 Análisis del beneficio económico de las pruebas.....	13
4.8 Análisis estadístico	14
5. RESULTADOS	
5.1 Descripción demográfica de la muestra.....	15
5.2 Análisis de las variables clínicas	15
5.3 Análisis de las variables de laboratorio	16
5.4 Análisis de los costes y beneficios de las pruebas.....	20
6. DISCUSIÓN	21
7. CONCLUSIONES.....	27
8. BIBLIOGRAFÍA	29

1. RESUMEN

OBJETIVO: Mientras que las uveítis o inflamaciones intraoculares de origen infeccioso suponen generalmente la curación de la enfermedad, las de origen no-infeccioso conllevan tratamientos médicos crónicos y quirúrgicos recurrentes, con la consiguiente morbilidad potencial y costes económicos importantes. Este estudio realiza un análisis de los beneficios, tanto diagnósticos como económicos, de la realización de pruebas de laboratorio en muestras oculares durante el diagnóstico diferencial de las uveítis infecciosas versus no infecciosas.

METODOLOGIA: Se revisaron las historias clínicas y datos de laboratorio de pacientes con diagnóstico presuntivo de uveítis infecciosa a los que se les tomó una muestra ocular entre noviembre 2009 y abril de 2016. Se recogieron datos epidemiológicos, datos oftalmológicos y los procedimientos realizados en las muestras. Se clasificó el beneficio diagnóstico del análisis de la muestra en tres niveles de utilidad: nivel I (confirmó el diagnóstico y orientó el tratamiento), nivel II (no confirmó el diagnóstico pero orientó el tratamiento) y nivel III (no confirmó el diagnóstico ni orientó el tratamiento). Finalmente, se calculó el beneficio económico que generaba el análisis de muestras oculares al permitir llegar a un diagnóstico etiológico y evitar la cronicidad de la inflamación y su tratamiento con inmunosupresores.

RESULTADOS: Se incluyeron 43 muestras oculares de 37 pacientes con una edad media de 39,44 (rango, 1 y 73) años. Del total de muestras analizadas, el 41,86% resultó en un nivel de utilidad I, el 41,86% en un nivel II y el 16,28% en un nivel de utilidad III. Las pruebas con mayor rendimiento diagnóstico fueron el análisis del cociente de Goldmann-Witmer para toxoplasmosis y rubéola. El beneficio económico de realizar pruebas con nivel de utilidad I fue de entre 2294,5 y 18405,68 € por paciente y año. Los mayores beneficios se registraron en los casos de uveítis posterior y panuveítis.

CONCLUSIONES: El análisis de las muestras oculares es una herramienta útil que permite realizar el diagnóstico etiológico de uveítis infecciosas en un porcentaje considerable de casos, evitando así los costes económicos de la cronicación de la inflamación y de las complicaciones asociadas.

2. INTRODUCCIÓN

La uveítis es una enfermedad inflamatoria intraocular que afectan tanto al tracto uveal (iris, cuerpo ciliar y coroides) como a las estructuras adyacentes (vítreo, retina y nervio óptico) y que es originada por múltiples y heterogéneas entidades clínicas.

La epidemiología de la uveítis varía considerablemente según la localización geográfica. Y así, se estima que en los países desarrollados su incidencia oscila entre 17-52 nuevos casos por 100.000 habitantes y año, mientras que la prevalencia ronda los 75-714 casos por 100.000 habitantes.¹ Se trata de una patología siempre potencialmente grave con la posibilidad de producir importantes secuelas visuales que son responsables, aproximadamente, del 5-10% de los casos de discapacidad visual en todo el mundo.¹ Asimismo, se estima que alrededor del 35% de los pacientes con uveítis presenta baja visión o ceguera legal,² generando un alto coste social y económico, debido principalmente a los gastos en salud y en bajas laborales.

La mayoría de los estudios concluyen que la uveítis anterior es la forma más común de inflamación intraocular (representando hasta un 90% de las uveítis en centros de atención primaria y un 50-60% en centros terciarios), seguida de la uveítis posterior (1-48%) y de las panuveítis (1-69%), mientras que la uveítis intermedia constituye la forma menos común (1-26%).¹

El diagnóstico diferencial en un paciente con uveítis es extenso pero, básicamente, se pueden agrupar en infecciosas y no infecciosas; entre éstas estarían las de causa primariamente inmunológica, las debidas a neoplasias y otros procesos primariamente no inflamatorios (síndromes “mascarada”) y las de causa desconocida. Cada una de estas causas podría afectar exclusivamente a los tejidos oculares o también a otras partes del organismo, pudiendo ser la uveítis la primera manifestación detectable.

La prevalencia de los distintos tipos de uveítis depende de la edad, el sexo, la raza, la distribución geográfica, de factores genéticos y de hábitos sociales, principalmente. Sin embargo, en el 30-60% de los pacientes, la causa subyacente de la uveítis no se identifica, denominándose entonces “Idiopática”. Las uveítis anteriores e intermedias son más frecuentemente consideradas idiopáticas que las posteriores y las panuveítis.¹

Dentro de las causas conocidas, la más frecuente en el caso de las uveítis anteriores es la asociación con espondiloartropatias seronegativas, con una prevalencia estimada

del 1-29%. Otras causas comunes de uveítis anterior incluyen la iridociclitis heterocrómica de Fuchs (0-20%), las uveítis herpéticas (0-31%) y la sarcoidosis (0-11%). Sin embargo, en el 14-74% de los casos de uveítis anterior no se identifica la causa subyacente.¹ En la uveítis posterior, las principales causas son la retinocoroiditis toxoplásmica (11-90%) y la idiopática (3-78%).¹ Otras causas menos frecuentes de uveítis posterior incluyen la infección por citomegalovirus (CMV), sarcoidosis, coriorretinopatía en perdigonada (“birdshot”), toxocariasis y las necrosis retiniana agudas (mayoritariamente de origen herpético). La mayoría de los casos de uveítis intermedia son idiopáticos (67-100%),¹ aunque entre las causas identificables se incluyen la sarcoidosis, la esclerosis múltiple, la sífilis, la enfermedad de Lyme, el linfoma intraocular y la infección por el virus HTLV-1.¹ Por su parte, la prevalencia de la etiología de la panuveítis está muy influenciada por la localización geográfica. Y así, mientras que en Europa, Australia y Estados Unidos la panuveítis idiopática es la forma más frecuente, en Japón es más común la enfermedad de Vogt-Koyanagi-Harada, el síndrome de Behçet y la sarcoidosis. La enfermedad de Behçet también es una causa frecuente de panuveítis en los países del Mediterráneo y, en general, de la llamada “ruta de la Seda”.¹

La prevalencia de las etiologías infecciosas varía principalmente con la situación geográfica, ya que son considerablemente más frecuentes en los países en desarrollo, donde representan alrededor de 30-50% de todos los casos de uveítis.^{1,2} En estas regiones, la uveítis infecciosa se manifiesta más comúnmente como uveítis posterior y panuveítis y las causas más frecuentes incluyen toxoplasmosis, tuberculosis, oncocercosis, cisticercosis, virus de la familia herpes, leptospirosis y otras enfermedades parasitarias. Por el contrario, en países desarrollados, las uveítis infecciosas son responsables de una proporción significativamente menor de casos, siendo las causas más habituales la toxoplasmosis y las uveítis herpéticas, ésta última tanto en forma de uveítis anterior herpética como de necrosis retiniana aguda.

La identificación de la etiología exacta de la uveítis es fundamental, principalmente por razones pronóstica y, sobre todo, terapéuticas. La etiología infecciosa es una de las causas de inflamación intraocular que siempre se debe tener presente al realizar el diagnóstico diferencial de una uveítis y lo primero que ha de descartarse o confirmarse

de manera exhaustiva, debido a que se trata de una patología que, en la mayor parte de los casos, tiene un tratamiento específico y, generalmente, curativo. La rápida instauración del tratamiento adecuado en el caso de las uveítis infecciosas es muchas veces sinónimo de prevención de pérdida de visión y resolución definitiva de la inflamación, suponiendo un enorme ahorro económico y social. Por el contrario, una investigación etiológica incompleta puede llevar al error de etiquetar una uveítis infecciosa como una uveítis idiopática o inmune. Las enfermedades mediadas por el sistema inmune que cursan con uveítis suelen responder al tratamiento con esteroides o inmunosupresores. Tales tratamientos pueden tener consecuencias catastróficas en aquéllas de origen infeccioso. Tanto el retraso en el diagnóstico e instauración del tratamiento, como el tratamiento inadecuado de una uveítis pueden llevar a la pérdida irreversible de la visión. Por tanto, resulta fundamental identificar los casos de uveítis de etiología infecciosa con el fin de instaurar la terapia antimicrobiana específica adecuada lo antes posible.

El diagnóstico etiológico de la uveítis es un proceso complejo y puede orientarse, en la mayoría de los casos, en base a la edad y sexo del paciente, su forma de presentación, la morfología de la lesión, la lateralidad y la existencia de síntomas sistémicos asociados. Una afectación unilateral, la presencia de presión intraocular elevada y lesiones retinianas necróticas focales suelen asociarse a procesos infecciosos, mientras que la afectación bilateral es más característica de los desórdenes no infecciosos. Pero esta “regla”, como la mayoría en Medicina, tiene numerosas y notables excepciones. Y así, las uveítis de origen infeccioso y no infeccioso se presentan en múltiples ocasiones con signos y síntomas similares y la diferenciación entre ambas, basándose en hallazgos oculares, no es factible. Es posible, por ejemplo, que una causa infecciosa se presente de forma latente y crónica, mimetizando una uveítis asociada a enfermedades autoinmunes. Por ello, resulta indispensable la realización de determinadas pruebas diagnósticas de laboratorio, especialmente para buscar, tan exhaustivamente como sea posible, una causa infecciosa, en donde el diagnóstico definitivo se realizará con la identificación del patógeno.

La utilidad de las técnicas diagnósticas en sangre periférica en el diagnóstico de la infección ocular es limitada, ya que ésta se caracteriza por originar una respuesta inmune de carácter local, con escasa repercusión general en muchos casos. Para determinar si el origen de la inflamación intraocular es un determinado agente infeccioso, la aproximación ideal, siempre que sea factible y razonable a juicio del médico, es verificar en una determinada muestra ocular, la producción local de anticuerpos mediante el cociente de Goldmann-Witmer (GW) frente a un determinado patógeno o identificar dicho patógeno mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), identificación microscópica y/ o cultivo microbiológico.

En los últimos años, ha habido avances tanto en las técnicas quirúrgicas que permiten la toma de muestras oculares con más seguridad y eficacia, como en las técnicas de diagnóstico de laboratorio, lo que ha mejorado las posibilidades de llegar a un diagnóstico correcto en, cada vez, mayor porcentaje de casos.

Para el estudio del humor acuoso, se puede extraer una muestra de este líquido durante un procedimiento invasivo como una cirugía de catarata o glaucoma. Sin embargo, si la finalidad es puramente diagnóstica, es posible extraer una muestra de humor acuoso a través de una paracentesis de cámara anterior. Se trata de un procedimiento bastante seguro, ya que tiene una tasa de complicaciones (trauma en la córnea, iris o cristalino, hifema y endoftalmitis) extremadamente baja (0,7-3,6%).^{3,4} En cuanto a su rentabilidad diagnóstica, la mayoría de los estudios se centran en la utilidad de esta técnica para el diagnóstico de las uveítis de origen herpético o toxoplásmico y, más recientemente, de la uveítis de Fuchs al haberse demostrado ser causada por el virus de la rubéola. Por ejemplo, De Groot-Mijnes et al. publicaron un estudio en el que la combinación de PCR y GW en el análisis del humor acuoso permitió el diagnóstico de uveítis de origen herpético o toxoplásmico en el 23% de las uveítis estudiadas.⁵ Por otra parte, Rothova et al. evaluaron la utilidad del análisis del humor acuoso para el diagnóstico de uveítis posteriores; en este estudio, el análisis con PCR y GW reveló una causa infecciosa en el 29% de los casos, en su mayor parte pacientes con coriorretinitis focal o retinitis extensa.⁶ Una desventaja de la paracentesis de cámara anterior es que el volumen máximo que puede extraerse es pequeño (110-200 µL), lo que limita la cantidad de pruebas que se pueden realizar.

En el caso del humor vítreo, éste se puede extraer a través de una vitrectomía diagnóstica o terapéutica, o a través de una punción vítrea, aunque éste último no es lo suficientemente seguro. Las complicaciones asociadas a la vitrectomía diagnóstica, como son la catarata, desprendimiento de retina, membrana epirretiniana, hipotonía o hemorragia vítrea han sido descritas entre el 12,4-64,3% de los casos.⁷ La rentabilidad diagnóstica también presenta una gran variabilidad entre los distintos estudios, logrando un diagnóstico de uveítis infecciosa entre el 20-61,5% de los casos en los que se realizó la vitrectomía.⁷⁻¹⁰

3. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. JUSTIFICACIÓN

La uveítis supone un problema de salud importante, ya que se trata de una patología que conlleva una gran morbilidad, especialmente en pacientes en edades intermedias, laboralmente productivas, de la vida. Los pacientes diagnosticados de uveítis no infecciosa (inmune o idiopática) generan un elevado gasto sanitario, asociado a múltiples consultas médicas especializadas, tratamientos farmacológicos crónicos (generalmente de coste elevado), analíticas repetidas de control y morbilidad secundaria. Asimismo, generan una disminución de la calidad de vida que afecta a la productividad laboral y, en definitiva, aumentan el coste socio-sanitario.

La importancia de realizar un diagnóstico diferencial entre uveítis infecciosa y no infecciosa reside en que el tratamiento de la primera suele ser específico y muchas veces resolutivo, evitando la cronificación de la inflamación y del tratamiento. Es decir, cuando se logra encontrar una etiología infecciosa, la uveítis se transforma en un proceso curable y, por ende, se corta el círculo de morbilidad y gasto socio-sanitario descrito.

Por ello, resulta fundamental delimitar la utilidad del análisis de las muestras oculares para orientar el diagnóstico en casos de uveítis de presunta etiología infecciosa y, de esta forma, poder instaurar el tratamiento correcto y potencialmente curativo.

3.2. HIPÓTESIS

Los beneficios derivados de la utilización de pruebas de diagnóstico de laboratorio en muestras de fluidos oculares en el diagnóstico diferencial de las uveítis infecciosas, ya sea en términos de eficacia diagnóstica como de ahorro de recursos tangibles, supera el coste implícito que conlleva la realización de dichas pruebas.

3.3. OBJETIVOS

El **objetivo general** del presente estudio ha sido la realización de un análisis coste-beneficio de las pruebas de laboratorio realizadas en muestras oculares durante el diagnóstico diferencial de las uveítis infecciosas.

Los **objetivos específicos** fueron:

- Revisar las historias clínicas de aquellos pacientes con sospecha clínica de uveítis infecciosa a los que se les ha tomado muestra de fluidos oculares (humor acuoso y/o humor vítreo) para análisis microbiológico, anatomopatológico o de anticuerpos, desde noviembre 2009 hasta abril de 2016.
- Evaluar las técnicas de recogida de muestra en dichos pacientes, prestando especial atención a las posibles complicaciones derivadas de la misma.
- Desarrollar un sistema de graduación de los resultados obtenidos en las pruebas realizadas sobre las muestras oculares para determinar su eficacia.
- Valorar económicamente las pruebas utilizadas.
- Establecer, según los resultados obtenidos en los apartados anteriores, el esquema de actuación más eficaz desde el punto de vista de rentabilidad diagnóstica y económica.

4. METODOLOGIA

4.1. ASPECTOS ETICOS

Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Valladolid y por la comisión de investigación del IOBA (Anexo I). Se llevó a cabo siguiendo las normas de Buena Práctica Clínica, la Declaración de Helsinki sobre estudios clínicos y lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (BOE núm. 298, de 14-12-1999, pp. 43088-43099). Además, se había cumplido la normativa que regula el almacenamiento de muestras humanas recogida en la Ley 14/2007, RD 223/2004 sobre investigación con muestras humanas en investigación biomédica, así como en el Real Decreto 1716/2011 de 18 de noviembre.

4.2. DISEÑO DEL ESTUDIO y PACIENTES

Se trata de un estudio retrospectivo, descriptivo y observacional.

Los pacientes fueron identificados a partir de los registros del Laboratorio de Biología Molecular del IOBA, en los que figuran los pacientes con sospecha de uveítis infecciosa a los que se les había tomado una muestra intraocular (humor acuoso y/o vítreo) en el período comprendido entre noviembre 2009 hasta abril de 2016.

Criterios de inclusión

- Hombres o mujeres de cualquier edad.
- Pacientes con diagnóstico presuntivo de uveítis infecciosa, en los que se hubiera tomado muestras oculares. La sospecha de uveítis infecciosa se ha basado en criterios clínicos, epidemiológicos y/o serológicos.
- Pacientes cuyas muestras oculares fueron procesadas y analizadas tanto por el Laboratorio de Biología Molecular del IOBA como por laboratorios externos.

Criterios de exclusión

- Pacientes con diagnóstico presuntivo de uveítis infecciosa, en los que no se hubiera tomado muestras oculares.
- Pacientes con diagnóstico presuntivo de uveítis infecciosa, en los que se hubiera realizado vitrectomía con fines exclusivamente terapéuticos.

- Pacientes con diagnóstico confirmado de uveítis de origen neoplásico o inmunológico.

4.3. MUESTRAS OCULARES

Las muestras oculares fueron humor acuoso y/o humor vítreo, pudiendo ser procesadas y analizadas tanto por el Laboratorio de Biología Molecular del IOBA como por laboratorios externos.

4.3.1. Obtención de muestras oculares

Humor acuoso: se recogieron mediante dos tipos de procedimientos:

- Durante un procedimiento con fines terapéuticos, como una cirugía de cataratas o glaucoma, siempre antes de introducir cualquier tipo de sustancia en la cámara anterior.
- Durante un procedimiento con fines diagnósticos, a través de una paracentesis de cámara anterior. Para ello, se realizó una incisión límbica con una aguja de 27 G, extrayéndose 100-200 μ l de humor acuoso. Se realizó siempre en dependencias quirúrgicas.

Humor vítreo: se recogieron mediante vitrectomía posterior vía pars plana estándar con utilización de tres puertos 25 G. Esta se realizó con fines tanto terapéuticos (en casos de hemorragia vítrea, opacidades vítreas, desprendimiento de retina), como con fines exclusivamente diagnósticos. Se recogieron dos tipos de muestras:

- Humor vítreo puro, aquella muestra que representa el primer 1 ml de vítreo no diluido antes de iniciar la irrigación.
- Humor vítreo diluido: aquella muestra que constituye el vítreo diluido en la solución de irrigación que se utiliza durante la remoción del humor vítreo.

4.3.2. Procesado de las muestras oculares

Los métodos de diagnóstico de las muestras intraoculares fueron o bien directos, que identifican el germen (citología y cultivo) o parte de él (detección de ADN mediante PCR y su secuenciación) o bien métodos indirectos, basados en la reacción inmunitaria específica de anticuerpos del huésped frente al agente infeccioso (serología intraocular y GW).

No se emplearon todos los métodos de diagnóstico en todas las muestras, sino que se hizo una selección individualizada de los tests de acuerdo con el diagnóstico presuntivo.

A) Determinación de anticuerpos intraoculares y GW

El análisis del GW se realizó mediante la determinación en suero y en los fluidos intraoculares de los títulos de los anticuerpos específicos contra *Rubéola*, *Toxocara canis* y *Toxoplasma gondii* y de la concentración de inmunoglobulina G (IgG) total.

El GW se calculó de la siguiente forma: $GW = C_1/C_2$, donde C_1 es título de IgG específica / IgG total en fluidos oculares, y C_2 es la misma relación pero en suero. Un valor del coeficiente igual o mayor a 3 se considera indicativo de producción intraocular de anticuerpos.

Además, se determinó la presencia de anticuerpos específicos intraoculares contra *Leishmania*, *Malaria*, *Tropheryma whippelii* y *Borrelia burgdorferi* cuando estuvo indicado.

B) Citología

El humor acuoso tiene poco interés citológico debido al pequeño volumen de la muestra y a la dificultad para obtener concentrados celulares, por lo que el estudio citológico se realizó exclusivamente en las muestras de humor vítreo. Esta incluyó la identificación del componente celular predominante y la presencia de microorganismos, tanto extracelulares como intracelulares. El examen microscópico se realizó con tinción diferencial (Gram, Ziehl-Neelsen, Giemsa), simple (Azul de metileno) o en fresco (hongos), según la sospecha clínica.

C) Cultivo

Se realizó exclusivamente con el humor vítreo, utilizando los medios de cultivo estándar para identificar bacterias y hongos. La incubación se realizó durante un mínimo de 5 días y, en el caso de hongos, durante un período entre 5 y 14 días.

D) PCR y secuenciación

- PCR cuantitativa: se utilizó para identificar y amplificar ADN de *VHS-1*, *VHS-2*, *VVZ*, *VEB*, *CMV*, *VHH-6*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Coxiella burnetii*, Género *Bartonella* y Género *Rickettsia*.

- PCR anidada: se utilizó para identificar y amplificar ADN de hongos. Si la reacción resultó positiva, se realizó secuenciación y comparación con un banco genético para conocer el género y la especie.
- PCR Eubacterias: permite conocer si hay bacterias en la muestra. Si la reacción resultó positiva, se realizó secuenciación y comparación con un banco genético para conocer el género y la especie.

4.4. RECOGIDA Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los datos clínicos y de laboratorio de los pacientes incluidos fueron registrados mediante revisión de las historias clínicas en un cuaderno de recogida de datos (Anexo II). Las variables analizadas en el estudio hacen referencia a datos epidemiológicos, datos clínicos y procedimientos realizados sobre las muestras oculares.

Los datos epidemiológicos registrados fueron:

- Fecha de nacimiento y edad al momento de la toma de la muestra
- Fecha de la toma de muestra
- Género
- Ojo en el que se realizó la toma de la muestra
- Tipo de muestra (humor acuoso y/o vítreo)
- Laboratorio que procesó la muestra (IOBA, externo, mixto)
- Finalidad de la toma de muestra (diagnóstica o diagnóstica y terapéutica)

Los datos clínicos de los pacientes revisados fueron:

- Agudeza visual (AV) antes de la extracción de la muestra (pre-muestra).
- Diagnóstico pre-muestra: localización anatómica de la uveítis (anterior, posterior, intermedia, panuveítis), lateralidad (uni-bilateral) y curso (crónico, agudo, recurrente).
- Complicaciones de la toma de la muestra.

Los procedimientos realizados en las muestras oculares fueron:

- PCR: *VHS-1*, *VHS-2*, *VVZ*, *VEB*, *CMV*, *VHH-6*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacterias* (dominio eubacterias), *Hongos*, *Coxiella burnetii*, Género *Bartonella*, Género *Rickettsia*.
- Secuenciación, en caso de positividad en PCR Eubacterias u hongos.

- GW : *Toxoplasma gondii*, *Toxocara canis*, *Rubéola*.
- Serología intraocular: *Toxocara canis*, *Toxoplasma gondii*, *Rubéola*, *Leishmania*, *Malaria*, *Tropheryma whippelii*, *CMV*, *Borrelia burgdorferi*.
- Cultivo de humor vítreo.
- Citología del humor vítreo.

4.5. NIVELES DE UTILIDAD DE LAS PRUEBAS

Haciendo una analogía con los niveles de evidencia publicados en 1979 por “The Canadian Task Force on the periodic Health Examination,¹¹ se ha desarrollado, específicamente para este trabajo, un sistema de graduación de los resultados obtenidos en las pruebas realizadas sobre las muestras oculares para determinar su eficacia. Esta clasificación se basa en la utilidad del resultado de las pruebas para orientar el diagnóstico y/o tratamiento de las uveítis para las cuales fueron tomadas y consiste en 3 “niveles de utilidad”:

- **Nivel de utilidad I:** aquellas pruebas que confirmaron el diagnóstico y ayudaron a orientar el tratamiento.
- **Nivel de utilidad II:** aquellas pruebas que no confirmaron el diagnóstico pero que, al ser negativas, ayudaron a orientar el tratamiento.
- **Nivel de utilidad III:** aquellas pruebas que ni confirmaron el diagnóstico ni ayudaron a orientar el tratamiento. En este grupo se incluyen pruebas que detectaron patógenos pero no su titulación, pruebas que detectaron patógenos que no se correspondían con la clínica o curso evolutivo de la uveítis, pruebas que detectaron patógenos de forma general (virus, bacterias, hongos), sin especificar género o especie, o pruebas que no detectaron patógenos identificados por otros medios.

4.6. ANÁLISIS DEL COSTE DE LAS PRUEBAS

El coste de cada prueba realizada en las muestras oculares de los pacientes fue extraído del catálogo de precios del año 2016 del Laboratorio de Biología Molecular del IOBA y son los que se detallan a continuación:

- GW *Toxoplasma gondii*, *Toxocara canis*, *Rubéola*: 100€.
- PCR VHS-1, VHS-2, VVZ, CMV, EBV, VHH-6, *Mycobacterium tuberculosis*: 60€.

- Cultivo, citología: 60 €.
- PCR Eubacterias, Hongos, *Coxiella burnetii*, Género *Bartonella*, Género *Rickettsia*: 50€.
- Secuenciación: 40€.
- Anticuerpos intraoculares: *Toxocara canis*, *Toxoplasma gondii*, Rubéola: 35€.
- Anticuerpos intraoculares para *Leishmania*, *Malaria*, *Tropheryma whippelii*, CMV, *Borrelia burgdorferi*: 30€.

Con estos datos, se realizaron los siguientes cálculos:

- **Análisis global del gasto medio en pruebas.** Se realizó un análisis de coste por muestra sumando el coste de todas las pruebas realizadas o bien en una muestra, o bien en un paciente en el caso de que se tuviera más de una muestra. Luego se realizó la media con su desviación estándar y rango para el total de pacientes.
- **Análisis del gasto medio en pruebas según el nivel de utilidad.** Se procedió de la misma forma que el punto anterior pero analizando por separado el gasto medio en pruebas agrupando los resultados según el nivel de utilidad de cada muestra.
- **Análisis de las pruebas más rentables dentro de aquellas con un nivel de utilidad I.** Se incluyen no sólo el aspecto económico sino también el aspecto diagnóstico, es decir, si se pudo confirmar el diagnóstico de presunción.

4.7. ANÁLISIS DEL BENEFICIO ECONÓMICO DE LAS PRUEBAS

En caso de que en una uveítis de presunta etiología infecciosa no se logre confirmar la presencia del agente infeccioso, el tratamiento que se instaura es habitualmente paliativo y consiste en el control de la inflamación mediante inmunosupresores. Por lo tanto, en este estudio, se ha considerado que el beneficio económico que reporta una prueba diagnóstica en muestras oculares con un nivel de utilidad I es el ahorro del coste económico que supone el tratamiento crónico. Este coste incluye el del tratamiento médico con inmunosupresores (tanto los fármacos como su administración), el del seguimiento de una patología crónica (visitas en atención especializada y pruebas diagnósticas) y el del tratamiento de las complicaciones.

Para el cálculo de los beneficios económicos se ha utilizado los datos publicados por Adán et al.¹¹ En este artículo, se estima que el coste medio por paciente y año de los recursos utilizados para el tratamiento de la uveítis no infecciosa en España en 2011 es de 2.811,17€ para la uveítis anterior aguda, 6.889,17€ para la uveítis intermedia, 15.919,52€ para la uveítis posterior y 18.922,35€ para la panuveítis.

El cálculo del beneficio económico se realizó para cada tipo anatómico de uveitis (anterior, intermedia, posterior y panuveítis) de la siguiente forma,

$$\text{CMT} - \text{CMP} = \text{beneficio estimado}$$

donde CMT es el coste medio del tratamiento de la uveítis no infecciosa por paciente y año y CMP es el coste medio por paciente de las pruebas con nivel de utilidad I.

4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el software R versión 3.3.1 (R Core Team, 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.) y fue realizado en la Unidad de Estadística del IOBA por la Dra. Itziar Fernández.

Se realizó un primer análisis descriptivo de todas las variables (cualitativas, cuantitativas y ordinales). Los estadísticos descriptivos utilizados fueron la media \pm la desviación típica (DT), el intervalo de confianza del 95% para la media (95% IC), la mediana, los valores máximo y mínimo, los percentiles 25 y 75, el rango intercuartílico (IQR) y la moda.

Para evaluar las diferencias entre los 3 grupos de utilidad definidos se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor. Se contrastó la hipótesis de igualdad de medias para dos muestras independientes, utilizando el contraste t-Student. En el caso de que la homogeneidad de varianzas, evaluada mediante el contraste de Leven, no pudiera asumirse, el contraste utilizado fue el de Welch para dos muestras. Y en el caso de que la normalidad, evaluada mediante el contraste de Shapiro Wilk, no pudiera asumirse, se contrastó la hipótesis de igualdad de medianas con el contraste no-paramétrico U de Mann-Whitney. En el caso de las variables cualitativas u ordinales, se contrastó la independencia entre el grupo y cada una de las variables utilizando el test chi-cuadrado y metodología no paramétrica, respectivamente.

5. RESULTADOS

5.1. DESCRIPCIÓN DEMOGRÁFICA DE LA MUESTRA

En este estudio, se incluyeron un total de 43 muestras oculares procedentes de 37 pacientes con una edad media de $39,44 \pm 20,19$ (rango, 1-73) años. De los 37 pacientes, 16 (43,24%) fueron mujeres (con un 39,53% del total de las muestras) y 21 (56,75%) fueron varones (con un total del 60,47% de las muestras). De las 43 muestras, 23 se tomaron en ojos derechos y 20 en ojos izquierdos. El 83,72% de las muestras se analizaron en el Laboratorio de Biología Molecular del IOBA y el 16,28% fueron analizadas en conjunto con un laboratorio externo al IOBA.

Las muestras de humor acuoso fueron 16 (37,20%), mientras que las de humor vítreo fueron 27 (62,79%).

5.2. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES CLÍNICAS

5.2.1. Tipo de uveítis pre-muestra

De las 43 muestras, 12 (27,90%) procedían de uveítis anteriores, 6 (13,95%) casos de intermedias, 11 (25,58%) de uveítis posterior y 14 (32,55%) procedían de panuveítis; así pues, la mayoría de las muestras procedían de patología del segmento posterior.

En el 50% de los casos, se trataba de una uveítis bilateral. En cuanto al curso, éste fue agudo en 5 (11,60%) casos, crónico en 26 (60,40%) y recurrente en 12 (27,90%) muestras. Como una uveítis clásica aguda no suele requerir la extracción de muestras oculares, merece la pena aclarar que en esos 5 casos se realizó una vitrectomía terapéutica cuyas muestras se aprovecharon con fines diagnósticos: dos fueron por endoftalmitis, dos por desprendimiento de retina y una por hemorragia vítrea.

5.2.2. AV pre-muestra

La AV se pudo obtener en 38 casos, ya que en un caso correspondía a un niño de 12 meses de edad y en los cuatro casos restantes, la AV estaba reducida a percepción de luz. De las 38 medidas disponibles, la AV media (logMAR) fue de $0,74 \pm 0,81$.

5.2.3. Tiempo transcurrido

La mediana del tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico de uveítis, hasta la primera visita al IOBA y hasta que se tomó la muestra ocular fue de 1 mes, 12,77 meses y 23,1 meses, respectivamente.

5.2.4. Finalidad de la toma de la muestra ocular

La finalidad con la que se tomaron las muestras fue diagnóstica en 19 (44.19%) casos y diagnóstica y terapéutica en los 24 (55,81%) casos restantes.

5.2.5. Complicaciones

De las 43 muestras tomadas, se registraron complicaciones en 4 (9,30%) de ellas, todas asociadas a vitrectomías con fines diagnósticos y terapéuticos. Las complicaciones fueron hemorragia vítrea en 2 casos y reacción inflamatoria postquirúrgica exagerada en los otros dos. Todas ellas se resolvieron adecuadamente, sin secuelas.

5.3. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES DE LABORATORIO

5.3.1. Nivel de utilidad global

En 18 (41,86%) de los 43 casos, el resultado del análisis de la muestra ocular confirmó el diagnóstico, con lo cual se consideró un nivel de utilidad I. En otros 18 (41,86%) casos, la muestra ocular no confirmó el diagnóstico pero si orientó el tratamiento, esto es, se consideró un nivel de utilidad II. El análisis de las 7 (16,28%) muestras restantes, no orientó el diagnóstico ni el tratamiento, es decir, fueron de un nivel de utilidad III.

Cuando la toma de la muestra se realizó con indicación exclusivamente diagnóstica, se encontró un nivel de utilidad I en el 26,3% de los casos, un nivel de utilidad II en el 42,1% y un nivel III en el 31,6% de los casos.

Cuando la indicación fue diagnóstica y terapéutica, los porcentajes de nivel de utilidad I, II y III fueron 54,2%, 41,7% y 4,2%, respectivamente.

La diferencia hallada entre los dos grupos para cada nivel de utilidad fue estadísticamente significativa ($p=0,0398$).

En resumen, el análisis la muestra ocular resultó útil en el manejo del paciente (niveles I y II) en un 83,72% de los casos en general, siendo esa utilidad de 68,4% cuando la muestra se tomó con finalidad diagnóstica exclusivamente y del 95,9% cuando se hizo aprovechando una finalidad también terapéutica.

5.3.2. Número de pruebas por muestra

Se realizó una media de $8,07 \pm 2,81$ (rango 1-14) pruebas en las 43 muestras oculares analizadas. Desglosando el número de pruebas realizadas en cada muestra según el nivel de utilidad, se hicieron una media de $8,17 \pm 3,05$ pruebas en las muestras que resultaron con un nivel de utilidad I, una media de $8,56 \pm 2,31$ la en las de nivel de

utilidad II y una media de $6,57 \pm 3,21$ pruebas en aquellas muestras catalogadas de utilidad III. La comparación de estas medias no arrojó diferencias significativas.

5.3.3. Tipo de pruebas realizadas

La frecuencia con la que se realizaron las siguientes pruebas en las 43 muestras oculares fue la siguiente (Figura 1):

- PCR para herpes virus. VHS-1, VHS-2 y CMV: 90,70%. VVZ: 88,37%. EBV: 86,05%.
- PCR Eubacterias: 67,44%.
- PCR para hongos: 55,81%.
- Citología vítrea: 53,49%.
- PCR para *Mycobacterium tuberculosis*: 27,91%.
- Cultivo e IgG anti *Toxoplasma gondii*: 20,93%.
- PCR para VHH-6 e IgG anti *Rubéola*: 18,60%.
- Secuenciación: 13,95%.
- IgG anti *Toxocara canis*, GW para *Toxoplasma gondii* y GW para *Rubéola*: 11,63%.
- GW para *Toxocara canis*, PCR para *Coxiella burnetii*, IgG anti *Borrelia*: 4,65%.
- PCR para *Bartonella henselae*, IgG anti *Leishmania*, IgG para *Malaria*, IgG anti *Tropheryma whippelii*, IgG anti CMV y PCR para *Rickettsia*: 2,33%.

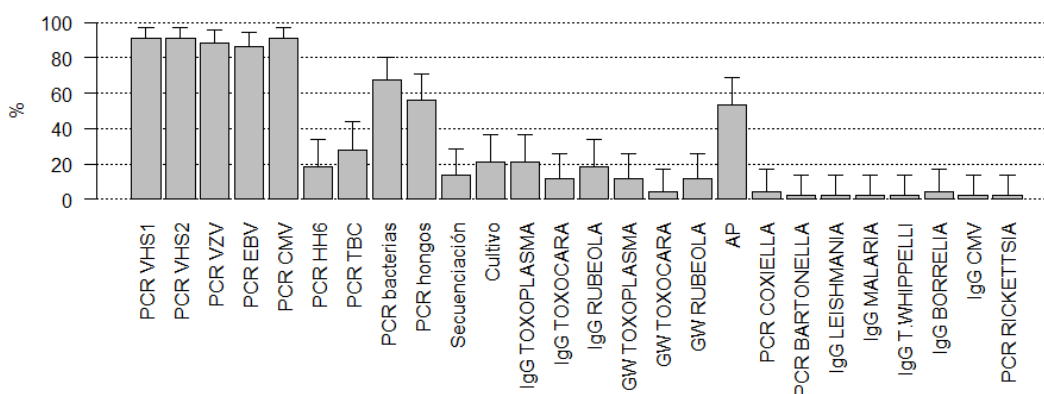


Figura 1. Porcentaje de realización de cada prueba diagnóstica en las muestras oculares. Se observa una mayor frecuencia de aquellas que intentaron determinar la presencia de virus de la familia herpética mediante PCR.

Todas las abreviaturas se encuentran descritas en la página correspondiente al inicio de esta memoria, excepto AP: citologías vítreas analizadas por el Laboratorio de Anatomía Patológica del IOBA

5.3.4. Resultado y nivel de utilidad de cada prueba

Como se ha comentado, a todos los resultados obtenidos de las pruebas realizadas en las muestras oculares, tanto positivos como negativos, se les asignó un nivel de

utilidad. En la Tabla 1 y en las Figuras 2 y 3 se detallan el total de muestras analizadas con cada prueba, junto con los resultados positivos o negativos obtenidos y el correspondiente nivel de utilidad asignado a cada prueba.

Tabla 1. Pruebas realizadas en las muestras oculares procedentes de pacientes con uveítis, con su resultado positivo o negativo y con el nivel de utilidad asignado (I: confirmó el diagnóstico y orientó el tratamiento; 2: no confirmó el diagnóstico pero orientó el tratamiento y 3: no confirmó el diagnóstico y no orientó el tratamiento).

Prueba específica (nº de veces realizada)	Resultado positivo (nivel de utilidad)	Resultado negativo (nivel de utilidad)
PCR para VHS-1 (39)	0 (-)	39 (II)
PCR para VHS-2 (39)	0 (-)	39 (II)
PCR para VVZ (38)	0 (-)	38 (II)
PCR para EBV (37)	2 (I) 2 (III)	33 (II)
PCR para CMV (39)	4 (I)	35 (II)
PCR para VHH-6 (8)	0 (-)	8 (II)
PCR para <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (12)	0 (-)	12 (II)
PCR para Eubacterias (29)	2 (I) 4 (III)	21 (II) 2 (III)
PCR para hongos (24)	1 (I)	23 (II)
Secuenciación (6)	2 (I) 4 (III)	0 (-)
Cultivo (9)	2 (I) 2 (III)	5 (II)
IgG anti <i>Toxoplasma gondii</i> (9)	4 (I)	5 (II)
IgG anti <i>Toxocara canis</i> (5)	0 (-)	5 (II)
IgG anti <i>Rubéola</i> (8)	4 (I)	4 (II)
GW para <i>Toxoplasma gondii</i> (5)	4 (I)	1 (II)
GW para <i>Toxocara canis</i> (2)	0 (-)	2 (II)
GW para <i>Rubéola</i> (5)	3 (I)	2 (II)
Citología vítrea (23)	3 (I) 4 (III)	16 (II)
PCR para <i>Coxiella burnetti</i> (2)	0 (-)	2 (II)
PCR para <i>Bartonella</i> (1)	0 (-)	1 (II)
IgG anti <i>Leishmania</i> (1)	0 (-)	1 (II)
IgG anti Malaria (1)	1 (I)	0 (-)
IgG anti <i>Tropheryma whippelii</i> (1)	0 (-)	1 (II)
IgG anti <i>Borrelia burgdorferi</i> (2)	0 (-)	2 (II)
IgG anti CMV (1)	0 (-)	1 (II)
PC para <i>Rickettsia</i> (1)	0 (-)	1 (II)

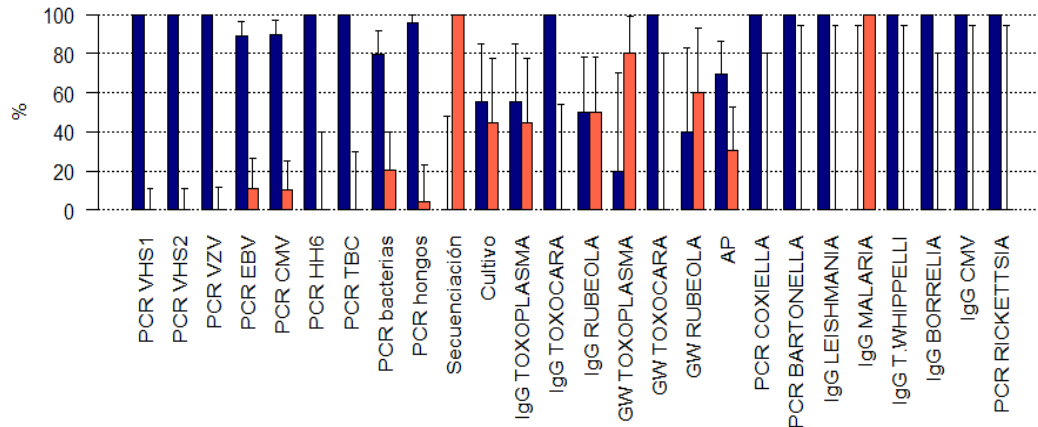


Figura 2. Porcentaje de realización de cada prueba diagnóstica en las muestras oculares y nivel de utilidad de cada una de ellas. Las barras azules se corresponden con un resultado negativo y las anaranjadas con uno positivo.

Todas las abreviaturas se encuentran descritas en la página correspondiente al inicio de esta memoria, excepto AP: citologías vítreas analizadas por el Laboratorio de Anatomía Patológica del IOBA.

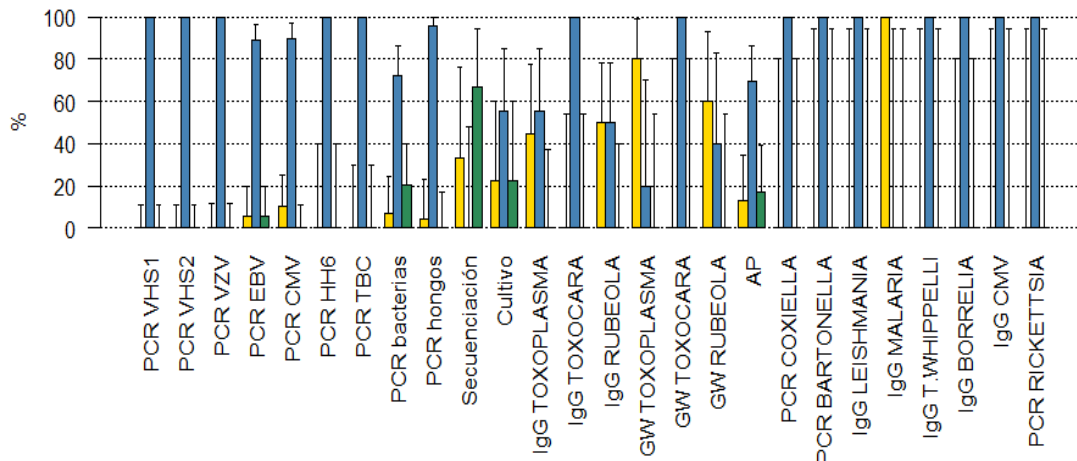


Figura 3. Porcentaje de realización de cada prueba diagnóstica en las muestras oculares y nivel de utilidad de cada una de ellas. Las barras amarillas indican un nivel I de utilidad, las azules un nivel II y las verdes un nivel III.

Todas las abreviaturas se encuentran descritas en la página correspondiente al inicio de esta memoria, excepto AP: citologías vítreas analizadas por el Laboratorio de Anatomía Patológica del IOBA.

Ordenadas según la rentabilidad diagnóstica, las pruebas que consiguieron un nivel de utilidad I fueron las siguientes:

- **IgG anti *Malaria*: 1/1 (100%)**
- **GW para *Toxoplasma gondii*: 4/5 (80%)**
- **GW para *Rubéola*: 3/5 (60%)**

- **IgG anti *Rubéola***: 4/8 (50%)
- **IgG anti *Toxoplasma gondii***: 4/9 (44,44%)
- **Secuenciación**: 2/6 (33,33%)
- **Cultivo vítreo**: 2/9 (22,22%)
- **Citología vítrea**: 3/23 (13,04%)
- **PCR para CMV** 4/39 (10,26%)
- **PCR para Eubacterias** 2/29 (6,89%)
- **PCR para EBV** 2/37 (5,40%)
- **PCR para hongos** 1/24 (4,17%)

5.4. ANÁLISIS DE LOS COSTES Y BENEFICIOS DE LAS PRUEBAS

5.4.1. Coste por muestra y paciente

El coste medio de todas las pruebas realizadas por muestra fue de 462,33 ± 155,37€ para las 43 muestras analizadas.

Analizando el coste por niveles de utilidad, el coste medio en el caso de las muestras con un nivel de utilidad I fue de 470 ± 161,59€, en las muestras con nivel de utilidad II el coste medio fue de 490,56 ± 133,48€ y en las de nivel de utilidad III fue de 370 ± 178,89€. En la comparación de estas medias no se encontró diferencias significativas.

El coste medio de la suma de todas las pruebas realizadas por paciente fue de 537,30 ± 232,89 € para los 37 pacientes del estudio.

Si se desglosa el coste medio por paciente según el nivel de utilidad, en el nivel I el coste medio fue de 516,67 ± 206,74€, en el nivel II de 519,41 ± 190,67€ y en el nivel III de 660 ± 413,94€. La comparación de estas medias no evidenció diferencias estadísticamente significativas.

5.4.2. Beneficios de las pruebas

Tomando como referencia los costes publicados por Adán et al.,¹¹ como ya se ha explicado anteriormente, los beneficios económicos estimados para los pacientes de este estudio que tuvieron una muestra ocular que confirmó el diagnóstico etiológico y orientó el tratamiento (nivel de utilidad I) fueron los siguientes (expresado por paciente y un año):

- Uveítis anterior: 2.811,17€ - 516,67€ = 2294,50 €
- Uveítis intermedia: 6.889,17€ - 516,67€ = 6372,50€
- Uveítis posterior: 15.919,52€ - 516,67€ = 15402,80€
- Panuveítis: 18.922,35€ - 516,67€ = 18405,68€

En resumen, en el caso de una prueba diagnóstica con nivel de utilidad I, el beneficio estimado en este estudio se encuentra entre 2294,5 y 18405,88 € por paciente y año. Los mayores beneficios se alcanzan en los casos de uveítis posteriores y panuveítis.

6. DISCUSIÓN

La uveítis anterior suele ser la forma de presentación más frecuentemente descrita en la mayoría de los estudios epidemiológicos.¹ Sin embargo, los pacientes incluidos en este trabajo presentaron, en cuanto a la **localización anatómica** de la inflamación, una alta proporción de uveítis posterior y panuveítis, representando en conjunto un 58% de los casos. Esta diferencia se justifica por dos razones, la primera es un probable sesgo de selección debido a que el curso natural, frecuentemente benigno, y la habitual respuesta a tratamientos tópicos, hacen que las uveítis anteriores sean una patología minoritaria en un centro de referencia de uveítis como el IOBA. La segunda razón es que la mayor frecuencia y mayor gravedad de complicaciones en las uveítis posteriores y panuveitis hace que éstas sean más susceptibles de procedimientos diagnósticos invasivos. Esta última razón también justifica que el **curso evolutivo** del 88% de las muestras oculares de nuestro estudio sea crónico o recurrente.

Las **complicaciones** asociadas a la toma de muestras oculares suelen ser más frecuentes en la vitrectomía que en la paracentesis de cámara anterior,^{3,4,7-10} lo que es coincidente con nuestro estudio, donde solo se presentaron complicaciones asociadas a la vitrectomía diagnóstica y terapéutica. Con una frecuencia del 9,3%, las complicaciones registradas fueron menos frecuentes de lo que está publicado en la literatura (rango, 12,4-64,3%),⁷⁻¹⁰ Esta variabilidad probablemente esté asociada a la experiencia y habilidad del cirujano.

En cuanto al **número medio de pruebas** realizadas en las muestras oculares, no se observó diferencias significativas en los 3 niveles de utilidad. Esto significa que la probabilidad de realizar un diagnóstico etiológico no está asociada a la cantidad de pruebas que se soliciten, sino que el factor decisivo parece ser el criterio clínico en el que se debe apoyar la selección de las pruebas que tengan más posibilidades de obtener un rendimiento diagnóstico.

En el análisis global, de las 43 muestras analizadas, en 18 se obtuvieron resultados con **nivel de utilidad I**, lo que significa que en casi el 50% de las muestras se logró confirmar el diagnóstico etiológico. Este resultado confirma que el análisis de muestras intraoculares, al menos en nuestro medio, es un aspecto que puede ser crucial para confirmar o descartar una etiología infecciosa en la uveítis. Se trata, no obstante, de un porcentaje más elevado que el que se describe en muchos de los estudios publicados.⁵⁻

¹⁰ Una de las razones que explicaría esta diferencia radica en que, en algunos de estos estudios, se incluyen uveítis crónicas sin presunción diagnóstica. Sin embargo, en nuestro estudio, se tomaron muestras en uveítis con un diagnóstico presuntivo de uveítis infecciosa, por lo que los pacientes ya habían pasado una preselección basada en características clínicas, epidemiológicas o serológicas sugestivas de infección, lo cual eleva las probabilidades pre-muestra de obtener resultados positivos.

Entre las pruebas que con más frecuencia arrojaron resultados con nivel de utilidad I, es decir, que confirmaron el diagnóstico etiológico, se encuentran el **GW para *Toxoplasmosis y Rubéola***, con un 80% y un 60% de rendimiento diagnóstico, respectivamente. La utilidad del GW en el diagnóstico de la uveítis por toxoplasma está ampliamente descrita en la literatura. En la serie de Fardeau et al.,¹² el estudio del humor acuoso con GW detectó la toxoplasmosis ocular en 25 de 34 pacientes inmunocompetentes, aunque ninguno de los pacientes inmunosuprimidos presentó GW positivo. De forma similar, Rothova demostró la gran utilidad del GW en humor acuoso para confirmar el diagnóstico presuntivo de toxoplasmosis ocular en pacientes inmunocompetentes (en 34 de los 37 pacientes), mientras que fue de menor utilidad en los pacientes inmunosuprimidos (4 de los 7 pacientes).⁶ Por otra parte, en los últimos años, cada vez más estudios confirman la asociación entre la uveítis de Fuchs y la rubéola, mediante la detección de este patógeno en fluidos oculares. Por ejemplo,

Ruokonen et al.¹³ investigaron la presencia del virus de la *Rubéola* en 63 pacientes con ciclitis heterocrómica de Fuchs y encontraron que el 100% de las muestras de humor acuoso presentaban GW positivo para este patógeno, mientras que fue negativo para los 46 pacientes control.

Las **pruebas que se realizaron con mayor frecuencia** fueron la PCR de la familia herpes (incluyendo VHS-1 y 2, VVZ, CMV y EBV). Se realizaron en entre el 86-90% de todas las muestras analizadas en este estudio. Sin embargo, solo resultaron positivas el 10% de las PCR para CMV y el 5% de las PCR para EBV, mientras que no se identificó ningún caso positivo para VHS 1, VHS-2 y VVZ. Estos resultados contrastan con la literatura publicada, que posiciona a la uveítis herpética entre las principales causas de uveítis identificables en los países desarrollados.¹ Uno de los motivos de esta diferencia se debería a que el rendimiento diagnóstico de la PCR para las uveítis virales es mayor cuanto más alta es la probabilidad pretest (por ejemplo, es mayor en un paciente con características clínicas típicas que en los que tienen hallazgos atípicos). Debido a que estas pruebas se realizaron en casi la totalidad de los pacientes, probablemente una alta proporción de ellos no presentaba las características clínicas herpéticas típicas, sino que lo que se perseguía era excluir más que confirmar. Otro de los factores limitantes descritos en la literatura es el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas, siendo más probable encontrar resultados positivos cuando la toma de la muestra se realiza en las primeras semanas.⁵ Este factor cobra importancia cuando el 60% de las muestras analizadas en este estudio provenían de uveítis crónicas.

En cuanto a la **PCR para *Mycobacterium tuberculosis***, arrojó resultados negativos en el 100% de los 12 casos en que se realizó, por lo que no se pudo confirmar ningún diagnóstico de tuberculosis ocular por este método. Según el estudio publicado por Arora et al.,¹⁴ la PCR de *Mycobacterium tuberculosis* en humor acuoso resultó ser bastante específica (solo 1 de 17 muestras del grupo de control con uveítis de otra etiología y ninguna de las 15 muestras de controles sanos resultó positiva), aunque solo fue positiva en el 37% de los casos de tuberculosis presunta. Según este autor, la baja sensibilidad de la PCR en muestras oculares para *Mycobacterium tuberculosis* podría estar relacionada con la baja carga bacteriana debida a la naturaleza paucibacilar de esta enfermedad.

El **estudio citológico del vítreo** reveló resultados positivos en 7 casos (30,43% de todas las muestras que se sometieron a esta prueba). Sin embargo, el hecho de que 4 de los 7 resultados positivos no hayan orientado el diagnóstico ni el tratamiento pone en evidencia que la evaluación citológica del vítreo puede llegar a ser un desafío. Existen varios factores que se deben tener en cuenta para mejorar las probabilidades de llevar a un diagnóstico certero. Entre ellos, una buena coordinación entre el quirófano y el laboratorio y un transporte apropiado de la muestra, que permita que ésta llegue en las mejores condiciones. Asimismo, es necesaria una buena comunicación entre el oftalmólogo y el patólogo, que permita a éste último conocer cuál es la sospecha clínica, para ajustar la selección de las técnicas diagnósticas. Finalmente, debido al gran componente subjetivo de esta prueba, es importante que la interpretación de la muestra sea realizada por parte de un patólogo experimentado.

Aunque el análisis citológico del vítreo está descrito principalmente como método diagnóstico del linfoma intraocular primario, también existen artículos que describen su utilidad en el diagnóstico de las infecciones intraoculares. Por ejemplo, en el artículo publicado por Boulagnon et al.,¹⁵ lograron diagnosticar una causa infecciosa mediante la combinación de hallazgos clínicos, microbiológicos y citológicos en 7 casos de 55 que fueron sometidos a vitrectomía por un proceso inflamatorio intraocular.

El **cultivo del vítreo** sigue siendo el gold estándar de cualquier proceso infeccioso. Sin embargo, las muestras oculares suelen ser escasas y con un bajo inóculo, factores que limitan la utilidad de esta técnica diagnóstica. La sensibilidad del cultivo para el diagnóstico de uveítis infecciosas crónicas ha sido descrito entre el 16,7 y el 96%.¹⁶ Las mayores sensibilidades se encontraron en los casos de endoftalmitis postoperatoria o endógena crónica. En nuestro estudio, el cultivo del humor vítreo solo obtuvo 2 muestras con nivel de utilidad I de las 9 que se evaluaron. En ambos casos, y coincidiendo con la literatura publicada, se trató de endoftalmitis (bacteriana y fúngica), situaciones en las que la carga microbiana, y por lo tanto las probabilidades de crecimiento en cultivo, suele ser mayor que en otros casos de uveítis.

El diagnóstico de uveítis bacterianas mediante serología es infrecuente y, por otro lado, el cultivo es un proceso prolongado con rendimiento diagnóstico limitado. La **PCR de bacterias** ofrece, por el contrario, la ventaja de realizar un diagnóstico rápido sobre

muestras de escaso volumen y baja carga microbiana como son los fluidos oculares. Sin embargo, en nuestra serie solo el 6,89% de las PCR de bacterias arrojó un resultado con nivel de utilidad I. Probablemente este resultado se deba a que la PCR de Eubacterias utilizada en este trabajo es un método de diagnóstico para detectar bacterias comunes (*estreptococos*, *estafilococos*, *pseudomonas*), las cuales tienen una baja prevalencia como agente etiológico de uveítis crónica o recurrente, como es el caso de la mayoría de las uveítis que integran este estudio.

Recientemente, Drancourt et al.¹⁷ publicaron un estudio en el que describen una alta prevalencia de **bacterias intracelulares (“fastidious”)** en uveítis de etiología desconocida. Según este estudio, de 1520 muestras evaluadas, encontraron una causa infecciosa en 147 (11,1%), de las cuales 78 (53%) se trataba de bacterias intracelulares como espiroquetas, especies de *Bartonella*, *Tropheryma whippelii*, *clamidia*, *rickettsia* y *Coxiella burnetii*. Estos resultados contrastan con los de nuestro estudio ya que, a pesar de que se investigaron PCR para *Coxiella burnetii*, *Bartonella* y *Rickettsia*, así como IgG anti *Tropheryma whippelii* y anti *Borrelia burgdorferi*, los resultados fueron negativos en todos los casos. La diferencia entre los dos estudios podría radicar en que, mientras que Drancourt et al. analizaron estos patógenos de forma sistemática en todas las muestras, nosotros solamente nos delimitamos a los casos en los que había una sospecha clínica, epidemiológica o serológica pre-muestra que sustentaba la realización de la prueba. Esta situación se dio, únicamente, en 7 de las 43 muestras analizadas. De hecho, no se recurría a una muestra intraocular si la serología ofrecía un diagnóstico probable.

Finalmente, con respecto a **la valoración económica**, en este estudio se ha demostrado que la realización de pruebas diagnósticas en muestras oculares con un nivel de utilidad I puede suponer un ahorro económico de entre 2294,5 y 18405,68€ por paciente y año.

El mayor beneficio corresponde a las uveítis posteriores y panuveítis (15402,8 y 18405,68€, respectivamente), debido a que se trata de las uveítis con mayor frecuencia y mayor gravedad de complicaciones asociadas.

Sin embargo, no se ha incluido en el análisis económico los costes de tratamiento de las uveítis infecciosas debido a la gran heterogeneidad de tratamientos que se

encuentran en este grupo, aunque podemos asumir que el coste sería muy inferior al de las uveítis infecciosas, debido a que no se trata de un tratamiento crónico, sino de un curso o dos de antibióticos, cuyo precio suele ser mucho más accesible que el de los inmunosupresores y que, además, curarían la enfermedad. También habría que tener en cuenta el coste de causas infecciosas cuyo tratamiento es más largo, como es el caso de la tuberculosis (entre 9 y 12 meses) o en el de gérmenes que pueden tratarse, pero no eliminarse totalmente (como el *toxoplasma* o los virus de la familia herpes). En todo caso, estos tratamientos son siempre considerablemente más económicos que el coste global de los inmunosupresores.

No existe, a día de hoy, un consenso sobre las indicaciones para tomar muestras intraoculares para el estudio etiológico de las uveítis, por lo que frecuentemente estos procedimientos quedan limitados al criterio del oftalmólogo involucrado. Sin embargo, este trabajo demuestra que el análisis de las muestras intraoculares es una herramienta útil para llegar a un diagnóstico etiológico en el caso de sospecha de uveítis infecciosa.

De acuerdo a los resultados de este estudio, creemos que las uveítis susceptibles de técnicas de diagnóstico invasivas son las que presentan criterios clínicos, epidemiológicos o serológicos que sugieran una etiología infecciosa, principalmente *rubéola* o *toxoplasma*, debido a que estas pruebas son las que mayor rendimiento diagnóstico ofrecen. También son susceptibles de realizar análisis de las muestras intraoculares, las uveítis posteriores y panuveítis crónicas o recurrentes en las que, tras haber completado una evaluación serológica y de otro tipo de pruebas, no se consigue llegar a un diagnóstico etiológico. En estos casos, un diagnóstico etiológico certero comporta no solo beneficios clínicos evidentes, ya que una uveítis inmune o idiopática se asocian a mayor frecuencia y mayor gravedad de complicaciones, sino también beneficios económicos, debido a que el coste del tratamiento crónico cuando estas patologías son diagnosticadas como idiopáticas suele ser bastante elevado.

Este trabajo presenta varias **limitaciones**. Para empezar, se trata de un estudio con un bajo tamaño de muestra, debido a que la uveítis es una patología con baja incidencia en la población general. Otra limitación es la imposibilidad de determinar la

sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de las pruebas realizadas, debido a que no ha sido posible clasificar a la totalidad de los pacientes en grupos de sanos o grupo de enfermos, lo cual es necesario para poder calcular estos valores.

Por otro lado, el cálculo de los costes del tratamiento de los pacientes diagnosticados de uveítis idiopática no se realizó de forma individualizada con los datos de los pacientes que integran este estudio, sino que se tomaron como referencia los datos publicados en un artículo que estima los costes del tratamiento de las uveítis no infecciosas en España.¹¹ Por lo tanto, se trata de un cálculo de costes no individualizados, sino estimados de forma general.

Por último, tampoco se realizó un análisis de los costos del tratamiento en el caso de los pacientes diagnosticados de uveítis infecciosa, por lo que no es posible comparar este coste con el del tratamiento de las uveítis idiopáticas

7. CONCLUSIONES

1. Se ha desarrollado un sistema de gradación en tres niveles de utilidad de las pruebas de laboratorio en muestras intraoculares para el diagnóstico de seguridad de uveítis de sospecha infecciosa. Dicho sistema han permitido decidir si una determinada prueba diagnóstica había contribuido o no a un mejor manejo del paciente.
2. La evaluación de la contribución de las pruebas diagnósticas en muestras oculares para el diagnóstico etiológico de las uveítis de sospecha infecciosa ha permitido alcanzar un diagnóstico etiológico en casi el 50% de las muestras evaluadas (nivel I de utilidad), permitiendo la curación en la mayoría de estos pacientes.

Además, en otro porcentaje también cercano al 50% (nivel II de utilidad), ha permitido orientar el tratamiento aunque se no hubiera llegado a un diagnóstico del germen causante.

3. La relación entre el coste de la realización de las pruebas diagnósticas en las muestras oculares y el ahorro económico que significa tener un diagnóstico etiológico infeccioso resulta en un beneficio estimado de entre 2294,5 y 18405,68€ por paciente al año. Es por lo tanto, económicamente rentable.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Miserocchi E, Fogliato G, Modorati G, et al. Review on the worldwide epidemiology of uveitis. *Eur J Ophthalmol*. 2013;23:705–17.
2. De Smet MD, Taylor SR, Bodaghi B, et al. Understanding uveitis: the impact of research on visual outcomes. *Prog Retin Eye Res*. 2011;30:452–70.
3. Trivedi D, Denniston A, Murray P. Safety profile of anterior chamber paracentesis performed at the slit lamp. *Clinical and Experimental Ophthalmology* 2011; 39: 725–8
4. Van der Leij A, Rothova A. Diagnostic anterior chamber paracentesis in uveitis: a safe procedure? *Br J Ophthalmol*. 1997;81(11):976-9.
5. De Groot-Mijnes JD, Rothova A. Polymerase chain reaction and Goldmann-Witmer coefficient analysis are complementary for the diagnosis of infectious uveitis. *Am J Ophthalmol*. 2006;141:313-18.
6. Rothova A, de Boer J. Usefulness of aqueous humor analysis for the diagnosis of posterior uveitis. *Ophthalmology*. 2008;115(2):306-11
7. Mruthyunjaya P, Jumper JM, McCallum R, et al. Diagnostic yield of vitrectomy in eyes with suspected posterior segment infection or malignancy. *Ophthalmology*. 2002;109(6):1123–9.
8. Palexas GN, Green WR, Goldberg MF, Ding Y. Diagnostic pars plana vitrectomy: report of a 21-year retrospective study. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1995;93:281–308.
9. A. Davis JL, Miller DM, Ruiz P. Diagnostic testing of vitrectomy specimens. *Am J Ophthalmol*. 2005;140(5):822–9.
10. A. Margolis R, Brasil OF, Lowder CY, et al. Vitrectomy for the diagnosis and management of uveitis of unknown cause. *Ophthalmology*. 2007;114(10):1893–7.
11. Adán-Civera AM, Benítez-Del-Castillo JM, Blanco-Alonso R. Burden and direct costs of noninfectious uveitis in Spain. *Reumatol Clin*. 2016;12(4):196-200.
12. Fardeau C, Romand S, Rao NA, et al. Diagnosis of toxoplasmic retinochoroiditis with atypical clinical features. *Am J Ophthalmol*. 2002;134(2):196–203.
13. Ruokonen PC1, Metzner S, Ucer A. Intraocular antibody synthesis against rubella virus and other microorganisms in Fuchs' heterochromic cyclitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2010;248(4):565-7.
14. Arora SK, Gupta V, Gupta A. Diagnostic efficacy of polymerase chain reaction in granulomatous uveitis. *Tuber Lung Dis*. 1999;79(4):229-33.
15. Boulagnon C, Ducasse A, Patey M. Cytopathology of vitreous humor samples in routine practice. *Acta Cytol*. 2016;60(1):65-73.
16. Bispo PJ, Melo GB, d'Azevedo PA, et al. Culture proven bacterial endophthalmitis: a 6-year review. *Arq Bras Oftalmol*. 2008;71(5):617–22.
17. Drancourt M, Berger P, Terrada C. High prevalence of fastidious bacteria in 1520 cases of uveitis of unknown etiology. *Medicine (Baltimore)*. 2008 May;87(3):167-76.

ANEXO I



COMISION DE INVESTIGACION

Universidad de Valladolid

Dña. M^a Paz García García como **Secretaria de la Comisión de Investigación** del Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid,

CERTIFICA

Que el TFM titulado “**ANÁLISIS COSTE-BENEFICIO DE LAS PRUEBAS DE BIOLOGIA MOLECULAR UTILIZADAS EN EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE LAS UVEÍTIS**” con número de registro 09/2015 de Dña. Soledad Peña, se encuentra en el momento de la última reunión de la Comisión de Investigación de 12 de noviembre de 2015

Aprobado

Pendiente de

Y para que así conste expido el presente certificado.

En Valladolid, a 18 de noviembre de 2015

A handwritten signature in blue ink that reads 'M. Paz García García'.

Fdo.: M^a Paz García García
Secretaria de la Comisión de Investigación

ANEXO II

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

Nº paciente		
Edad extracción		
Fecha nacimiento		
Género	masculino	femenino

Código muestra						
Fecha toma de muestra						
Finalidad muestra	Diagnóstica			Diagnóstica y terapéutica		
Tipo muestra	Humor acuoso			Humor vítreo		
Ojo	Derecho			Izquierdo		
Tipo de prueba	PCR	Secuenciación	cultivo	Serología intraocular	GW	citología
Resultado	Positivo			Negativo		
Nivel de utilidad	I		II		III	
Laboratorio	IOBA			externo		

Fecha comienzo síntomas						
Fecha diagnóstico sindrómico						
Fecha 1º visita IOBA						
Agudeza visual premuestra						
Diagnóstico premuestra	anatómico	UA	UI	UP	PAN	
	lateralidad	unilateral			bilateral	
	curso	Agudo		recurrente	crónico	
Diagnóstico postmuestra						
Complicaciones						



AUTORIZACIÓN DEL TUTOR PARA LA EXPOSICIÓN PÚBLICA DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

(Art. 6.2 del Reglamento de la UVA sobre la Elaboración y Evaluación del Trabajo Fin de Máster)

D./Dña. Roberto Reinoso Tapia

en calidad de Tutor/a del alumno/a

D. /Dña. María Soledad Peña

del Máster en: Subespecialidades Oftalmológicas

Curso académico: 2015-2016

CERTIFICA haber leído la memoria del Trabajo de Fin de Máster titulado
"Utilidad del análisis de las muestras intraoculares en el diagnóstico de las uveítis "
y estar de acuerdo con su exposición pública en la convocatoria de Septiembre

En Valladolid a 30 de Agosto de 2016

Vº Bº

Fdo.: Roberto Reinoso Tapia

El/La Tutor/a



AUTORIZACIÓN DEL TUTOR PARA LA EXPOSICIÓN PÚBLICA DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

(Art. 6.2 del Reglamento de la UVA sobre la Elaboración y Evaluación del Trabajo Fin de Máster)

D./Dña. Margarita Calonge Cano

en calidad de Tutor/a del alumno/a

D. /Dña. María Soledad Peña

del Máster en: Subespecialidades Oftalmológicas

Curso académico: 2015-2016

CERTIFICA haber leído la memoria del Trabajo de Fin de Máster titulado
"Utilidad del análisis de las muestras intraoculares en el diagnóstico de las uveítis "
y estar de acuerdo con su exposición pública en la convocatoria de Septiembre

En Valladolid a 30 de Agosto de 2016

Vº Bº

Fdo.: Margarita Calonge Cano

El/La Tutor/a