

1-1-2017

Patrones de resistencia antimicrobiana de la microbiota ocular en adultos jóvenes

Luz Stella Rodríguez Mora
Universidad de La Salle

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/optometria>

Citación recomendada

Rodríguez Mora, L. S. (2017). Patrones de resistencia antimicrobiana de la microbiota ocular en adultos jóvenes. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/optometria/261>

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias de la Salud at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Optometría by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**PATRONES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE LA MICROBIOTA
OCULAR EN ADULTOS JÓVENES**

LUZ STELLA RODRÍGUEZ MORA - 50132003

AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN

DIRECTORA

MARTHA FABIOLA RODRÍGUEZ ÁLVAREZ

BACTERIOLOGA, MSc

MODALIDAD DE GRADO: PARTICIPACIÓN EN PROYECTO DE
INVESTIGACIÓN APROBADO:

*ETNOMEDICINA UNA ALTERNATIVA EN LA SELECCIÓN DE PLANTAS
COLOMBIANAS Y SU RELACION CON LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL in vitro*

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE OPTOMETRÍA
BOGOTÁ D.C. - OCTUBRE 2017

NOTA DE ACEPTACIÓN

JURADO

JURADO

FECHA

DEDICATORIA

A Dios

Por permitirme alcanzar esta meta, por acompañarme en todo este camino y por todos los días llenarme de bendiciones y fuerza para seguir adelante, por permitirles a mis padres estar a mi lado y por permitirme conocer personas y lugares únicos y maravillosos.

A mi padre

Por haberme dado la oportunidad de tomar este camino, por permitirme ser profesional, por apoyarme en cada decisión tomada, por enseñarme a ser comprensiva y darme tan valiosos consejos.

A mi madre

Por acompañarme en todo este proceso e impulsarme a ser cada día mejor.

A mis familiares

A mis hermanos, cuñada, sobrinos, primos y tíos que estuvieron dispuestos a ayudarme en cada etapa de la carrera, que me ayudaron como pacientes y que gracias a ellos aprendí algo nuevo. A mi abuelita, que le doy gracias solamente por existir.

A los docentes

A cada docente que conocí, porque de ellos logré sacar lo mejor, por permitirme aprender de cada uno, por dejarme cuestionar y por guiarme en mi camino como profesional.

A la Dra. Martha Fabiola, por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto, por impulsarme a participar en diferentes eventos y por ejemplificarme el significado de una mujer trabajadora.

A mis amigos

A Vanessa, por acompañarme como siempre, a Leidy, por compartir conocimiento, a Juliana, Yisel y Nataly, por los años de amistad.

A Carlos

Por estar conmigo siempre, por ser mi paciente y el de los demás, por mostrarme el lado bello de la vida y por siempre creer en mí.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas las personas que hicieron posible este trabajo, a cada persona que aceptó ser parte de él, a las que les generó interés y vieron en él algo más que un requisito.

Agradecerle a Dios por la vida y por las oportunidades, por la paciencia que este trabajo contiene y por el esfuerzo colocado.

También agradezco a mis padres por la compañía y por la oportunidad, a mis sobrinos que los adoro y fueron una gran motivación, a mis hermanos y todos mis familiares.

A la Doctora Martha Fabiola por mostrarme este “lado oculto” de la optometría, por permitirme hacer parte de este proyecto, por enseñarme con paciencia todos los procedimientos y por orientarme en todas las oportunidades.

Por último, agradezco a todas las personas que estuvieron en condición de ayudarme, Yisel y Juliana por acompañarme las tardes de laboratorio y a cada persona que me colaboró con el más mínimo detalle, porque sin duda, estos fueron los más valiosos.

TABLA DE CONTENIDO

Contenido

RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
MARCO TEÓRICO	11
MATERIALES Y MÉTODOS	14
Tipo de estudio:	14
Muestra:	14
Aspectos éticos:	15
Técnicas y procedimientos:	15
Cultivo:	15
Identificación microbiológica:	15
Antibiograma:	15
Análisis estadístico:	16
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES	26
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	27
ANEXOS	30
ANEXO N.1	30

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cepas aisladas de la conjuntiva sana de jóvenes adultos.

Tabla 2. Fenotipos meticilino resistentes (SAMR, SMR) y multiresistentes (resistente a más de tres familias de antibióticos).

LISTA DE GRÁFICAS

Figura 1. Perfil de resistencia antimicrobiana de *S. epidermidis*.

Figura 2. Perfil de resistencia *S. aureus*.

Figura 3. Perfil de resistencia *S. hominis*.

Figura 4. Perfil de resistencia otros ECoN.

RESUMEN

La microbiota conjuntival varía de acuerdo a la edad, el ambiente, ubicación geográfica y los métodos de identificación. El género *Staphylococcus* es el más prevalente, en el cual la especie *S. epidermidis* es la más frecuentemente aislada en la microbiota conjuntival y como agente etiológico de las conjuntivitis bacterianas, en parte por la adquisición de genes de patogenicidad y de resistencia a los antibióticos. La resistencia de los estafilococos coagulasa negativo ha sido encontrada frente a penicilina, eritromicina, cloranfenicol y tetraciclina, así como a las fluoroquinolonas como oxifloxacina y levofloxacina. **Objetivo:** Identificar los patrones de resistencia antimicrobiana de la microbiota ocular en adultos jóvenes. **Materiales y métodos:** 69 sujetos adultos se les tomó una muestra del fondo de saco conjuntival, con hisopo de algodón estéril y se cultivaron a 37°C por 24 horas. La identificación de las colonias se realizó mediante el sistema automatizado VITEK y el perfil de resistencia antimicrobiana se realizó por el método de Kirby Bauer **Resultados:** el 27,3% muestras no crecieron, se obtuvo un total de 58 aislamientos los cuales de los cuales se identificaron 56 aislamientos. Las bacterias más frecuentes fueron *S. epidermidis* 53,6% *S. Hominis* 8,7% y *S. aureus* 5,8%. Se encontró 5 cepas resistentes a la meticilina; y el mayor porcentaje de resistencia de todos los aislamientos fue hacia la eritromicina 59,3% lincomicina 47,2% tetraciclina 24,3% y oxacilina 18,9%. **Conclusiones:** *S. epidermidis*, es la bacteria más frecuente en la conjuntiva de jóvenes adultos en este estudio. Los perfiles de resistencia muestran la importancia de realizar control y monitoreo de la resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas del ojo.

Palabras clave: *microbiota, ocular, Staphylococcus, resistencia antimicrobiana, fenotipo meticilino resistente.*

ABSTRACT

Conjunctival microbiota varies according to age, environment, geographic location and identification methods. The *Staphylococcus* genus is the most prevalent, in which the species *S. epidermidis* is the most frequently isolated in the conjunctival microbiota and as an etiologic agent of the bacterial conjunctivitis, in part by the acquisition of pathogenicity and antibiotic resistance genes. The resistance of coagulase-negative staphylococci has been found against penicillin, erythromycin, chloramphenicol and tetracycline, as well as fluoroquinolones such as oxyfloxacin and levofloxacin. **Objective:** Identify antimicrobial resistance patterns of ocular microbiota in young adults. **Materials and methods:** 69 adult subjects were sampled from the conjunctival sac with sterile cotton swab and cultivated at 37 ° C for 24 hours. The identification of the colonies was carried out using the automated VITEK system and the profile of antimicrobial resistance was performed by the Kirby Bauer method. **Results:** 27.3% samples did not grow, a total of 58 isolates were obtained, of which 56 isolates were identified. The most frequent bacteria were *S. epidermidis* 53.6% *S. hominis* 8.7% and *S. aureus* 5.8%. We found 5 strains resistant to methicillin; and the highest percentage of resistance of all the isolates was to erythromycin 59.3% lincomycin 47.2% tetracycline 24.3% and oxacillin 18.9%. **Conclusions:** *S. epidermidis*, is the most frequent bacterium in the conjunctiva of young adults in this study. Resistance profiles show the importance of controlling and monitoring the antimicrobial resistance of bacteria isolated from the eye.

Keywords: microbiota, ocular, *Staphylococcus*, antimicrobial resistance, methicillin-resistant phenotype

INTRODUCCIÓN

En la conjuntiva sana, como las otras mucosas que están expuestas al ambiente, se encuentran microorganismos que cumplen con la función de proteger y evitar que otros patógenos se establezca en los tejidos y generen daño, a este grupo de microorganismos se les denomina microbiota ocular.^{1,2} La microbiota ocular hace referencia a una colección de microorganismos, especialmente bacterias que habitan en la conjuntiva y los párpados principalmente, esta cambia dependiendo de la edad, las condiciones ambientales y las de salud.^{3,4}

La importancia de conocer cuáles son las bacterias que permanecen en la conjuntiva ocular ha hecho que se realicen diversos estudios donde se identifican y se conoce en qué porcentaje se encuentran estos microorganismos. Las bacterias más frecuentemente aisladas son *Staphylococcus coagulasa negativo* (ECN) seguidos por *Propionibacterium sp.*, *Corynebacterium*los, *Micrococus* y *S. aureus*.^{4,5} Aunque en estos estudios, no se han aislado ningún tipo de microorganismos en la conjuntiva de algunos sujetos, esto puede deberse a los métodos de asilamiento y cultivos empleados.

Dong Q. y colaboradores⁶ han identificado una gran diversidad y cantidad de géneros de bacterias en la conjuntiva de sujetos sin patología ocular, mediante técnicas moleculares a partir de la amplificación del gen del rRNA 16s. Reportaron un total de 115.003 genes, identificando el 87.9% con alta prevalencia de *Pseudomonas*, *Propionibacterium sp*, *Bradyrhizobieum* y *Staphylococcus*, algunos de los cuales no se habían encontrado anteriormente con métodos convencionales, por lo tanto es necesario el empleo de nuevas tecnologías para identificar cuáles son los género que realmente constituyen la microbiota ocular.

La importancia de la identificación de la microbiota ocular, radica en que en la actualidad estas bacterias son los agentes etiológicos más importantes en las patologías del segmento anterior. Por ejemplo, *S. epidermidis* un ECN, es la bacteria más aislada en casos de conjuntivitis.⁷ El uso generalizado de los antibióticos para

este tipo de infecciones juegan un papel importante debido a la aparición de cepas resistentes debido al uso indebido y excesivo por parte de los profesionales de la salud y de los pacientes además de la fácil adquisición de los mismos sin una prescripción médica.⁸

Se ha reportado que las bacterias aislados han adquirido resistencia a varios grupos de antibióticos que se usan a nivel ocular, como eritromicina, cloranfenicol, tetraciclina, cefalosporinas, gentamicina, tobramicina, amikacina, imipenem, meropenem, vancomicina y entre el grupo de las fluoroquinolonas (usadas generalmente como profilaxilacticos en cirugías oculares), resistencia a levofloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina y norfloxacina.^{9,10} Los estudios realizados confirman que los ECN, son en gran porcentaje susceptibles a la vancomicina y entre los antibióticos a los que presentan la mayor resistencia, con más del 70% son las penicilinas seguidas por la eritromicina, y para *Staphylococcus aureus* se ha encontrado mayor porcentaje de resistencia ante antibióticos como fluoroquinolonas, meticilina, oxacilina y azitromicina.^{5,9,11,12,16}

Con este estudio se busca aportar al conocimiento de la resistencia de antibióticos de la flora ocular en nuestro país, dando a los optómetras y oftalmólogos evidencia que ayudará al abordaje clínico de las infecciones oculares, el uso, comercialización de los antibióticos y el origen a nuevos estudios que aporten a la real problemática en el país en cuanto a la sobre-prescripción de antibióticos y su mal uso, con base en esto, el estudio va dirigido a identificar las especies bacterianas más frecuentes de la microbiota ocular y sus patrones de resistencia.

MARCO TEÓRICO

La microbiota ocular ha sido descrita por muchos años como una colección heterogénea de bacterias que reducen la oportunidad de que microorganismos potencialmente peligrosos se establezcan en los tejidos.^{1,2} Entre los principales microorganismos que colonizan la conjuntiva ocular se encuentran los

Staphylococcus coagulasa negativos (ECN) seguido por *Propionibacterium* y *Corynebacterium*³. Se encuentra que en varios estudios que los porcentajes de los *Staphylococcus coagulasa* negativo superan el 60% seguidos en porcentajes más bajos por los anteriores ya mencionados y niveles inferiores al 3% de *Staphylococcus aureus* y hongos.^{5,11,12}

La microbiota ocular varía de acuerdo a la edad y condiciones geográficas. Después del nacimiento la conjuntiva está compuesta de manera similar a la microbiota del cérvix, donde *Haemophilus vaginalis*, *S. viridans*, *S. epidermidis*, *Bacillus*, *Propionibacterium acnés*, *Escherichia coli*, *S. aureus* y *Candida* predominan, cuando el bebé nace por parto natural, pero si el nacimiento se da por cesárea, la cantidad de bacterias es mínima.³ En los primeros años de vida algunos microorganismos desaparecen, y en la conjuntiva como en los párpados se establecen principalmente *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Streptococcus*; al llegar a la segunda década, la microbiota está compuesta también por bacterias Gram negativas.^{2,3,4} Como en la edad, la microbiota ocular varía de acuerdo a la región, el clima e incluso condiciones de trabajo de los sujetos. La microbiota puede variar en pequeñas proporciones en bacterias como *S. epidermidis*, *S. aureus* y *diphtheroids* independiente de las poblaciones, según Parmeshri, los microorganismos difieren dependiendo del clima y del aumento de la edad, referencia que los porcentajes de conjuntiva estéril en países como Londres es de 47% en comparación con un 85% en India.¹³

La diversidad y cantidad de la flora conjuntival también varía de acuerdo a los métodos de identificación, los medios de cultivo y las condiciones que se usan para identificar las bacterias. El método tradicional se basa en agares de diferentes componentes que permiten el crecimiento de ciertas bacterias, por ejemplo el agar sangre permite el crecimiento de bacterias Gram positivas exigentes como *Corynebacterium*³, por otro lado, las técnicas moleculares permiten el reconocimiento de variedad de bacterias a partir de la amplificación del rRNA 16s, donde se ha encontrado también altos porcentajes de ECN, *Pseudomonas*,

Propionibacterium, *Acinetobacter* y de otras bacterias que no se han reportado con los métodos tradicionales como *Bradyrhizobium*.⁶ Este estudio reportó más de 115.003 genes de bacterias obtenidos de frotis de conjuntiva de sujetos sin patología ocular aparente en Florida, Estados Unidos, los autores identificaron el 87.9% de los microorganismos, dejando una proporción considerable de bacterias que aún no se han logrado reconocer; de manera que las investigaciones realizadas con pruebas moleculares también han mostrado gran diversidad en las bacterias que se encuentran en la conjuntiva de sujetos sanos.⁶

En general los estudios reportan que la mayoría de bacterias de la microbiota ocular son ECN, especialmente *S.epidermidis* que son calificados como patógenos oportunistas, ya que también están considerados como agentes etiológicos importantes del ojo, como endoftalmitis, blefaritis, conjuntivitis, etc.^{7, 14,15} Además se ha reportado que estas bacterias han adquirido resistencia a varios grupos de antibióticos que se usan a nivel ocular, como eritromicina, cloranfenicol, tetraciclina, cefalosporinas, gentamicina, tobramicina, amikacina, imipenem, meropenem, vancomicina y entre el grupo de las fluoroquinolonas, resistencia a levofloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina y norfloxacina.^{9,10} Los estudios realizados confirman que los ECN, son en gran porcentaje susceptibles a la vancomicina y entre los antibióticos a los que presentan la mayor resistencia, con más del 70% son las penicilinas seguidas por la eritromicina, y para los *Staphylococcus aureus* se ha encontrado mayor porcentaje de resistencia ante antibióticos como fluoroquinolonas, metilicina, oxacilina y azitromicina.^{5,9,11,12,16}

El estudio a nivel internacional sobre el monitoreo de resistencia antibiótica en microorganismos oculares ha reportado que las bacterias que son patógenos y pueden hacer parte de la flora normal, como *Streptococcus pneumoniae* resistentes a la azitromicina con un porcentaje mayor al 25% y en más bajos porcentajes a cloranfenicol y ceftriaxona, *Haemophilus influenzae* muestran sensibilidad ante antibióticos como besifloxacina, ciprofloxacina, moxifloxacina, cloranfenicol, penicilina y tobramicina con resistencia a la azitromicina y agentes como

Pseudomona aeruginosa no muestran susceptibilidad ante ceftazidima y tobramicina.¹⁷

En países como Corea se ha encontrado que el 41.3% de los *Staphylococcus coagulasa negativa* son sensibles a la meticilina y resistentes a la tobramicina, en Italia el 100% de cepas de *Staphylococcus aureus* son resistentes a la meticilina, 58% de *Staphylococcus epidermidis* resistentes a tobramicina y 75% fueron resistentes a la moxifloxacina.¹⁸ En Colombia se ha reportado que la mayoría de bacterias aisladas de infecciones oculares son resistentes a tobramicina, ciprofloxacina y levofloxacina y algunas cepas son resistentes a imipenem, moxifloxacina y gatifloxacina.¹⁹

La identificación microbiológica de las bacterias requiere un tiempo aproximado de 48 horas para la obtención de los resultados. En las últimas décadas se han desarrollado ayudas automatizadas que en un tiempo más reducido (entre 6 y 8 horas) identifican bacterias, además en el mismo tiempo se puede realizar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. El sistema VITEK identifica y estudia la sensibilidad antimicrobiana por medio de tarjetas con micro medios de cultivo que contienen indicadores para que el equipo detecte el cambio en su color. La concordancia entre métodos de identificación se ha encontrado de 94.3% y el tiempo de resultado ha sido mucho mejor²⁰

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: Se realizó un estudio observacional descriptivo de corte transversal.

Muestra: Se seleccionaron 69 adultos jóvenes, estudiantes universitarios, hombres y mujeres de 18 a 25 años que cumplían con los criterios de inclusión: segmento anterior del ojo sano, y exclusión: sujetos con cualquier enfermedad infecciosa, usuarios de lentes de contacto, o con tratamiento antibiótico en los últimos tres días antes de la toma de muestra.

Aspectos éticos: Todos los pacientes incluidos en la investigación firmaron el consentimiento informado en el cual de manera libre y voluntaria aceptaron participar en el estudio, con previa explicación detallada del procedimiento que se realizó y de los riesgos potenciales del mismo (Anexo N. 1). La información resultante de la participación fue confidencial, los registros fueron codificados para la obtención de resultados y en ellos nunca se utilizó el nombre del participante. Este material está en custodia de los investigadores.

Técnicas y procedimientos: Inicialmente se realizó un examen biomicroscópico para evaluar las estructuras oculares y descartar cualquier alteración o patología. Posteriormente se tomó una muestra, con intervalo de una semana, del fondo de saco conjuntival de un solo ojo seleccionado de acuerdo al resultado del examen con biomicroscopía, mediante un hisopo con punta de algodón estéril humedecido con solución salina fisiológica estéril, sin anestesia tópica.

Cultivo: Las muestras se cultivaron en agar sangre (Gibco) a 37°C por 24 horas. Se realizó tinción de Gram a las colonias y repique en agar tripticasa de soya o agar sangre (Gibco) en las mismas condiciones de temperatura y tiempo.

Identificación microbiológica: Las colonias aisladas se resuspendieron en 3,0 mL de solución salina estéril al 0,45%, pH 7,0 (Biomerieux, Marcy l'Etoile, France) en un tubo de ensayo de poliestireno transparente de 12 x 75 mm, hasta alcanzar una concentración de 1.5×10^8 bacterias, correspondiente al tubo N. 05 de McFarland, o según los requerimientos de cada tarjeta. La concentración se determinó con un VITEK® 2 DensiCHEK™ (Biomerieux, Marcy l'Etoile, France) previamente calibrado. Finalmente se colocó el tubo con la tarjeta correspondiente en el casete del equipo Vitek® 2 compact (Biomerieux, Marcy l'Etoile, France) para la identificación de género y especie. Para las bacterias Gram positivas se emplearon las tarjetas Vitek® 2- GP (Referencia 21342), Vitek® 2- BCL (Referencia 21342), y las tarjetas Vitek® 2- GN (Referencia 21341) para las bacterias Gram negativas.

Antibiograma: Método de Kirby Bauer: Se utilizó agar Mueller - Hinton a partir del reactivo comercial deshidratado y de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Inmediatamente después de autoclavar se va a dejó enfriar, se vertió el preparado fresco y tibio en cajas petri de vidrio, de fondo plano en un nivel de superficie horizontal para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm. El medio de agar se dejó enfriar a temperatura ambiente, se guardó en refrigerador (2 - 8° C) y se realizó la prueba de esterilidad.

Se tomaron de 3 a 5 colonias aisladas con ayuda de un escobillón estéril y se resuspendieron en solución salina (0,85%) estéril hasta alcanzar la concentración del tubo 0,5 de la escala de Mac Farland, correspondiente a $1,5 \times 10^8$ bacterias/ml, la cual se midió con el densiCHECK plus (BioMerieux). Posteriormente se adicionó 100ul de la dilución de las bacterias a una caja de agar Mueller Hinton y se sembró de manera masiva. Se colocaron por caja cinco sensidiscos con los respectivos antibióticos (Oxoid), Ampicilina 10µg, Gentamicina 10µg, Cefalexina 30µg, Tobramicina 10µg, Tetraciclina 30µg, Eritromicina 10µg, Ciprofloxacina 5µg. Las cajas se incubaron a 37 °C durante 24 horas y se midieron los halos de inhibición alrededor de los discos. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Análisis estadístico: Se realizó estadística descriptiva, obteniéndose porcentajes de cada género y especie aislada, así como los porcentajes de especies susceptibles o resistentes a cada uno de los antibióticos analizados.

RESULTADOS

Se tomaron un total de 69 muestras de sujetos entre edades de 18 y 25 años, de los cuales 66,7% (n: 23) fueron mujeres y 33,3% (n: 46) fueron hombres, esto en un periodo comprendido de 1 año y medio.

De las 69 muestras se encontró el *Staphylococcus epidermidis* como el microorganismo más presente en la microbiota ocular con un 53,6% seguido por el *Staphylococcus hominis* con un 8,7%, *Staphylococcus aureus* con un 5,8%, 4,3% de *Staphylococcus capitis* y 2,9% de *Staphylococcus warneri*. En menor porcentaje (1,4%) se encontró *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus haemolyticus*,

Acinetobacter Lwoffii y *Kocuria varians*, además no se lograron identificar 2,8% y no hubo crecimiento de 19 muestras equivalente a 27,3%. (Tabla 1)

Tabla 1. Cepas aisladas de la conjuntiva sana de jóvenes adultos.

Sujetos analizados	n=69	Porcentajes %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	37	53,6
<i>Staphylococcus hominis</i>	6	8,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	5,8
<i>Staphylococcus capitis</i>	3	4,3
<i>Staphylococcus warneri</i>	2	2,9
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	1,4
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1,4
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	1,4
<i>Kocuria varians</i>	1	1,4
No identificadas	2	2,8
Crecimiento negativo	19	27,3

Elaboración propia

Un total de 58 aislamientos a los cuales se les realizó identificación por VITEK, sin embargo 2 no se lograron identificar, por dificultad en el aislamiento de las colonias o por limitaciones en la base de datos del VITEK, dando como resultado 56 aislamientos a los cuales se les realizó identificación y perfil de susceptibilidad antimicrobiana.

Para el *S. epidermidis*, la mayor resistencia, 59,5%, se obtuvo frente a la eritromicina; el 47,2% de los aislados fue resistente a la lincomicina. Aunque en menor porcentaje, el 18.9% se encontró resistencia a la cefoxitina y oxacilina, 16,7%, a Tobramicina, 11,1% a trimetoprima/sulfametoxazol, y 10,8% a, vancomicina y gentamicina (Figura 1). Se encontraron 5 cepas fenotipo meticilino resistente y 10 cepas multiresistentes. (5 SMR y 6 SMS) (Tabla 2).

Tabla 2. Fenotipos meticilino resistentes (SAMR, SMR) y multiresistentes (resistente a más de tres familias de antibióticos).

M. O	N. de cepas total	Fenotipos Meticilino resistentes	Cepas multiresistentes y perfil de resistencia antimicrobiana			
<i>S. aureus</i>	4	1 cepa	2 cepas multiresistentes	SAMR	Resistente a oxacilina, cefoxitina, cefalotina;eritromicina, vancomicina y lincomicina	
				SAMS	Resistente a oxacilina, tetraciclina y lincomicina	
<i>S. epidermidis</i>	37	5 cepas	10 cepas multiresistentes	SMR	2	Cefoxitina/oxacilina, eritromicina, lincomicina
					1	Cefoxitina/oxacilina, eritromicina, lincomicina, tetraciclina
					1	Cefoxitina/oxacilina, gentamicina, eritromicina, lincomicina
					1	Cefoxitina/oxacilina
				SMS	1	Gentamicina/tobramicina, eritromicina, tetraciclina, lincomicina, ciprofloxacina
					1	Gentamicina, eritromicina, tetraciclina, lincomicina, STX
					2	Eritromicina, vancomicina, lincomicina
					1	Cefoxitina, eritromicina, lincomicina
					1	Oxacilina, eritromicina, lincomicina
<i>S. haemolyticus</i>	6	Ninguna	2 cepas multiresistentes	Eritromicina, vancomicina, lincomicina		
				Oxacilina, eritromicina, tobramicina, lincomicina		
Otros E.coiN	7	Ninguna	1 cepas multiresistente	Gentamicina, eritromicina, ciprofloxacina, lincomicina.		

Elaboración propia

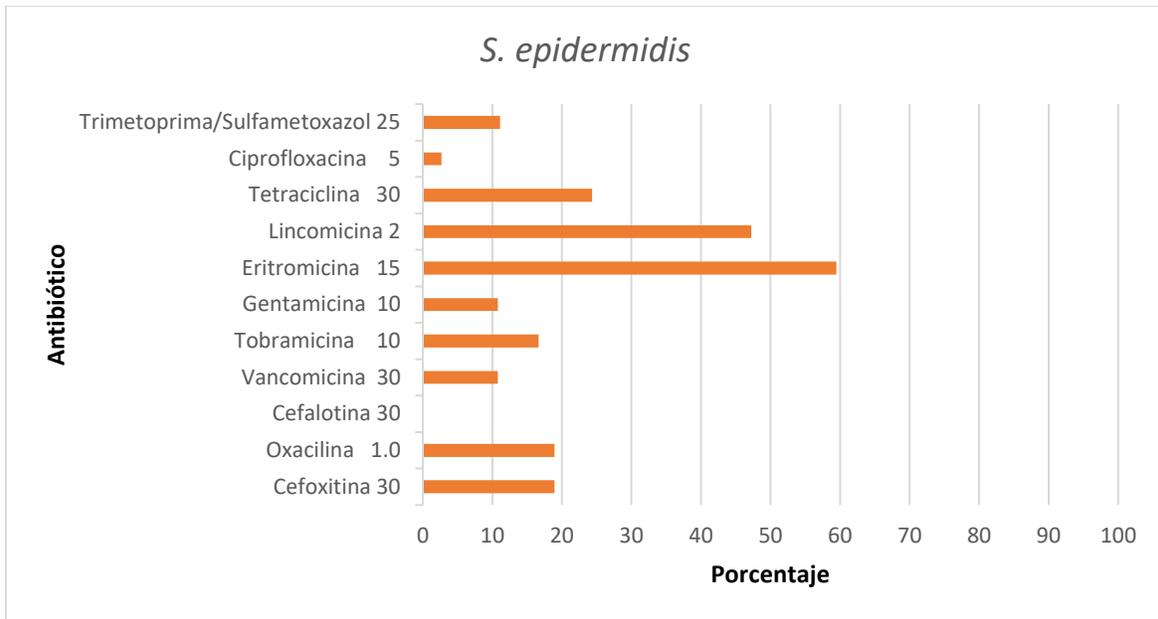


Figura 1. Perfil de resistencia antimicrobiana de *S. epidermidis*. Elaboración propia

Con el *S. aureus*, se obtuvo un porcentaje de resistencia de 50% frente a la oxacilina, tetraciclina y lincomicina y 25% de resistencia del a cefoxitina, eritromicina, cefalotina y vancomicina. Todas las cepas de *S. aureus* (4) fueron susceptibles a gentamicina, ciprofloxacina, tobramicina y trimetropin/sulfametoxazol. (Figura 2). Es importante destacar que a nivel internacional las cepas de *S. aureus* se les realiza monitoreo de susceptibilidad a la vancomicina, especialmente a aquellas con fenotipo meticilino resistente, en este proyecto, se identificó 1 cepa fenotipo meticilino resistente, resistente a vancomicina y 2 cepas multiresistentes (tabla 2)

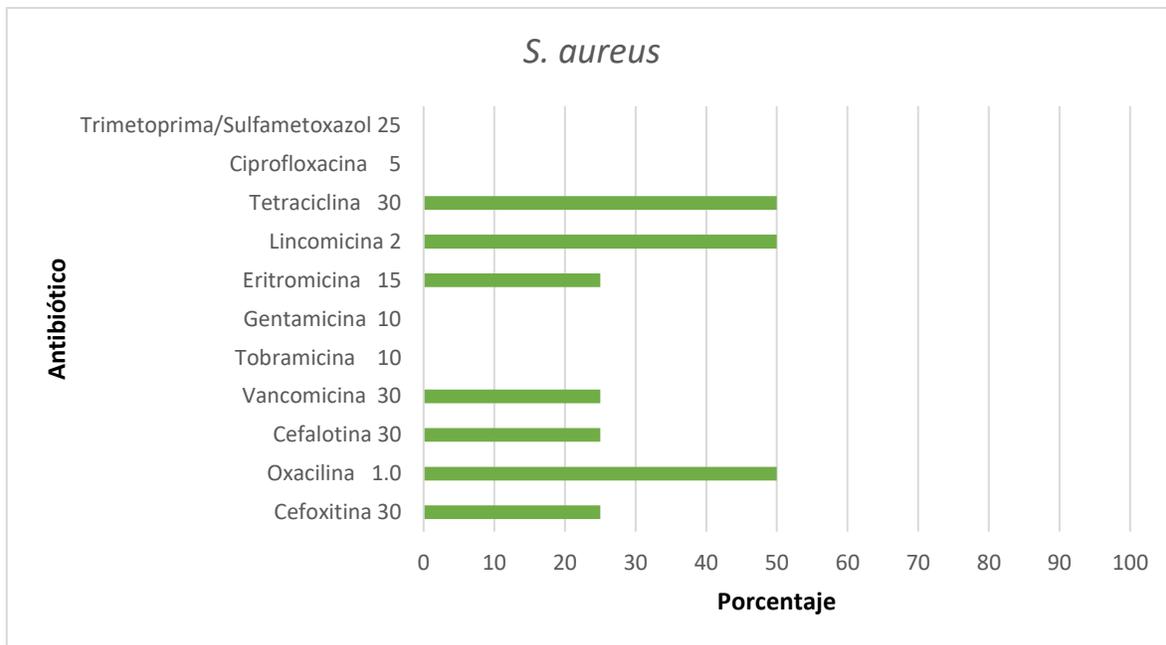


Figura 2. Perfil de resistencia *S. aureus*. Elaboración propia

Respecto al *S. hominis*, la eritromicina fue el antibiótico al que presentaron mayor resistencia con un 66,7%, seguido por la lincomicina 50%, vancomicina, 33.3%, y en menor porcentaje (16,7%) la tetraciclina y oxacilina. Los antibióticos con un 100% de efectividad fueron la cefoxitina, gentamicina, ciprofloxacina y trimetropin/sulfametoxazol (figura 3). No se encontraron cepas meticilino resistentes pero sí 2 cepas multiresistentes (Tabla 2)

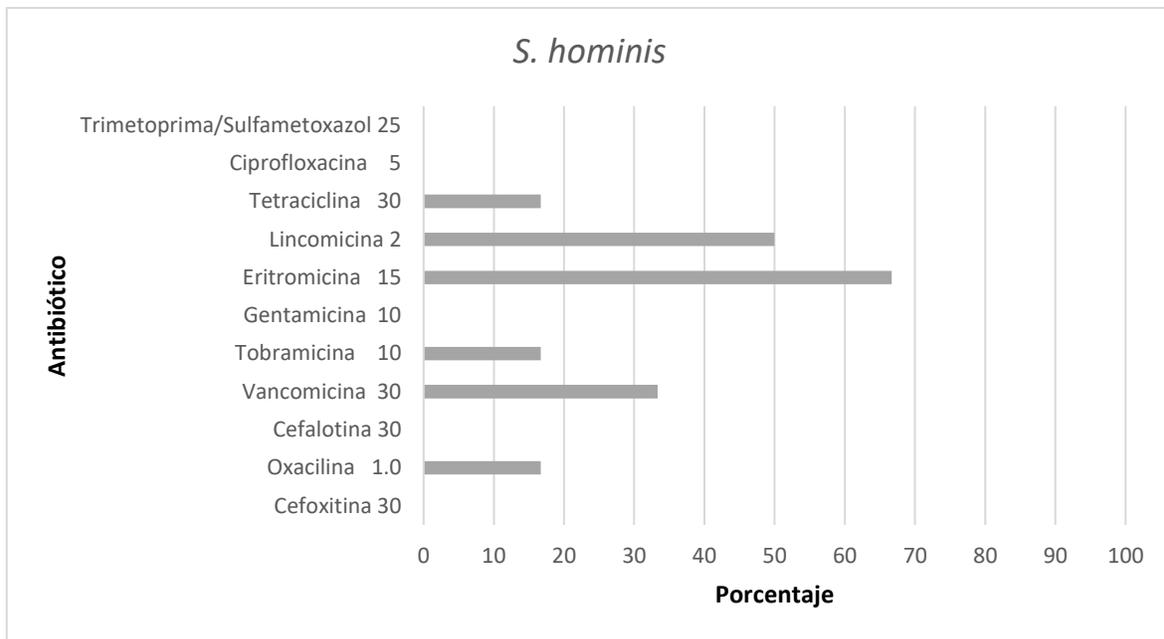


Figura 3. Perfil de resistencia *S. hominis*. Elaboración propia

Los aislamientos de los otros ECoN en los que se encuentran el *S. capitis*, *S. warneri*, *S. auricularis* y *S. haemolyticus* a los que se les realizó resistencia, evidencian porcentaje de resistencia hacia la oxacilina, gentamicina, eritromicina, lincomicina, ciprofloxacina y trimetropin/sulfametoxazol con un 14,3% y 100% de susceptibilidad a cefoxitina, cefalotina, vancomicina, tobramicina y tetraciclina (Figura 4). No se encontraron fenotipos meticilino resistentes sin embargo si se presentó una cepa multiresistente de *S. haemolyticus* y 5 cepas sensibles a todos los antibióticos analizados. (tabla2)

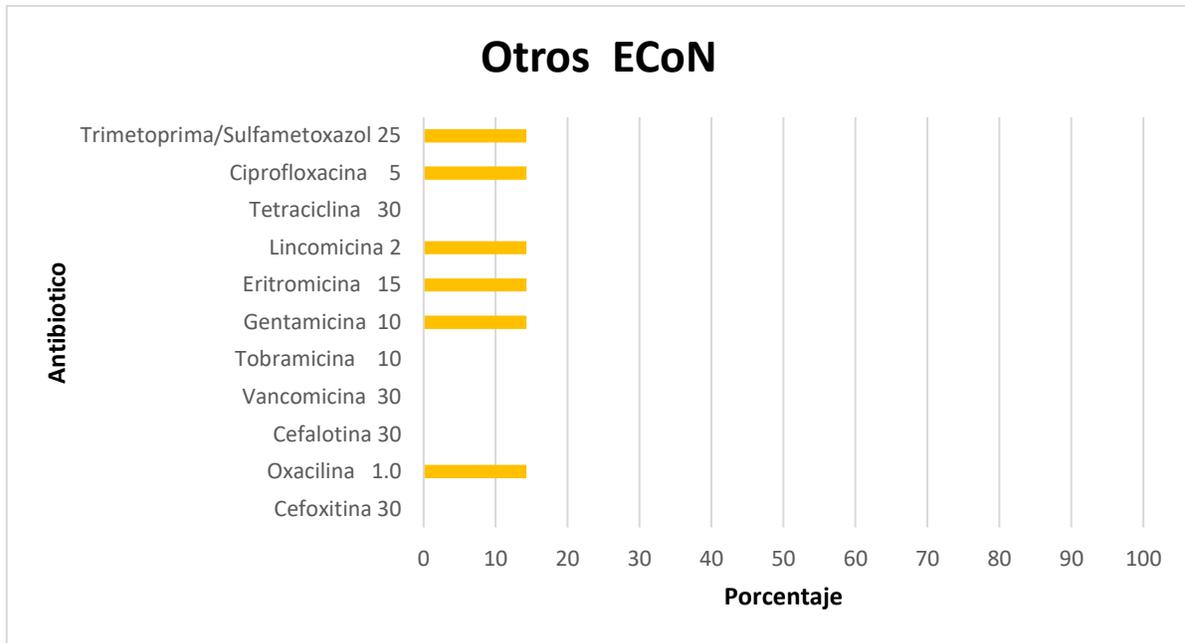


Figura 4. Perfil de resistencia otros ECoN. Elaboración propia

DISCUSIÓN

Se han realizado varios trabajos en la identificación de la microbiota ocular, pero ninguno ha sido publicado hasta el momento en Colombia.

Por medio de la identificación por VITEK se encontró que el principal microorganismo presente en la microbiota ocular de sujetos adultos jóvenes entre 18 - 25 años, que no tenían ninguna infección, no usaban lentes de contacto y tampoco estaban en tratamiento con antibióticos tópicos fue el *S. epidermidis* corroborando los datos encontrados en estudios similares^{3,5,11,12} y contradiciendo a Sthapit y colaboradores donde reportaron que a edades más tempranas, era más frecuente encontrar la especie *Streptococcus*, sin embargo hay que tener en cuenta otras condiciones como lo son el clima y el lugar geográfico. Adicionalmente, se encontraron más especies de ECN como fueron los *S. hominis*, *S. capitis*, *S. auricularis*, *S. warneri* y *S. haemolyticus* pertenecientes a la flora normal de la piel o siendo bacterias transitorias. La utilización de técnicas moleculares y sistemas automatizados de identificación microbiológica permitirán reconocer la verdadera diversidad de la microbiota ocular en futuros estudios.

Otro de los microorganismos que se lograron aislar fue el *Acinetobacter Wolffii* el cual es un microorganismo transitorio o perteneciente a la flora cutánea normal la cual pudo transportarse mediante algún tipo de contacto directo del mismo sujeto ubicándolo en el momento de la toma de la muestra.^{4,21} Puede adquirir genes de resistencia en condiciones hospitalarias generando infecciones nasocomiales.^{4, 22}

Respecto al *S. aureus*, como agente patógeno, se encontró en la microbiota ocular con un porcentaje de 5,8% (n: 4) de los cuales 1 cepa se identificó meticilino resistente a (oxacilina y cefoxitina)²³ y 2 cepas multiresistentes, una *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y *Staphylococcus aureus* meticilino sensible (SAMS) que fue resistente adicionalmente a cefalotina, eritromicina, tetraciclina, lincomicina y vancomicina; este último antibiótico, que en otros estudios reportaba 100% de susceptibilidad²³ en este caso reportó 25% de resistencia, notificándolo

como una cepa de *Staphylococcus aureus* vancomicina resistente²³, siendo este un problema relativamente nuevo pero un gran reto para lograr manejarlo.

Hay reportes donde se evidencia que *S. epidermidis* y *S. haemolyticus*, que pertenecen a la microbiota de piel y mucosas, tiene alto porcentaje de resistencia antimicrobiana y algunas cepas son meticilino resistentes,^{26,27} en este estudio se encontró que el 13,5% de los *S. epidermidis* eran meticilino resistentes, un porcentaje comparable con la literatura ²¹ y 27% fueron multiresistentes. Por lo tanto es importante continuar con el monitoreo a estas cepas meticilino resistentes y multiresistentes ya que se ha encontrado asociaciones entre la resistencia a múltiples fármacos y la presencia del casete cromosómico de estafilococo (SCC por sus siglas en inglés) donde se localiza el gen *mecA* el cual es el que le confiere la resistencia a la meticilina ²⁵, un gen que es transferible y por lo tanto genera un aumento de estos fenotipos resistentes.

De los otros ECN que se encontraron en la microbiota ocular y a los que se les realizó resistencia, no se encontró ninguna cepa meticilino resistente, sin embargo, se reportó una cepa multiresistente de *S. haemolyticus* que debe ser monitoreada por los argumentos antes dichos. Las cepas restantes (5) fueron sensibles a todos los antibióticos.

Un estudio realizado en Colombia¹⁵ donde manejó una población similar a la de este trabajo, coincide con que la mayor resistencia de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas fueron frente a la oxacilina (53%) y tetraciclina (23%), sin embargo las muestras de ese estudio fueron obtenidas de pacientes con infecciones oculares, lo que no logra ser totalmente comparable con el presente estudio.

Por otra parte, la gentamicina es uno de los antibióticos frecuentemente usado a nivel ocular, a nivel global la susceptibilidad alcanzó porcentajes del 95% frente a ECN en el estudio ARMOR, ^{17,24} y otros estudios indican susceptibilidad del *S. epidermidis* mayores al 80% frente a este antibiótico ^{5, 11,27}, en este estudio se encontró 89,2% de sensibilidad frente a la gentamicina siendo acorde a estudios realizados, además de encontrar 100% de efectividad frente a *S. aureus*. Otro de los antibióticos de los cuales se encontró más eficacia fue la ciprofloxacina con

menos de 15% de resistencia sólo para ECN ya que frente a las otras cepas como el *S. aureus* que contó con 100% de susceptibilidad. En contraste, el uso de la tobramicina como antibiótico frecuentemente usado, reporta resistencia hacia Gram positivos en un 85%, esto realizado en la clínica FOSCAL en el año 2014¹⁹, para este reporte los valores de resistencia de tobramicina no superan el 20%.

El uso y prescripción inadecuada de los antibióticos tópicos oculares por parte del profesional y también del paciente, la fácil adquisición de los antibióticos en farmacias sin ninguna prescripción médica y además de la inadecuada dosificación o tiempo de uso, están generando aumento en la resistencia de la microbiota ocular. Esto, está conllevando a generar nuevas cepas con fenotipos resistentes a antibióticos de uso frecuente como lo son la eritromicina, tetraciclinas y de esta manera a que los tratamientos de infecciones causadas por estos agentes no sean eficaces; además es importante tener en cuenta que las cepas valoradas son de aislados de conjuntiva normal, esto quiere decir que el paciente en algún momento tuvo un manejo inadecuado de antibióticos o que esta resistencia se obtuvo por transferencia y en el momento en el que se presente alguna inmunosupresión, estas bacterias potencialmente resistentes, generen en el complicaciones mayores debido a su patogenicidad.

Es importante recalcar que el número de sujetos analizados no logra alcanzar un número significativo. Para próximos estudios se busca tener una población más grande y también es necesario comprobar el fenotipo metilino resistencia con la detección del gen *mecA* así como se recomienda comprobar la resistencia a eritromicina vancomicina y tetraciclinas mediante pruebas moleculares.

CONCLUSIONES

El género más frecuente en la microbiota ocular *Staphylococcus* principalmente *S. epidermidis* (estafilococo coagulasa negativo) acorde a la literatura (Willcox M, Sthapit P, Tuladhar N.). El mayor porcentaje de las cepas de *Staphylococcus* fue resistente a las eritromicina, lincomicina y tetraciclinas y la mayor sensibilidad antimicrobina fue frente a la Gentamicina y ciprofloxacina.

Es importante destacar que las cepas de *S. aureus* el 25% (1) fueron resistentes a Vancomicina. Este antibiótico se caracteriza por tener una alta efectividad frente a este género de bacterias. Además 5 cepas de *S. epidermidis*, 1 cepas de *S. aureus* fueron fenotipo meticilino resistentes, es necesario realizar la identificación del gen *mecA* para confirmar el fenotipo. (Futuros trabajos de investigación)

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ¹ Smith C. Bacteriology of the healthy conjunctiva. *Brit. J. Ophthal.* 1954; 38, 729 – 726.
- ² Osato M. Normal Ocular Flora. *Ocular Microbiology.* 1996; 191- 198
- ³ Willcox M. Characterization of the normal microbiota of the ocular Surface. *Experimental Eye Research.* 2013; 117, 99- 104
- ⁴ Sthapit P, Tuladhar N. Conjunctival Flora of Normal Human Eye. *JSM Ophthalmol.* 2014; 2(2), 1-5
- ⁵ Moss J. Sanislo S. Ta C. Antibiotic Susceptibility Patterns of Ocular bacterial flora in patients undergoing intravitreal injections. *American Academy of Ophthalmology.* 2010; 117 (11), 2141-2145
- ⁶ Dong Q, Brutc J, Iovteno A, Bates B, Garoutte A, Miller D. Diversity of Bacteria at Healthy Human Conjunctiva. *IOVS.* 2011; 52 (8), 5408-5413
- ⁷ Rodríguez P. Quintero G. Etiología bacteriana de infecciones oculares externas. *NOVA.* 2003. 1(1), 57-64.
- ⁸ Philip S. Multidrug-Resistant Organisms and Antibiotic Management. *Surg Clin N Am* 92 (2012) 345–391.
- ⁹ Ta Christopher, Chang R. Singh K. Egbert P. Shriver E. Blumenkranz M. Kaspar H. Antibiotic Resistance Patterns of Ocular Bacterial Flora. A Prospective Study of Patients Undergoing Anterior Segment Surgery *American Academy of Ophthalmology.* 2003; 110 (10), 1946 – 1951.
- ¹⁰ Stephen J. Hassanain S. Ophthalmic Antibiotics and Antimicrobial Resistance. *American Academy of Ophthalmology.* 2011; 118 (7), 1358 – 1363.
- ¹¹ Hsu H. Lind J. Tseng L. Miller D. Ocular Flora and Their antibiotic resistance patterns in the Midwest: A prospective study of patients undergoing cataract surgery. *Ophthalmol.* 2013. 155 (1), 36-44
- ¹² Hsu J. Gerstenblith A. Garg S. Vander J. Conjunctival Flora Antibiotic Resistance Patterns After Serial Intravitreal Injections Without Postinjection Topical Antibiotics. 2014. 157 (3), 514-518

- ¹³ Parmeshri S. Neelam S. Ravinder G. Parul S. Aerobic bacterial flora of the normal conjunctiva at high altitude area of Shimla Hills in India: a hospital based study. *Int J Ophthalmol*. 2013; 6 (5), 723-726.
- ¹⁴ Bharathi M. Shivakumar C. Meenaskshi R. Lionalraj D. Etiology and antibacterial susceptibility pattern of community-acquired bacterial ocular infections in a tertiary eye care hospital in south India. *Indian J Ophthalmol*. 2016; 58, 497-507.
- ¹⁵ Rodriguez P. Gaitan G. Lautero D. Rodriguez L. Rodriguez H. Prevalencia de *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* en pacientes con conjuntivitis. *Universitas Scientiarum*. 2005; 10(2), 47-54.
- ¹⁶ Dorrepaal S. Gale J. Defrawy S. Sharma S. Resistance of ocular flora to gatifloxacin in patients undergoing intravitreal injection. *Can J Ophthalmol*. 2014; 49 (1), 66-71.
- ¹⁷ Haas W. Pillar C. Torres M. Morris T. Sahm D. Monitoring antibiotic resistance in ocular microorganisms: Results From the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular Microorganisms (ARMOR) 2009 Surveillance Study. *Am J Ophthalmology*. 2011; 152, 567-574.
- ¹⁸ Hsu HY1, Lind JT, Tseng L, Miller D. Ocular Flora and Their Antibiotic Resistance Patterns in the Midwest: A Prospective Study of Patients Undergoing Cataract Surgery. *Am j Ophthalmology*. 2013; 623-624.
- ¹⁹ Galvis V. Tello A. Guerra A. Acuña M- Villareal D. Sensibilidad antibiótica de bacterias obtenidas de queratitis e infecciones intraoculares en la Fundación Oftalmológica de Santander (FOSCAL), Floridablanca, Colombia. *Biomédica*. 2014. 34 (1), 23-25.
- ²⁰ Romeu, B. Salazar, P. Navarro, A. Lugo, D. Hernández, U. Rojas, N, Eslava, C. Utilidad del sistema VITEK en la identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de bacterias aisladas de ecosistemas dulceacuícolas. *Revista CENIC: Ciencias biológicas*. 2010; 41, 1-9.
- ²¹ Fariña N. Carpinelli L. Samudio M. Guillén R. Laspina R. Abente S. Rodas L. González P y Kaspar H. *Staphylococcus coagulasa-negativa* clínicamente significativos. Especies más frecuentes y factores de virulencia. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud Asunción, Paraguay. 2013. Pág. 480-488

- ²² Baldeo C. Isache C. Baldeo C. Bajwa A. A case of disseminated intravascular coagulation secondary to *Acinetobacter lwoffii* and *Acinetobacter baumannii* bacteremia. ID cases. Volume 2, Issue 3, 2005, Pages 70-71.
- ²³ Zarate E. Quilca I. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. Rev. Med. Hered 14 (4), 2013. Pág 195-203
- ²⁴ Asbell P. Sanfilippo C. Pillar C. Antibiotic Resistance Among Ocular Pathogens in the United States. Five-Year Results From the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular Microorganisms (ARMOR) Surveillance Study. JAMA Ophtalmol 133. 1445-1454. 2015
- ²⁵ Martins A. Moraes D. Camargo C. Pereira V. Sampaio R. Lourdes M. Cunha R. Antimicrobial resistance and persistence of *Staphylococcus epidermidis* clones in a Brazilian university hospital. Diagnostic microbiology and infectious disease. Pag. 164-168
- ²⁶ Martin V. Jaimes V. Rodríguez M. Caracterización de la microbiota conjuntival transitoria y residente de adultos jóvenes. Cien. Tecnol. Salud. Vis. Ocular. Pág. 37-45. 2017
- ²⁷ Chirinos P. Graue H. Hernandez J. Navas A. Ramírez A. Romero L. Vizuet L. Ortiz M. López N. Gaona C. Bautista L. Bautista V. Perfil microbiológico y sensibilidad a antibióticos de microorganismos aislados de infecciones conjuntivales en el instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana. Reporte del año 2012. Revista Mexicana de Ofatalmología. 2014; 88 (2) 73-77

ANEXOS

ANEXO N.1
CONSENTIMIENTO INFORMADO
UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD CENTRO DE INVESTIGACIÓN CISVI
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS GRUPO BIOMIGEN

PATRONES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE LA MICROBIOTA OCULAR EN ADULTOS JÓVENES

Apreciado participante le estamos invitando a formar parte de este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado, siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La microbiota (bacterias que se reproducen en un tejido sano sin ocasionar patología) de la conjuntiva se ha estudiado principalmente con técnicas microbiológicas y bioquímicas convencionales, lo cual limita la identificación real en cuanto a diversidad y por lo tanto se desconoce su susceptibilidad microbiana. El presente trabajo de investigación hace parte del macroproyecto titulado “*Etnomedicina una alternativa en la selección de plantas colombianas y su relación con la actividad antibacterial in vitro*” que busca a través del conocimiento de las plantas medicinales nuevos antimicrobianos naturales, financiado por el centro de investigación CSIVI de la Universidad de La Salle

BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Aumentar el conocimiento científico y clínico acerca de la diversidad y susceptibilidad microbiana de la microbiota conjuntival en los jóvenes adultos escolares; este será un estudio base para promover este conocimiento en el país, dado que no se conoce la totalidad de géneros bacterianos saprofitos o patógenos que están presentes en la conjuntiva y si su susceptibilidad microbiana este contribuyendo a la patogénesis de las infecciones oculares. Estos resultados además servirán para que se pruebe *in vitro* la actividad antimicrobiana de los extractos de plantas medicinales, como base científica que ayudará a validar la práctica de la medicina tradicional como patrimonio cultural. Este proyecto no tiene ningún interés económico directo para los investigadores y las instituciones que representa, el único beneficio es de carácter académico.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos, se examinará el segmento anterior del ojo con la lámpara de hendidura (dispositivo óptico usado para la exploración de las estructuras de la porción anterior del ojo) y posteriormente se obtendrá la muestra de la conjuntiva mediante un frotis (muestra de fluido corporal) del fondo del saco conjuntival con un escobillón estéril.

RIESGOS PARA LOS PARTICIPANTES

La obtención de la muestra de la conjuntiva se realizará mediante un frotis del fondo del saco

conjuntival con un escobillón estéril, esta prueba es en principio un procedimiento exento de riesgo y sus posibles complicaciones son las mismas que las de cualquier frotis conjuntival, como irritación ocular y lagrimeo. El examen con lámpara de hendidura del segmento anterior no tiene ningún riesgo potencial conocido.

CONFIDENCIALIDAD

La información resultante de su participación es confidencial, los registros serán codificados para la obtención de resultados y en ellos nunca se utilizará su nombre. Este material estará en custodia de los investigadores.

ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.
- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa a este documento.

FORMATO CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____ identificado (a) con cédula de ciudadanía No. _____ de _____ Manifiesto que he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

Deseo conocer los resultados de la muestra utilizada de este proyecto. Si ___ No ___

FIRMA DEL PARTICIPANTE

FIRMA DEL TESTIGO

DECLARACIÓN JURAMENTADA DEL INVESTIGADOR

Yo certifico, que he explicado en forma individual la naturaleza y propósito del estudio, la metodología, los beneficios potenciales y riesgos, además de haber respondido todas las preguntas que han surgido.

FIRMA Y NOMBRE DEL RESPONSABLE DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

INFORMACIÓN DE LOS INVESTIGADORES

En caso de tener alguna duda o reclamo sobre el procedimiento que se va a realizar, comuníquese a los siguientes números y/o correos electrónicos.

Director: MARTHA RODRÍGUEZ	LUZ STELLA RODRIGUEZ
Bacterióloga MSc Profesor Asistente UNISALLE	Estudiante Optometría VIII semestre UNISALLE
mafarodriguez@unisalle.edu.co	luzsrodriguez03@unisalle.edu.co
3488000 Ext 116	3488000 Ext 116

Investigador Principal macroproyecto: LUDY PABÓN	Coinvestigador macroproyecto: PATRICIA HERNÁNDEZ
Química MSc Profesor Asistente UNISALLE	Bióloga, Esp, MSc Profesor Asistente UNISALLE
lupabon@unisalle.edu.co	phernandez@unisalle.edu.co