

11234



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA
FUNDACIÓN CONDE DE VALENCIANA**

***ESTUDIO COMPARATIVO DE UN COMPLEJO
OXICLORADO VS. OFLOXACINA EN EL TRATAMIENTO
DE ÚLCERAS BACTERIANAS INDUCIDAS EN
CÓRNEAS DE CONEJO***

**TESIS DE POSTGRADO
QUE PARA OBTENER EL
DIPLOMADO DE ESPECIALIDAD EN
OFTALMOLOGÍA
PRESENTA LA:
DRA. LILIANNA LLAMAS MONDRAGÓN**

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. ALEJANDRO CLIMENT-FLORES**



MÉXICO, D.F.

2005

m341696



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

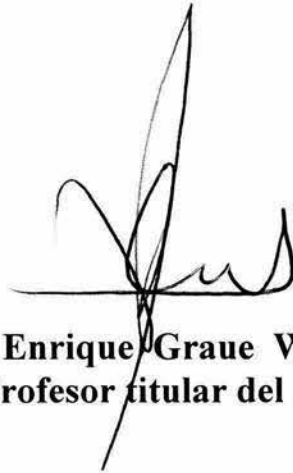


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.




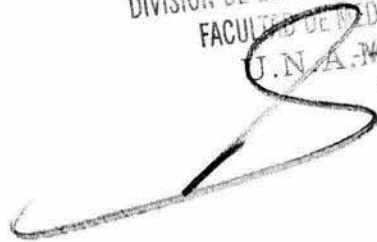
Dr. Enrique Graue Wiechers
Profesor titular del curso



Dr. Alejandro Climent Flores
Médico adscrito del servicio de cornea
Director de tesis



SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
J.N.A.M.S.



Dra. Claudia Murillo Correa
Jefe de enseñanza



INSTITUTO DE
OFTALMOLOGIA
FUNDACION CONDE DE VALENCIANA
JEFATURA DE ENSEÑANZA
Chimalpopoca 14 México 8, D. F.
Col. Obrera

PROFESOR TITULAR
DR. RAÚL S. SUAREZ SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS
DR. ALEJANDRO CLIMENT FLORES

JEFE DE ENSEÑANZA
DRA. CLAUDIA E. MURILLO CORREA

**ESTUDIO COMPARATIVO DE UN COMPLEJO OXICLORADO VS.
OFLOXACINA EN EL TRATAMIENTO DE ÚLCERAS BACTERIANAS
INDUCIDAS EN CORNEAS DE CONEJO**

**COMPARATIVE STUDY BETWEEN AN OXICHLORIDE COMPLEX VS.
OFLOXACIN IN THE TREATMENT OF BACTERIAL CORNEAL ULCERS IN
RABBITS**

AUTORES:

Dr. Alejandro Climent-Flores Médico adscrito del Departamento de Cornea .
Jefe de Microbiología Ocular. Instituto de Oftalmología Fundación Conde de
Valenciana..

Dra. Liliana Llamas-Mondragón. Residente de 2º año del Instituto de
Oftalmología Fundación Conde de Valenciana.

Chimalpopoca # 14 Colonia obrera CP. 06080

Tel. 55 88 44 22

lilillamas@hotmail.com

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE:

PROPÓSITO: Demostrar la efectividad de un complejo oxiclorado (Parjilox) vs. Ofloxacina y compararlo contra placebo y combinación (Ofloxacina-Complejo oxiclorado) en úlceras corneales por *Pseudomona aeruginosa* en conejos .

MÉTODOS: Se inocularon 72 conejos con 50,000 UFC de *Pseudomona aeruginosa*. Se dividieron de acuerdo a la severidad de la queratitis infecciosa en 4 grupos de 18 conejos cada uno : Grupo I con complejo oxiclorado , Grupo II ofloxacina , Grupo III de Ofloxacina mas complejo oxiclorado. Grupo IV grupo control. Se evaluó la evolución clínica y la cantidad de colonias remanentes

RESULTADOS: Se demostró disminución del numero de colonias principalmente en la combinación , no se encontraron diferencias en el crecimiento de colonias en los conejos con monoterapia .Se observó mejoría clínica tanto con el complejo Oxiclorado como con la Ofloxacina. La combinación de ambos medicamentos a diferencia de su uso individual demostró una mejoría estadísticamente significativa en la mayoría variables clínicas.

CONCLUSIONES: Se demostró que la efectividad del complejo oxiclorado es similar al de la ofloxacina y que al asociar un antibiótico de amplio espectro con un complejo oxiclorado se incrementa su rapidez y eficacia en úlceras corneales bacterianas.

PALABRAS CLAVE:

Pseudomona aeruginosa, Úlceras corneales, complejo oxiclorado, ofloxacina

SUMMARY AND KEY WORDS

PURPOSE: Evaluate the effectiveness of a new anti-infective solution (oxichloride complex- Parjilox) vs Ofloxacin and compare it with placebo and a combination of both solutions(Ofloxacin-Parjilox) in rabbit corneal ulcers induced by *Pseudomona aeruginosa*

MATERIALS AND METHODS: *Pseudomona aeruginosa* keratitis was induced in the right eye of 72 rabbits with 50,000 colony forming units of viable *Pseudomona aeruginosa*. The rabbits were divided into four groups of 18 rabbits each for treatment:

Group I Ofloxacin treatment , group II Parjilox treatment, Group III combination of Ofloxacin and Parjilox, group IV untreated control. Clinical outcome and number of colony forming units were evaluated

RESULTS: An important decrease of colony forming units and clinical improvement were found mainly with the combination of both solutions . There were no differences in colony growth with the individual use of both solutions with the oxichloride complex (Parjilox) and Ofloxacin. The combination of both solutions unlike their individual use demonstrated a statistically significant clinical improvement in most variables

CONCLUSIONS: We concluded that the activity of the oxichloride complex is similar to Ofloxacin. The association of a wide spectrum antibiotic with the oxichloride complex (Parjilox) increases the effectiveness against bacterial corneal ulcers by *Pseudomonas aeruginosa*.

KEY WORDS

Pseudomonas aeruginosa, corneal ulcers, oxichloride complex, Ofloxacin

INTRODUCCIÓN :

Las úlceras corneales pueden ser de origen infeccioso o estéril y requieren intervención inmediata para prevenir complicaciones. La cornea tiene numerosos mecanismos para prevenir su infección de bacterias potencialmente patógenas. Estos mecanismos dependen de la integridad del epitelio corneal y un flujo lagrimal apropiado. Adicionalmente las lisozimas, y los anticuerpos en la lágrima tienen una acción antibacteriana.¹

El riesgo anual de queratitis ulcerativa en usuarios de lentes de contacto ha sido de 13.3 a 20.9 casos por cada 10,000 usuarios de lentes de contacto blandos de uso prolongado¹

Una vez que las bacterias han invadido el estroma corneal la respuesta del huésped es iniciada por leucocitos polimorfonucleares que además de fagocitar y destruir la bacteria también producen metabolitos tóxicos que pueden contribuir con la destrucción progresiva de la cornea¹.

La severidad de la infección corneal usualmente depende de las condiciones previas de la cornea, y la patogenicidad del microorganismo¹.

En los Estados Unidos ocurren 30,000 casos de queratitis ulcerativa y la mayoría de ellos tienen un componente bacteriano²

La *Pseudomona aeruginosa* ha sido descrita como una de las principales causas de infección bacteriana en la cornea humana³. La *Pseudomona aeruginosa* es reconocida como la causa principal de las infecciones corneales inducidas por lentes de contacto^{3,4}. Esto se ve especialmente en usuarios de lentes de contacto de uso prolongado³.

El daño corneal puede ser atribuido tanto a factores del huésped como del patógeno. Produce muchas toxinas que originan daño corneal, mientras que las proteasas liberadas por neutrófilos (elastasa especialmente) son altamente destructivas del epitelio corneal⁶.

La *P. Aeruginosa* es un patógeno Gram - ubicuo en el medio ambiente, produce exotoxina -A que inhibe la síntesis de proteínas y es capaz de producir una pérdida de epitelio corneal y opacidad de la cornea.

La infección corneal inducida por la *Pseudomona aeruginosa* se presenta típicamente como un infiltrado estromal rápidamente progresivo y exudado purulento

Hay una necrosis coagulativa amarillenta rodeada de edema epitelial es característica. El tamaño de la úlcera se incrementa rápidamente y hay pérdida importante del estroma corneal. Usualmente se encuentra también hipopión y la formación de un Descemetocèle posteriormente ocurre la perforación¹.

La infección se puede extender rápidamente en todas direcciones sin tratamiento y puede involucrar la esclera o bien puede ocasionar destrucción y perforación corneal.¹

La *Pseudomona* alcanza el estroma anterior por un proceso de adhesión y migración transepitelial. Su invasión a las células epiteliales la hace a su vez resistente a las defensas del huésped. El proceso de adherencia y penetración al estroma corneal tarda una hora. Su invasión intraestromal es

mediada por metaloproteinasas. La degradación del colágeno empieza a las 8-16 hrs. después de iniciada la infección. La formación de una úlcera corneal requiere precisamente de la degradación de colágeno que forma el estroma corneal¹.

Se ha demostrado que el nivel de transmisión de oxígeno a través de los lentes de contacto determina la adhesión de *P. Aeruginosa* a la cornea después de que el lente de contacto es usado por 24 hrs. Puede ocurrir daño al epitelio corneal en respuesta a un mecanismo de hipoxia producido por lentes de contacto de uso prolongado⁴. Tiene un potencial disminuido de infección en corneas sanas. La *Pseudomona* se adhiere de manera ávida al epitelio corneal traumatizado⁵.

Por otro lado se ha demostrado que la *P. Aeruginosa* es resistente a la lactoferrina y liosozima de la lágrima. La destrucción corneal por parte de éste microorganismo puede suceder en 24 hrs.¹.

La necrosis es ocasionada principalmente por la exotoxina A por parte de la *Pseudomona* que además atrae neutrófilos al sitio de infección⁶.

Si este proceso continua hay una destrucción corneal total y ocurrirá la perforación.

La neovascularización y la síntesis de fibras de colágeno de manera desorganizada restauran la integridad corneal, sin embargo hay pérdida de la claridad corneal¹.

Los síntomas incluyen disminución de la agudeza visual, dolor edema, hiperemia y secreción.¹

La historia del paciente y signos clínicos son insuficientes para realizar un diagnóstico bacteriológico específico.

El diagnóstico oportuno y la terapia antimicrobiana son las piedras angulares para el tratamiento de las queratitis bacterianas.

El tratamiento de infecciones e infestaciones comprende el uso de antisépticos que habitualmente actúan precipitando a las proteínas con las que interactúan; antibióticos son sustancias sintetizadas naturalmente por bacterias u hongos y los quimioterapéuticos sintetizados por el hombre cuyo ejemplo clásico son las sulfonamidas⁷.

Los antibióticos y quimioterapéuticos pueden combatir la infección ocasionando lisis en la pared del microorganismo (bactericidas) o impidiendo su reproducción (bacteriostáticos).

Actualmente ya no se da tanta importancia a dividirlos según su actuación contra gérmenes gram positivos, negativos o de amplio espectro, pues en gran parte depende de las concentraciones utilizadas y es diferente su acción *in vitro* que *in vivo*⁸.

El tratamiento de las úlceras corneales tiene 2 finalidades: erradicación de la bacteria y supresión de la respuesta inflamatoria generada por el microorganismo.

El complejo oxiclorado es un nuevo medicamento que se utilizó en forma inicial como componente en soluciones desinfectantes de los lentes de contacto sin necesidad de retirarlos del ojo utilizados en Italia y aprobado por la comunidad europea para su venta. Este producto fue probado en

animales para su uso seguro y eficaz en humanos, observándose en ese entonces una buena respuesta en cuanto actividad bactericida en virtud de bloqueo de formación de microorganismos

El producto contiene 0.75% de cloruro de Sodio como agente isotónico, 0.15% de ácido bórico como un agente amortiguador ligero, 0.5 % de Plurónico como un polímero bloqueador de surfactante para limpieza y 0.5% de polímero de celulosa para lubricación. La solución tiene un Ph de 7.2 a 7.6. Por lo que no es irritante al estar en contacto con los sistemas biológicos. Asimismo tiene una osmolaridad de $300 \pm 20 \text{ mOsm}^{11.9}$

Su mecanismo de acción es el siguiente:

La oxidación se produce por el peróxido de hidrógeno el cual se degrada en agua y oxígeno. Cuando entra en contacto con las enzimas proteolíticas, las inactiva alterando endo y exotoxinas. Estas resultan inactivadas debido a la desnaturalización química de la configuración terciaria y secundaria de las proteínas

Estos mecanismos favorecen que una infección oftálmica sea eliminada y facilitan la cicatrización del tejido.⁹

Los agentes tópicos más usados en Estado Unidos para el tratamiento de úlceras corneales son aminoglucósidos, cefalosporinas, polimixinas y fluoroquinolonas.

Las fluoroquinolonas son un potente antimicrobiano con un amplio espectro de actividad. en general las fluoroquinolonas tienen un alto nivel de actividad contra organismos Gram. - como la Pseudomona².

Las fluoroquinolonas exhiben sus efectos bactericidas mediante su interferencia con la actividad de la DNA-girasa bacteriana. Esta enzima juega un papel importante en el almacenamiento, replicación y reparación del DNA

El éxito de las fluoroquinolonas y otros tratamientos comunes para la queratitis bacteriana ha ido en decremento debido a la aparición de resistencia a estos medicamentos².

MATERIAL Y MÉTODOS:

DEFINICIÓN DE LA POBLACION

CONEJOS :

Se usaron 72 conejos blancos de Nueva Zelanda del sexo masculino de 1-6 meses con un peso de 1.0 a 2 kgs. los cuales fueron identificados con marcas en la oreja derecha permanentes.

A) Criterios de exclusión: No desarrollo de úlcera corneal en el tiempo especificado

B) Criterios de eliminación: Presencia de enfermedad sistémica , Patología corneal previa, muerte en el transcurso del estudio.

Ubicación espacio temporal : Bioterio e instalaciones del Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana.

DISEÑO ESTADÍSTICO DEL MUESTREO :

Representatividad :

a) Definición de la población en relación con su ubicación temporal y espacial: Animal de experimentación obtenido y ubicado en el Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana

b) Procesos de medición:

Clínico: Valoración de alteraciones en biomicroscopía corneal (Grado de eritema y edema palpebral, edema congestión, secreción conjuntival, edem acorneal, presencia de precipitados queráticos, tinción con fluoresceína, flare, celularidad, sinequias, atrofia, neovascularización del iris , tamaño y profundidad de la úlcera corneal, friabilidad del tejido afectado) (Ver hoja de recolección de datos anexa)

Laboratorio: Cuantificación de unidades formadoras de colonias de Pseudomona aeruginosa

ESPECIFICACIÓN DE VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN

Variables: Edema y eritema palpebral

Edema y congestión conjuntival

Reepitelización corneal (tinción con fluoresceína),edema y congestión corneal

Flare y celularidad

Secreción y sus características

Tamaño y profundidad de la úlcera corneal

Friabilidad del tejido

Cuantificación de unidades formadoras de colonias de Pseudomona aeruginosa

Escalas

1. Ordinal: Edema corneal y palpebral leve , moderado o severo, infiltrado, precipitados retroqueráticos presente o ausente, secreción abundante, escasa o nula .
2. Continua: Tamaño de la úlcera en mm , porcentaje de estroma afectado

3. Ordinal: Flare y celularidad ausente, trazas, leve, moderada, severa Leve, moderada, perforación corneal
4. Continua: Conteo de células formadoras de colonias (UFC) Postratamiento.

La recolección de datos se realizó mediante una hoja de recolección de datos anexada (Ver hoja de recolección de datos)

DISEÑO

Se trata de una estudio experimental, descriptivo, observacional , longitudinal
Revisión de animales en septiembre del 2002

Valoración del estudio: Características biomicroscópicas de corneas infectadas y cuantificación de niveles de Pseudomona aeruginosa en corneas de conejos.

Se indujo una úlcera corneal en el ojo derecho de 72 conejos , divididos en 4 grupos de 18 conejos. Se escarificó 3 mm centrales del epitelio corneal y se inyectó intraestromalmente una solución infectante de 50,000 UFC de Pseudomona aeruginosa. Estos 4 grupos resultaron como sigue : Grupo I de complejo oxiclorado , grupo II de ofloxacina, grupo III combinado de Ofloxacina y complejo oxiclorado y grupo IV control.

CARACTERÍSTICAS Y COMPOSICIÓN DE LA SUSTANCIA PROBADA

Solución C (Complejo oxiclorado) : Componentes : 0.6 ppm de Complejo Oxiclorado por ml de solución estéril isotónica con pH de 7.4

Manufacturación: Complejo de solución C Lote No. SK 071800C

Es estable por 2 años a temperatura ambiente pero protegido de la luz.

SOLUCIÓN DE OFLOXACINA:

Componente Ofloxacino 0.3%

Manufacturación : Laboratorios Allergan Inc. Irvine CA92623

Características: Solución Ofloxacina con un pH de 6.4

MANEJO ANIMAL:

A su llegada los animales fueron examinados para asegurar que estuvieran sanos. No se utilizó ningún animal enfermo en el estudio. Los animales fueron aislados en jaulas metálicas individuales con piso móvil

Los animales fueron tratados de acuerdo a los lineamientos por la Asociación para la Investigación en Oftalmología y Visión (ARVO) en sus estatutos de Uso de Animales para la Investigación Oftalmológica y Visual.

Los animales fueron anestesiados mediante una inyección subcutánea de xilocaina y ketamina. Asimismo se les aplicó una gota de proparacaina antes de la inyección intraestromal.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Los 72 animales fueron divididos en 4 subgrupos de 18 conejos. Al grupo I se le colocó Ofloxacino al grupo II Parjilox (complejo oxiclorado) al grupo

III se le colocó una combinación de ofloxacina y Parjilox alternado cada hora, cada una de estas sustancias y al grupo IV solución salina isotónica. Los conejos también fueron divididos según la severidad de la úlcera corneal de tal manera que los mas severos fueran repartidos de manera equitativa entre los 4 grupos.

Procedimiento de inoculación de bacterias: Se administró proparacaina en gotas para realizar abrasión del epitelio corneal . Se inyectó a nivel estromal mediante la ayuda de un microscopio 0.1 ml del inóculo. Los ojos derechos de los conejos se inocularon con 50,000 UFC de P. Aeruginosa, dejándose a libre evolución por 24 hrs.

Procedimiento de dosificación: se les administró a los conejos las soluciones de manera tópica de la siguiente forma: (Tablas 1-4)

1)Grupo I (Ofloxacina al 0.3%) (Tabla 1)

Primer día de tratamiento (Dia2)

1ª . Hora 2 gotas cada 15 minutos

Siguientes 18 horas 2 gotas cada hora

Siguientes 5 horas Sin tratamiento

Segundo a séptimo día de tratamiento (Día 3-6)

Primeras 18 horas 2 gotas cada hora

Siguientes 6 horas sin tratamiento

1)Grupo II (Solución C) (Tabla 2)

Primer día de tratamiento (Dia2)

1ª . Hora 2 gotas cada 15 minutos

Siguientes 18 horas 2 gotas cada hora

Siguientes 5 horas Sin tratamiento

Segundo a séptimo día de tratamiento (Día 3-6)

Primeras 18 horas 2 gotas cada hora

Siguientes 6 horas sin tratamiento

1)Grupo III (Ofloxacina al 0.3% + Solución C) (Tabla 3)

Primer día de tratamiento (Dia2)

1ª . Hora 2 gotas cada 15 minutos

Siguientes 18 horas 2 gotas cada hora

Siguientes 5 horas Sin tratamiento

Segundo a séptimo día de tratamiento (Día 3-6)

Primeras 18 horas 2 gotas cada hora

Siguientes 6 horas sin tratamiento

1)Grupo IV (Placebo solución salina isotónica) (Tabla 4)

Primer día de tratamiento (Dia2)

1ª . Hora 2 gotas cada 15 minutos

Siguientes 18 horas 2 gotas cada hora

Siguientes 5 horas Sin tratamiento

Segundo a séptimo día de tratamiento (Día 3-6)

Primeras 18 horas 2 gotas cada hora

Siguientes 6 horas sin tratamiento

CONTEO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS

Técnica de Miles y Misra (Técnica de la gota)

1. Se prepararon diluciones sucesivas de las muestras desde 10^{-2} a 10^{-4}
2. Se vaciaron 15 ml del medio de cultivo en cada una de las 2 cajas de Petri y se dejaron solidificar . Se colocaron las cajas en la incubadora con la tapa ligeramente removida durante 3 hrs.
3. Se utilizó una caja para cada dilución se dividió el fondo en 3 segmentos iguales . Se dejó caer 2 gotas de cada dilución (10^{-2} , 10^{-4}) por segmento, a distancia suficiente para evitar su confluencia . Se utilizó una pipeta Pasteur por dilución
4. Se taparon las cajas y se dejaron 15 minutos a temperatura ambiente
- 5.- Se incubaron a 35°C durante 48 hrs. En posición invertida
- 6.- Se contaron las colonias
- 7.- Se obtuvo la media del recuento y se multiplicó por 50 y por la inversa de la dilución correspondiente.

TABLA 1

GRUPO I	No	ACTIVIDAD	TRATAMIENTO	HORAS DE TRATAMIENTO
CONEJOS				
OFLOXACINA	18	INOCULACIÓN	a) Documentación fotográfica b) Abrasión epitelio corneal c) Inoculación 50,000 UFC P. Aeruginosa d) Incubación de la bacteria por 24 hrs	
		POST INOCULACIÓN	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se deja incubar la bacteria otras 24 hrs.	
		DIA DE TRATAMIENTO 1	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Inicio de tratamiento e) Aplicación de Ofloxacina 1 ^a hr. 2 gotas/15 mins. Sigüientes 17 hrs. 2 gotas/ cada hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 1
		DIA DE TRATAMIENTO 2 (sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri e) Aplicación de Ofloxacina a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 2 (24 hrs)
		DIA DE TRATAMIENTO 3	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de Ofloxacina a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 3
		DIA DE TRATAMIENTO 4 (Sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri e) Aplicación de Ofloxacina a los 6 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 2 hrs. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 4 (48 hrs)

TABLA 1				
GRUPO I	No CONEJOS	ACTIVIDAD	TRATAMIENTO	HORAS DE TRATAMIENTO
		DIA DE TRATAMIENTO 5	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de Ofloxacin a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 5
		DIA DE TRATAMIENTO 6	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de Ofloxacin a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 6
Ofloxacin	18	DIA DE TRATAMIENTO 7 (sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri	Dia 7 (96 hrs)

TABLA 2

GRUPO II	No CONEJOS	ACTIVIDAD	TRATAMIENTO	HORAS DE TRATAMIENTO
SOLUCION C	18	INOCULACIÓN	a) Documentación fotográfica b) Abrasión epitelio corneal c) Inoculación 50,000 UFC P. Acuminosa d) Incubación de la bacteria por 24 hrs	
		POST INOCULACIÓN	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se deja incubar la bacteria otras 24 hrs.	
		DIA DE TRATAMIENTO 1	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Inicio de tratamiento e) Aplicación de Solución C 1 ^a hr. 2 gotas/15 mins. Sigüientes 17 hrs. 2 gotas/ cada hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 1
		DIA DE TRATAMIENTO 2 (Sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri e) Aplicación de Solución C a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 2 (24 hrs)
		DIA DE TRATAMIENTO 3	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de Solución C a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 3
		DIA DE TRATAMIENTO 4 (Sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri e) Aplicación de Solución C a los 6 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 2 hrs. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 4 (48 hrs)

TABLA 2				
GRUPO li	No CONEJOS	ACTIVIDAD	TRATAMIENTO	HORAS DE TRATAMIENTO
		DIA DE TRATAMIENTO 5	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de Solución C a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 5
		DIA DE TRATAMIENTO 6	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de Solución C a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 6
SOLUCIÓN C	18	DIA DE TRATAMIENTO 7 (Sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri	Dia 7 (96 hrs)

TABLA 3

GRUPO III	No CONEJOS	ACTIVIDAD	TRATAMIENTO	HORAS DE TRATAMIENTO
OFLOXACINA + SOLUCIÓN C	18	INOCULACIÓN	a) Documentación fotográfica b) Abrasión epitelio corneal c) Inoculación 50,000 UFC P. Aeruginosa d) Incubación de la bacteria por 24 hrs	
		POST INOCULACIÓN	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se deja incubar la bacteria otras 24 hrs.	
		DIA DE TRATAMIENTO 1	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Inicio de tratamiento e) Aplicación de Ofloxacina+Solucion C 1ª hr. 2 gotas/15 mins. Sigüientes 17 hrs. 2 gotas/ cada hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 1
		DIA DE TRATAMIENTO 2 (sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri e) Aplicación de Ofloxacina + Solucion C los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 2 (24 hrs)
		DIA DE TRATAMIENTO 3	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de Ofloxacina + Solucion C a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 3
DIA DE TRATAMIENTO 4 (Sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri e) Aplicación de Ofloxacina + Solucion C a los 6 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 2 hrs. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 4 (48 hrs)		

TABLA 3				
GRUPO III	No CONEJOS	ACTIVIDAD	TRATAMIENTO	HORAS DE TRATAMIENTO
		DIA DE TRATAMIENTO 5	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de Ofloxacina + Solución C a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 5
		DIA DE TRATAMIENTO 6	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de Ofloxacina + Solución C a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 6
OFLOXACINA + SOLUCION C	18	DIA DE TRATAMIENTO 7 (Sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri	Dia 7 (96 hrs)

TABLA 4

GRUPO IV	No CONEJOS	ACTIVIDAD	TRATAMIENTO	HORAS DE TRATAMIENTO
SOLUCION SALINA BALANCEADA (SSB)	18	INOCULACIÓN	a) Documentación fotográfica b) Abrasión epitelio corneal c) Inoculación 50,000 UFC P. Aeruginosa d) Incubación de la bacteria por 24 hrs	
		POST INOCULACIÓN	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se deja incubar la bacteria otras 24 hrs.	Dia 0
		DIA DE TRATAMIENTO 1	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Inicio de tratamiento e) Aplicación de SSB 1ª hr. 2 gotas/15 mins. Sigüientes 17 hrs. 2 gotas/ cada hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 1
		DIA DE TRATAMIENTO 2 (sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri e) Aplicación de SSB a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 2 (24 hrs)
		DIA DE TRATAMIENTO 3	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de SSB a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 3
		DIA DE TRATAMIENTO 4 (sacrificio 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri e) Aplicación de SSB a los 6 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 2 hrs. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 4 (48 hrs)

TABLA 4

GRUPO IV	No CONEJOS	ACTIVIDAD	TRATAMIENTO	HORAS DE TRATAMIENTO
		DIA DE TRATAMIENTO 5	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de SSB a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 5
		DIA DE TRATAMIENTO 6	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Continuar aplicación de SSB a los 12 conejos restantes Sigüientes 18 hrs. 2 gotas/ cada 1 hr. Sigüientes 6 hrs. Sin tratamiento	Dia 6
SSB	18	DIA DE TRATAMIENTO 7 (sacrifico 6 conejos)	a) Documentación fotográfica b) Examinación clínica c) Biomicroscopía d) Se sacrifican 6 conejos e) Se retiran las corneas y se colocan en cajas de Petri	Dia 7 (96hrs)

RESULTADOS

Los resultados fueron valorados estadísticamente en el interior de cada grupo mediante el test de Wilcoxon y fueron comparados con el test U de Mann-Whitney.

El grupo de Ofloxacin demostró mejoría estadísticamente significativa de la visita 1 a la 7 en los rubros de eritema y edema palpebral; edema, congestión y secreción conjuntival; edema, reepitelización e infiltrado corneal.

Con Ofloxacin se encontró una mayor efectividad con significancia estadística al compararla contra el complejo oxiclorado (solución C) en eritema y edema palpebral; congestión, edema y secreción conjuntival; infiltrado corneal, durante los primeros días de tratamiento (días 1-3) posteriormente los resultados entre ambas soluciones para estas variables fueron muy similares. Los resultados con complejo oxiclorado (solución C) superaron a la ofloxacin en cuanto a reepitelización corneal ($p= 0.05$)

La combinación de ambas soluciones demostró una mayor efectividad que el uso de las soluciones por separado en las variables de eritema palpebral, edema congestión conjuntival, secreción, edema corneal, y reepitelización corneal

Se demostró que al combinar ofloxacin y el complejo oxiclorado (solución C) fue superior estadísticamente a la ofloxacin sola en las variables de eritema y edema palpebral; edema, congestión y secreción conjuntival; edema corneal. Por otro lado al comparar la combinación con el Parjilox solo , la combinación la supera en los rubros de eritema, edema palpebral, congestión, edema conjuntival, precipitados queráticos , reepitelización, flare y celularidad .

Evaluación de las colonias de pseudomonas aeruginosa (ufc):

Para el análisis del numero de colonias de Pseudomona aeruginosa se obtuvo la media y la desviación estándar en cada día de sacrificio de conejos y por grupo (Cuadro 1). Las pruebas se compararon con las pruebas "t" de student , de Wilcoxon y el test U de Mann – Whitney. (cuadro2)

Al comparar el número de colonias en los grupos de tratamiento observamos valores estadísticamente significativos entre el Grupo I (Ofloxacin) y el II (Solución C) solamente en el día 2 , presentando valores menores en el grupo I

Entre el grupo I y III (Ofloxacin-Solución C) los resultados son significativos en Iso 3 día de tratamiento a favor del grupo III (Ofloxacin-Solución C)

Entre el grupo II (Solución C) y el III (Ofloxacin –Parjilox) encontramos valores significativos en las visitas 2 y 7 a favor del Grupo III (Ofloxacin –Solución C) (Cuadro 2)

ESTA TESIS NO SALIÓ
DE LA BIBLIOTECA

CUADRO 1**Número de Unidades Formadoras de colonias****Pseudomona aeruginosa**

	Ofloxacina	Solución C	Ofloxacina+ Sol.C	Placebo (Control)
DIA 2				
Media	205,250	509,750	21,500	2,389,500
Desviación	41,444	148,356	9,256	1,737,121
DIA 4				
Media	54,250	62,500	16,500	20,900,000
Desviación	11,529	52,437	3,873	3,069,202
DIA 7				
Media	87,500	145,750	15,000	129,375,000
Desviación	59,090	28,733	19,149	217,083,461

CUADRO 2**PSEUDOMONA AERUGINOSA****NUMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS****PRUEBA DE MANN -WHITNEY**

	DIA	DIA 4	DIA 7
Ofloxacina/Sol. C	0.021	NS	NS
Ofloxacina/ Ofloxacina-Sol.C*	0.014*	0.021*	0.042*
Ofloxacina/control	0.043*	0.021*	0.020*
Sol. C/ Ofloxacina -Sol. C*	0.014*	NS	0.020*
Sol .C/ control	NS	0.021*	0.020*
Control/ Ofloxacina-Sol. C*	0.014*	0.021*	0.019*

NUMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS

PRUEBA T DE STUDENT PARA MUESTRAS PEQUEÑAS

P α = 0.01

	DIA 2	DIA 4	DIA 7
Ofloxacina/Sol. C	0.00240	0.16271	0.14361
Ofloxacina/ Ofloxacina-Sol.C*	0.00144	0.00174	0.03197
Ofloxacina/control	0.044611	0.00054	0.01757
Sol. C/ Ofloxacina -Sol. C*	0.00075	0.04690	0.00015
Sol .C/ control	0.06126	0.00054	0.01767
Control/ Ofloxacina-Sol. C*	0.03795	0.00053	0.01734

DISCUSIÓN :

La eficacia y seguridad de un antibiótico de amplio espectro como es la Ofloxacin ha sido ampliamente demostrada para el tratamiento de las queratitis bacterianas. El desarrollo de nuevos medicamentos justifica el compararlo contra esta sustancia a fin de establecer su valor como herramienta terapéutica.

El estudio realizado demostró que al comparar la Ofloxacin contra este nuevo complejo oxiclorado la evaluación del número de colonias al segundo día de tratamiento fue menor ($p < 0.05$) con el uso de la quinolona. Sin embargo al evaluar el día 4 y 7 de tratamiento no hubo significancia estadística, lo que nos lleva a concluir que el efecto bactericida de la ofloxacin es más rápido en un inicio que el complejo oxiclorado pero al continuar con el tratamiento el efecto terapéutico ya es similar en ambos medicamentos.

La combinación de ambos medicamentos mostró clínicamente una mejoría estadísticamente significativa y un importante decremento en el recuento de las unidades formadoras de colonias en todas las visitas, lo que nos demuestra el efecto de sinergismo entre ambas soluciones.

Se observó con el uso del complejo oxiclorado que favorece la reepitelización corneal y disminuye el tamaño del infiltrado comparado con la ofloxacin.

La respuesta inflamatoria inducida por el proceso bacteriano mostró una mejoría clínica más rápida con el uso de Ofloxacin que con el complejo oxiclorado, pero con el transcurso del tratamiento el resultado clínico fue similar entre ambas gotas.

El análisis estadístico demostró que la combinación de ambos medicamentos en comparación con el uso de las soluciones de manera aislada produce una marcada mejoría clínica en todas las visitas.

CONCLUSIONES:

Se demostró que al asociar un antibiótico de amplio espectro con un complejo oxiclorado se incrementa su rapidez y eficacia en úlceras corneales bacterianas.

Concluimos que este nuevo complejo oxiclorado constituye una excelente opción terapéutica en queratitis bacterianas y principalmente al asociarse con un antibiótico de amplio espectro.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Duane et al. Foundations of Clinical Ophthalmology. 2000 CD ROM edition. Lippincot Williams and Wilkins publications
- 2.- N. Venkatesh Prajna et al. Bacteriological and Clinical Efficacy of Ofloxacin 0.3% versus ciprofloxacin 0.3% ophthalmic solutions in the treatment of patients with culture positive bacterial keratitis . Cornea 2001 ; 20; 175-178
- 3.-Judy M Moreau et al. Effectiveness of Mupirocin and Polimixyn B in Staphylococcus aureus , Pseudomona aeruginosa and Serratia marascencis keratitis. Cornea 2002;21(8);807-811
- 4.- Milhim I. Aswald. Effect of lid closure on contact lens associated Pseudomona Keratitis . Arch of Ophthalmol. Vol 107. Noviembre 1997
- 5.- Masaki, Imayasu et al. The relation between contact lens oxygen transmissibility and binding of pseudomona aeruginosa to the cornea after overnight wear. Ophthalmology , Vol. 101 No 2 Febrero 1994 p.p 371-387
- 6.- Brigitte A Cowell et al. Use of an animal model in studies of bacterial Corneal infection. ILAR Journal Vol 40(2) 1999
- 7.- Goodman and Gilman . Las bases farmacológicas de la práctica médica. 14ª. Ed. Editorial interamericana. 1998 p.p. 5-10
- 8.- Magali Taylor .Lo esencial en farmacología. Hartcourt Mosby . 1ª edición p.p 12
- 9.- Hampar J. Comunicación personal de los estudio de investigación . S.K EU.
- 10.- Catherine D. White et al. Corneal virulence of LAS A protease- deficient Pseudomonas aeruginosa. Cornea 2001 ; 20 : 643-646.
- 11.- David Aviles Ruiz. Manual de laboratorio de Microbiología sanitaria . IPN 1ª edición 1983