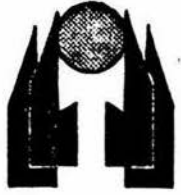


11234



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
SECRETARIA DE SALUD

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS FORMADOR DE BIOFILM EN BLEFAROCONJUNTIVITIS.

TESIS DE POSTGRADO
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD EN OFTALMOLOGIA
PRESENTA:
DRA. MARIA ELENA MORENO GONZALEZ

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO



Handwritten signature

DIRECCION DE ENSEANZA

ASESORES DE TESIS: DRA. ERENDIRA RUIZ GALINDO
DRA. HERMINIA MIÑO DE KASPAR

MEXICO, D. F.

2005

m.348102



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

RESPONSABLE:

Dra. María Elena Moreno González
Médico Residente
Servicio de Oftalmología Hospital General del México



Firma



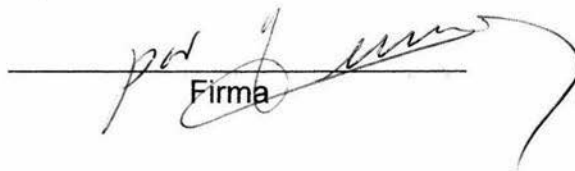
TUTORES DE TESIS

Dra. Eréndira Ruíz Galindo
Servicio de Oftalmología Hospital General del México



Firma

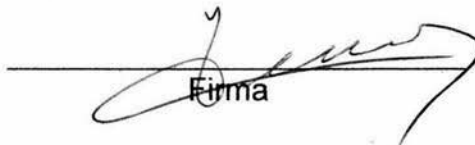
Dra. Herminia Miño de Kaspar
Augenlinik Munich, Alemania.



Firma

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Dra. Guadalupe Tenorio Guajardo
Jefe del Servicio de Oftalmología Hospital General del México


Firma

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por darme salud y fortaleza en los momentos difíciles.

A MIS PADRES

Por su apoyo incondicional y enseñarme a enfrentar los obstáculos.

A MI HERMANA Y MIJAIL

Por ser un incentivo más en mi vida

A MIS MAESTROS

Por su apoyo, amistad, paciencia y trasmitirme sus conocimientos y experiencias.

A MIS AMIGOS

Por estar siempre a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento muy especial a la Q.M. Herminia Miño de Kaspar, del Department of Ophthalmology, Ludwing-Maximilians-University, Munich Germany, y a Georg Hannelore Zimmermanns y a Martin Margarete Meyer-Schwartin Foundation Germany ya que sin su apoyo y financiamiento no hubiera sido posible la realización de este estudio.

ÍNDICE

I. RESUMEN

II. ANTECEDENTES

III. ESTUDIO CLÍNICO

a) Planteamiento del problema

b) Justificación

c) Hipótesis

d) Objetivos

e) Diseño de estudio

f) Material y Métodos

1. Población y muestra

2. Criterios de Inclusión, exclusión y eliminación

3. Variables analizadas

4. Procedimientos

5. Análisis estadístico

6. Aspectos éticos y de bioseguridad

7. Recursos

IV. RESULTADOS

V. DISCUSIÓN

VI. CONCLUSIONES

VII. BIBLIOGRAFÍA

VIII. ANEXOS, CUADROS Y GRAFICAS

I. RESUMEN

Objetivo: Determinar presencia de *S. epidermidis* formador de biofilm en pacientes con y sin blefaroconjuntivitis.

Participantes: 30 pacientes con signos y síntomas de blefaroconjuntivitis y 30 pacientes sin signos y síntomas de blefaroconjuntivitis, ambos con desarrollo de *S. epidermidis*.

Diseño del estudio: Es un estudio de casos y controles, analítico, transversal y prospectivo.

Métodos: A todos los participantes se les tomó una muestra de fondo de saco conjuntival y borde palpebral, que se inoculó en Agar sangre. A las colonias desarrolladas se les realizó identificación de *S. epidermidis* mediante sistema API, prueba de Christensen para identificar biofilm y pruebas de sensibilidad a antibióticos.

Variables: Blefaroconjuntivitis, *S. epidermidis*, biofilm, sensibilidad y resistencia a antibióticos.

Resultados: *S. epidermidis* formó Biofilm en 21 pacientes (70%) con blefaroconjuntivitis y 13 pacientes (43%) del grupo control ($p < 0.05$). El grado de formación de Biofilm fue mayor en los pacientes con blefaroconjuntivitis que en los pacientes sin blefaroconjuntivitis. En

cuanto a la sensibilidad a eritromicina, vancomicina, ciprofloxacina, gatifloxacina, cloramfenicol y oxacilina no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre *S. epidermidis* formador de Biofilm y *S. epidermidis* no formador de Biofilm

Conclusiones: Es más frecuente aislar *S. epidermidis* formador de biofilm en pacientes con blefaroconjuntivitis el cual es igualmente sensible a los antibióticos que el *S. epidermidis* no formador de biofilm.

Palabras clave: Blefaroconjuntivitis, *S. epidermidis*, biofilm, sensibilidad a antibióticos.

II. ANTECEDENTES

La blefaroconjuntivitis es la inflamación de los márgenes palpebrales y de la conjuntiva. Es una de las enfermedades externas más comunes, afecta el margen palpebral anterior (blefaritis anterior) o el posterior (blefaritis posterior o meibomitis). Puede ser infecciosa ⁽¹⁾, siendo *S. aureus* el microorganismo más frecuente. Los síntomas y signos son prurito, ardor, lagrimeo y secreción; depósitos costrosos en las pestañas, bordes palpebrales engrosados, eritematosos y con secreción oleosa ⁽²⁾ así como folículos, papilas, queratitis punteada inferior, alteración de la película lagrimal.

En la meibomitis es frecuente la obstrucción de los conductos de las glándulas de Meibomio. ⁽¹⁾

La blefaroconjuntivitis es la quinta causa de consulta en el Hospital General de México, ocupando un 7% del total de las consultas otorgadas.

De los diferentes estudios bacteriológicos realizados para la identificación de micro-biota de la conjuntiva antes de cirugía intraocular en varias partes del mundo del 25% a 66% los cultivos son negativos. Son positivos para estafilococos coagulasa negativos

como *S. epidermidis* del 22% al 59%, *Diphtheroides* (especies de *Corynebacterium*) del 2 al 42 % y *S. aureus* de 2 al 14%. En Europa del Este se aislaron bacterias gram negativas ^(3,4,5).

La flora bacteriana de los párpados es similar a la de la piel. El párpado humano presenta siempre cultivos positivos, los tipos de bacterias son similares a los aislados de la conjuntiva: los estafilococos coagulasa negativos se reportan de un 57 a 100%, *Propionibacterium acnes* 71 a 74%, *Diphtheroides* de 8 a 45%, *S. aureus* de 12 a 16% y *S. viridans* de 15% (en niños). Variedades de bacterias gram negativas pueden ser aisladas pero en menor frecuencia y cantidad de colonias ⁽⁶⁻¹⁰⁾.

El *S. epidermidis*, ha surgido como patógeno nosocomial asociado a infecciones de implantes médicos. Estos microorganismos, son bacterias prevalentes de la micro-biota de piel y mucosas humana, además de representar un problema único en el diagnóstico y tratamiento de las infecciones ^(11,12).

El **biofilm** es un polisacárido extracelular que promueve la adhesión bacteriana célula-célula e incrementa la virulencia de los agentes patógenos ⁽¹³⁾, actualmente una nueva definición dice que es un grupo de células que producen sustancias poliméricas

extracelulares y están irreversiblemente adheridas a una superficie o interfase como los materiales protésicos y que además exhiben un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y a la transcripción de genes ⁽¹⁴⁾.

La adhesina polisacárida extracelular representa una clave para determinar la virulencia en *S. epidermidis* y es necesaria para la formación de biofilm. La producción de ésta adhesina es codificada por el gen operon *ica* y está sujeta a una fase variable de regulación ^(11,15). La formación del biofilm se produce en dos fases: la *primera* involucra la adhesión de la bacteria a la superficie del polímero, la *segunda* fase proliferación bacteriana y acumulación en multicapas formadas por varios grupos que están embebidas en el material extracelular ⁽¹⁶⁾. Este polímero extracelular secretado por *S. epidermidis* lo protege de las defensas innatas del huésped y es un blanco prometedor para el desarrollo de medicamentos que combatan éstas infecciones.

La naturaleza estructural del biofilm confiere a las bacterias una resistencia inherente a los agentes antimicrobianos ^(14,17). El mecanismo de resistencia aún está en discusión. Suci et al proponen que la resistencia está relacionada con la limitación en la penetración

de los antimicrobianos a través del biofilm ⁽¹⁸⁾. También se ha propuesto relación de la resistencia con la tasa de crecimiento alterada de éstas bacterias ⁽¹⁴⁾.

Los aparatos protésicos asociados a infecciones por *S. epidermidis* formador de biofilm en oftalmología son lentes intraoculares, bandas esclerales, material de sutura y lentes de contacto entre otros ⁽¹⁹⁻²²⁾ y del 15-20% de las cepas de *S. epidermidis* aisladas de la conjuntiva humana forman biofilm y pueden ser patógenas ⁽²³⁾.

Con respecto a la sensibilidad de los cultivos de estafilococos coagulasa negativos en pacientes operados de catarata se reporta un 100% a vancomicina, 80% a ciprofloxacina, 61% a cloranfenicol y 89% a oxacilina ⁽²⁴⁾.

Estudios recientes han demostrado que las fluoroquinolonas reducen la densidad óptica del biofilm e inhiben la adhesión a superficies plásticas y catéteres vasculares ⁽²⁵⁾.

III. ESTUDIO CLÍNICO

a) Planteamiento del problema

Los estafilococos coagulasa negativos se distribuyen ampliamente sobre la superficie del cuerpo humano, el más frecuente es *S. epidermidis*. En el pasado era considerado como parte de la micro-biota de párpados y conjuntiva, sin embargo actualmente se conoce que es causa infecciones persistentes y se asocian con aparatos protésicos.

Pretendemos con este estudio responder las siguientes preguntas:

¿En casos de blefaroconjuntivitis la bacteria que se aísla con mayor frecuencia es *S. epidermidis* formador de Biofilm?

¿*S. epidermidis* formador de biofilm es más resistente a antibióticos que el *S. epidermidis* no formador de biofilm?

b) Justificación

La blefarconjuntivitis es la quinta causa de consulta en el Hospital General de México, de 6883 consultas, 495 correspondieron a blefarconjuntivitis (7.19%), en el periodo de enero a marzo del 2005, por lo que es importante determinar si el *S. epidermidis* formador de biofilm se encuentra mas frecuentemente en los pacientes con blefarconjuntivitis ya que esto podría cambiar el enfoque en el manejo en los pacientes. Debido a que no se han realizado investigaciones de este tipo, ésta asentará las bases para futuros estudios encaminados a la prevención, diagnóstico y tratamiento de la blefarconjuntivitis.

c) Hipótesis

Hipótesis de trabajo

Es más frecuente aislar *S. epidermidis* formador de biofilm en pacientes con blefaroconjuntivitis que en pacientes sin blefaroconjuntivitis.

El *S. epidermidis* formador de biofilm es menos sensible a los antibióticos que el *S. epidermidis* no formador de biofilm.

Hipótesis nula

Es igualmente frecuente aislar *S. epidermidis* formador de biofilm en pacientes con blefaroconjuntivitis que en pacientes sin blefaroconjuntivitis.

El *S. epidermidis* formador de biofilm tiene la misma sensibilidad a los antibióticos que el *S. epidermidis* no formador de biofilm.

d) Objetivos

Objetivos generales

1. Determinar la presencia de *S. epidermidis* formador de biofilm en pacientes con blefarconjuntivitis y sin blefarconjuntivitis.
2. Determinar resistencia y sensibilidad a antibióticos de *S. epidermidis* formador de biofilm y no formador de biofilm.

Objetivos específicos

1. Identificar pacientes con signos y síntomas de blefarconjuntivitis
2. Aislar *S. epidermidis* en pacientes con blefarconjuntivitis y en pacientes sin blefarconjuntivitis
3. Identificar *S. epidermidis* formador de biofilm y no formador de biofilm en ambos grupos
4. Valorar resistencia y sensibilidad a antibióticos en *S. epidermidis* formador de biofilm y no formador de biofilm.
5. Analizar la significancia estadística de estos hallazgos.

e) Diseño del estudio

Es un estudio de casos y controles, analítico, transversal, prospectivo que se realizó de enero a marzo del 2005 en el Laboratorio de Microbiología Ocular del Servicio de Oftalmología del Hospital General de México.

f) Material y Métodos

1. Población y muestra

Población: Todos los pacientes que acudieron al servicio de oftalmología del Hospital General de México.

Tamaño de la muestra: 60 pacientes, 30 pacientes del grupo de estudio y 30 del grupo control. El grupo de estudio se conformó con pacientes provenientes de la consulta externa de Oftalmología del Hospital General de México con signos y síntomas de blefarconjuntivitis. El grupo control estuvo conformado por pacientes tomados al azar que acudieron a la consulta externa del Hospital General de México y que no presentaban signos y síntomas de blefarconjuntivitis.

2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Criterios de inclusión

- Pacientes con blefaroconjuntivitis
- Sin tratamiento antibiótico tópico o sistémico siete días previos a la toma de la muestra.
- Que deseen participar en el estudio

Criterios de exclusión

- Tratamiento antibiótico tópico o sistémico siete días previos a la toma de la muestra.
- Que no deseen participar en el estudio

Criterios de eliminación

- Pacientes que no desarrollen colonias en el cultivo
- Pacientes en los que no se aísle *S. epidermidis*

3. Variables analizadas

1. Desarrollo de colonias en el cultivo de agar sangre medido como con desarrollo o sin desarrollo.
2. Desarrollo de de *S. epidermidis* medido como con desarrollo o sin desarrollo.
3. Formación de Biofilm medido como formador y no formador; y en quienes lo formaron como ½+, 1+, 2+ y 3+ .
4. Sensibilidad a eritromicina medida como sensible y resistente.
5. Sensibilidad a ciprofloxacina medida como sensible y resistente.
6. Sensibilidad a gatifloxacina medida como sensible y resistente.
7. Sensibilidad a oxacilina medida como sensible y resistente.
8. Sensibilidad a vancomicina medida como sensible y resistente.
9. Sensibilidad a cloramfenicol medida como sensible y resistente.
10. Blefaroconjuntivitis medida como presente o ausente.

4 . Procedimientos

Los pacientes fueron capturados de la consulta externa, de acuerdo a criterios de inclusión y exclusión.

El diagnóstico de blefaroconjuntivitis se realizó de acuerdo a la presencia de cuando menos 2 síntomas y 2 signos, así mismo se determinó al grupo de pacientes sin blefaroconjuntivitis con la ausencia de síntomas y signos. A todos los pacientes se les lleno una hoja de recolección de datos donde se incluyen los diferentes signos y síntomas. anexo 1

A todos los pacientes se les tomaron muestras de borde palpebral y de fondo de saco conjuntival con hisopos estériles y se colocaron en medios de transporte. Posteriormente se realizó la siembra en medios ágar sangre, se incubaron durante 24 horas a 35° C y se eliminaron los cultivos que no desarrollaron colonias.

A los cultivos que desarrollaron colonias se les realizó la prueba de catalasa con peróxido de hidrógeno al 3%, si era positiva se proseguía con el montaje del sistema de identificación de estafilococos, micrococos y géneros relacionados (API® STAPH), la

prueba de tubo para biofilm y montaje de pruebas de sensibilidad y resistencia a antibióticos.

SISTEMA API® STAPH PARA IDENTIFICACIÓN DE ESTAFILOCOCOS, MICROCOCOS Y GÉNEROS RELACIONADOS

Esta prueba de identificación se lleva a cabo mediante reacción enzimática. Se llenaron con agua destilada los pozos de las charolas del API® STAPH, se colocó una galería en cada charola, se tomó una colonia de medio Agar sangre con el asa de platino y se inoculó en el diluyente del API, se homogenizó, y se llenó cada una de las galerías con esta suspensión. Las galerías contienen D-glucosa, D-fructosa, D-manosa, D-maltosa, D-lactosa, D-trehalosa, D-manitol, xilitol, D-malibiosa, nitrato de potasio, B-naftifosfato, piruvato de sodio, D-rafinosa, D-xilosa, D-sacarosa, metil- α -D-glocopiranosida, N-acetilglucosamina, L-arginina y urea. A las galerías de L-arginina y urea se les formó un medio anaerobio mediante la aplicación de dos gotas de aceite mineral. Se dejaron incubar a 35° durante 24 hrs. En este momento se les aplicó reactivos a las galerías de nitrato de potasio y piruvato de sodio; se leyó mediante una carta de colores, cada una

de las galerías adquiere un color que se toma como positivo o negativo y se le asignó un valor numérico ya establecido en el sistema API® STAPH que posteriormente es confrontado con valores numéricos del catalogo y de esta manera se realiza la identificación del microorganismo.

Si no se aisló *S. epidermidis* entonces se eliminó la muestra.

PRUEBA DE BIOFILM (ENSAYO EN TUBO O DE CHRISTENSEN)

Se colocaron 2 cc de medio infusión cerebro- corazón suplementado con glucosa al 0.25% en un tubo de ensayo se inoculó el medio con 0.1cc del diluyente del API conteniendo la muestra de *S. epidermidis* a estudiar, se cultivó durante 24 horas a 35° C, se eliminó el contenido del tubo y se colocó 2cc de Safranina al 1%, rotando cuidadosamente el tubo para asegurar una tinción uniforme del material adherido a las paredes. Se dejó durante 3 minutos a temperatura ambiente, se eliminó el contenido del tubo y se enjuagó con agua destilada dos veces. Finalmente los tubos se colocaron boca abajo para que éstos se secan.

La prueba se consideró positiva cuando se observó la formación de una película teñida en la superficie interna del tubo.

PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

En el medio Müeller-Hinton se inoculó 1cc de diluyente del API® STAPH conteniendo la muestra de *S. epidermidis* a estudiar, se colocaron seis discos de antibiótico (eritromicina, gatifloxacina, ciprofloxacina, cloranfenicol, oxacilina y vancomicina) se dejaron incubar a 35° durante 24 hrs.

Posteriormente se realizó la lectura de acuerdo a una tabla de sensibilidad y resistencia otorgada por el proveedor BD®. anexo 2 Los antibióticos que presentaron sensibilidad intermedia fueron considerados como resistentes.

5 . Análisis estadístico

Se realizó la prueba no paramétrica Chi cuadrada para valorar diferencia estadística entre el grupo de estudio y el grupo control con respecto a la formación de biofilm y para la sensibilidad a los antibióticos.

6. Aspectos éticos y de bioseguridad

No se realizó ningún estudio experimental. Todos los pacientes fueron informados y dieron su consentimiento por escrito de los procedimientos a realizar, los cuales no conllevaban riesgo alguno, (la toma de la muestra es inocua), se obtuvo el beneficio de atención oportuna en caso necesario y se exentó a estos pacientes del costo de la consulta y de los medios complementarios de exploración.

7. Recursos

Recursos financieros proporcionados por Georg Hannelore Zimmermanns y a Martin Margarete Meyer-Schwartin Foundation Germany

Hisopos, portaobjetos, marcadores, estufas, hojas de control y recolección de datos, medios de cultivo de ágar sangre, lámparas de alcohol, tubos de ensaye, medios Muller-Hinton, medio infusión cerebro – corazón, agua oxigenada, asa de platino, refrigerador, galerías de API, discos de vancomicina, eritromicina, oxacilina, ciprofloxacina, gatifloxacina y cloranfenicol.

IV. RESULTADOS

Se tomaron muestras de borde palpebral y saco conjuntival a 70 individuos (100%) de los cuales 34 tenían signos y síntomas de blefarconjuntivitis y 36 eran pacientes que habían acudido al Servicio de Oftalmología a consulta y no presentaban signos y síntomas de blefarconjuntivitis.

En el grupo de pacientes con síntomas de blefarconjuntivitis 14 (41%) cultivos de la conjuntiva no desarrollaron colonias, 14 desarrollaron *S. epidermidis* (41%), 4 *S. capitis* (11.76%), *Micrococcus* 2 (5.88%), *S. hominis* 1 (2.98%). Los cultivos del borde palpebral fueron positivos en el 100% de los pacientes, 28 (82%) desarrollaron *S. epidermidis*, *Micrococcus* 2(5.88%), *S. capitis* 2 (5.88%), *S. aureus* 1 (2.98%) y *S. hemolyticus* 1 (2.98%).

En el grupo de pacientes que no tenían síntomas de blefarconjuntivitis los cultivos de la conjuntiva no desarrollaron colonias en 15 (41.66%), *S. epidermidis* se encontró en 19 cultivos (55.88 %), *Micrococcus* en 1 (2.94%), *S. aureus* en 1 (2.94%). De los cultivos del borde palpebral no desarrollaron colonias 2 (5.55%), *S. epidermidis* se encontró en 29 cultivos (80.55%), *Micrococcus* en 1

(2.94%), *S. aureus* en 1 (2.94%) *S. capitis* en 1 (2.94%), *S. hominis* en 1 (2.94%) y *S. hemolyticus* en 1 (2.94%). Anexo 3 y 4

Se eliminaron 10 pacientes, 4 del grupo de pacientes con síntomas de blefaroconjuntivitis y 6 del grupo de pacientes sin blefaroconjuntivitis porque desarrollaron algún otro microorganismo diferente a *S. epidermidis* o no desarrollaron bacterias en el cultivo, quedando conformado el grupo control y el de estudio por 30 pacientes cada uno. El desarrollo de colonias en el grupo de estudio se muestra en el anexo 5.

Del grupo de estudio 21 pacientes (70%) desarrollaron Biofilm y 13 pacientes (43%) del grupo control. Existiendo diferencia estadísticamente significativa con una X^2 de 4.34 > 3.84 y $p < 0.05$. Anexo 6

El total de las muestras del grupo de estudio que desarrollaron *S. epidermidis* fueron 42, de éstos 25 (59.52%) desarrollaron biofilm. En el grupo control de 48 muestras desarrollaron *S. epidermidis* y de éstos 17 (35.41%) desarrollaron biofilm. Existiendo diferencia estadísticamente significativa con una X^2 de 5.23 > 3.84 y $p < 0.05$. Anexo 7

De las 26 muestras que desarrollaron biofilm en el grupo de estudio 4 (15.38%) fueron clasificadas como +++, 9 (34.61%) ++, 7 (26.92%) +, 5 (19.23%) 1/2+. De las 17 muestras que desarrollaron biofilm en el grupo control 0 (0%) fueron clasificadas como +++, 5 (29.41%) ++, 10 (58.82%) +, 2 (11.76%) 1/2+. Anexo 8

De las 42 muestras del grupo de estudio 13 (30.95%) presentaron sensibilidad a la eritromicina y 29 (69.04%) fueron resistentes. En el grupo control de 48 muestras, 16 (33.33%) presentaron sensibilidad a la eritromicina y 32 (66.66%) fueron resistentes.

Todas las muestras del grupo de estudio 42 (100%) y todas las del grupo control 48 (100%) fueron sensibles a la vancomicina.

De las 42 muestras del grupo de estudio 31 (73.80%) presentaron sensibilidad a la ciprofloxacina y 11 (26.19%) fueron resistentes. En el grupo control de 48 muestras, 31 (64.58%) presentaron sensibilidad y 17 (35.41%) fueron resistentes.

En el grupo de estudio, 14 (33.33%) presentaron sensibilidad a la oxacilina y 28 (66.66%) fueron resistentes. En el grupo control 14 (29.16%) presentaron sensibilidad a la oxacilina y 34 (70.83%) fueron resistentes.

En el grupo de estudio 40 muestras (95.23%) presentaron sensibilidad a la gatifloxacina y 2 (4.76%) fueron resistentes. En el grupo control 43 muestras (89.58%) presentaron sensibilidad a la gatifloxacina y 5 (10.41%) fueron resistentes.

En el grupo de estudio 34 (80.95%) presentaron sensibilidad al cloranfenicol y 8 (19.04%) fueron resistentes. En el grupo control 36 (75%) presentaron sensibilidad y 12 (25%) fueron resistentes. Anexo 9

En cuanto a la sensibilidad a eritromicina, vancomicina, ciprofloxacina, gatifloxacina, cloranfenicol y oxacilina de *S. epidermidis* formador de Biofilm y *S. epidermidis* no formador de Biofilm no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

Anexos 10 - 14

IV. DISCUSIÓN

Los microorganismos aislados en el grupo control y el grupo de estudio fueron similares. No se desarrollaron colonias en conjuntiva en 41% del grupo de estudio y del grupo control, que coincide con lo reportado en otros estudios bacteriológicos en donde no se reporta desarrollo del 25 al 66% de los casos ⁽³⁻⁵⁾.

S. epidermidis fue el microorganismo más frecuentemente aislado en conjuntiva tanto en el grupo control (55%) como en el grupo de estudio (41%) lo que es similar a lo reportado anteriormente y que va del 22 al 59% ⁽³⁻⁵⁾.

En el grupo de estudio los cultivos de borde palpebral fueron positivos en el 100% y en grupo control 95%. *S. epidermidis* fue el microorganismo más frecuentemente aislado en 82% en grupo de estudio y en 80% en el grupo control. Weiss, Grader y Au reportan desarrollo del 100% en los cultivos de borde palpebral, con desarrollo de *S. epidermidis* entre un 57% a 100% ⁽⁶⁻¹⁰⁾.

En este estudio se desarrolló *S. epidermidis* formador de biofilm en 43% en el grupo control. Existen reportes de desarrollo en

cultivos de conjuntiva en 15% a 20%, no hay reportes de estudios de *S. epidermidis* formador de biofilm en blefaroconjuntivitis.

El análisis estadístico mostró diferencia significativa entre la frecuencia de desarrollo de *S. epidermidis* formador de Biofilm en pacientes con blefaroconjuntivitis con respecto a los que no presentan blefaroconjuntivitis.

Se observó mayor grado de formación de Biofilm en el grupo de estudio ya que fue más frecuente el desarrollo de 2 y 3 cruces en las muestras de los pacientes con blefaroconjuntivitis en comparación con las muestras de los pacientes sin blefaroconjuntivitis, donde fue más frecuente el desarrollo de biofilm en un grado de 1 y 2 cruces.

Se presentó sensibilidad a la vancomicina en el 100% de *S. epidermidis* tanto del grupo control como del grupo de estudio, como lo ya descrito por Locatelli et al ⁽²⁴⁾.

La sensibilidad a ciprofloxacina reportada en estudios previos es del 80% ⁽²⁴⁾ y lo encontrado en este estudio fue ligeramente inferior ya que se observó una sensibilidad del 73% en el grupo de estudio y de 64% en el grupo control.

Los reportes previos de sensibilidad a oxacilina son del 89%⁽²⁴⁾ y lo encontrado en este estudio fue mucho menor ya que se mostró una sensibilidad del 33.33% en el grupo de estudio y de 29.16% en el grupo control.

La sensibilidad a cloramfenicol reportada en estudios previos es del 61%⁽²⁴⁾ y lo encontrado en este estudio fue superior ya que se demostró una sensibilidad del 80.95% en el grupo de estudio y de 75% en el grupo control.

En cuanto a la sensibilidad a eritromicina, vancomicina, ciprofloxacina, gatifloxacina, cloramfenicol y oxacilina de *S. epidermidis* formador de biofilm y *S. epidermidis* no formador de biofilm no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos, lo que difiere con estudios previos donde se reporta mayor resistencia a antimicrobianos en bacterias formadoras de biofilm, siendo de 20-1000 veces más resistentes a los antibióticos^(14, 17, 18, 25, 26)

La eritromicina sigue siendo un antibiótico de elección en blefaroconjuntivitis sin embargo tiene una alta resistencia según lo observado por este estudio (66% - 69%) por lo que se deben

considerar otros antibióticos que presentan mas susceptibilidad como el cloramfenicol, ciprofloxacina, gatifloxacina y la vancomicina.

VI. CONCLUSIONES

S. epidermidis es el microorganismo más frecuente en párpados y conjuntiva tanto en pacientes con blefarconjuntivitis como en pacientes sin blefarconjuntivitis.

Es más frecuente aislar *S. epidermidis* formador de biofilm en pacientes con blefarconjuntivitis que en pacientes sin blefarconjuntivitis. El mejor formador de biofilm es el *S. epidermidis* que se aísla de los pacientes que presentan blefarconjuntivitis.

El *S. epidermidis* formador de biofilm es igualmente sensible a los antibióticos que el *S. epidermidis* no formador de biofilm por lo que se deben considerar otros factores de virulencia asociados a *S. epidermidis*.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Rapuano C. Enfermedad de la conjuntiva y las estructuras externas. En : Capuano C. Los requisitos en Oftalmología . Segmento Anterior. Madrid Ediciones Harcourt , 2001: 42-43
2. Rees RB Jr. Skin and appendages . In Krupp MA , Schroeder SA, Tierney LM Jr(eds): Current Medical Diagnosis and Treatment, East Norwalk, CT Appleton and Lange 1987: 48-94
3. SingerTR, Isenber SJ, Aptl: conjunctival anaerobic and aerobic bacterial flora in pediatric vs adults subjects. Br J Ophthalmol 72:448,1988
4. McNatt J, Allen SD, Wilson LA, Dowell VR: Anaerobic flora of the normal human conjunctival sac. Arch Ophthalmol 96:1448,1978
5. Brown DH: The conjunctival flora of nursing home patients and staff. Annals ophthalmol 33,1978
6. Weiss A, Brinser JH, Nazar-Stewart: Acute conjunctivitis in childhood. J Pediatric 122:10,1993
7. Groden LR, Murphy B, Rodnite J et al: Lid flora in blepharitis . Cornea 10:50, 1991
8. Au YK, Jensen HG, Rowsey J, Reynolds M: Coagulase negative staphylococci in conjunctivitis and blefaritis . Eye Sci 9:129,1993
9. Taylos PB, Tabbara KF, Burd EM: Efect of preoperative fusidic acid on the normal eyelid and conjunctival bacterial flora. Br J Ophthalmol 72: 206, 1988

10. Doyle A, Beigi B, Early A et al : Adherence of bacteria to intraocular lenses: a prospective study. *Br J Ophthalmol* 79:347,1995
11. O`Gara JP, Humphreys H. Staphylococcus epidermidis biofilms: importance and implicaciones. *J Med Microbiol* 2001,50:582-587
12. Leid JG, Costerton JW, Shirtliff ME, Gilmore MS, Engerbert M. Immunology of Staphylococcal biofilm infection in the eye. New tools to study biofilm endophthalmitis. *DNA Cell Biol* 2002;21(5-6):405-13
13. Cramton S, Ulrich M, Götz F, Döring G. Anaerobic conditions induce expression of polysaccharide intracellular adhesin in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis. *Infection and immunity* 2001; (69):4079-4085
14. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms *Clinical Microbiology Reviews* 2002, 15(2): 167-193
15. Gotz F. Staphylococcus and Biofilm . *Mol Microbiol* 2002; 43:1367-78
16. Von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *The Lancet Infectious Diseases*. 2002 2(11).
17. El-Azizi M, Rao S, Kanchanapoom T. In vitro activity of vancomycin, quinupristin/dalfopristin linezolid against intact and disrupted biofilms of Staphy. *Ann Clin Microbiol* 2005; 4:2
18. Tickler D. Biofilms . *Current Opinión in Ophtalmol*199,2:270-275

19. Leid JG, Costerton JW, Shirtliff ME, Gilmore MS, Engelbert M. Immunology of Staphylococcal biofilm infections in the eye: new tools to study biofilm endophthalmitis. *DNA Cell Biol.* 2002 May-Jun;21(5-6):405-13.
20. Bainbridge JW et al. Intraocular lens implants and risk of endophthalmitis *Br J Ophthalmol* 1998;82:1312-1315
21. Kodjikian L, Burillon C, Roques C, Pellon G, Freney J, Renaud F. Bacterial adherence of staphylococcus epidermidis to intraocular lenses: a bioluminescence and scanning electron microscopy study. *Investigative ophthalmology and visual science* 2003; 44: 4388-94
22. Zegans ME, Becker HI, Budzik J, O'Toole G. The role of bacterial biofilms in ocular infections. *DNA Cell Biol* 2000; 21(5-6): 415-20
23. Miyanaga Y. A new perspective in ocular infection and the role of antibiotics. *Ophthalmologica.* 1997;211 Suppl 1:9-14.
24. Locatelli CI, et al. Conjunctival endogenous microbiota in patients submitted to cataract surgery *Braz. J. Microbiol.* 2003,34(3)
25. Yassien M, Khardorin. Interaction between biofilms formed by Staphylococcus epidermidis and quinolones. *Diagn Microbiol Infect Dis*, July 1, 2001; 40(3): 79-89.
26. Elder MJ, Stapleton F, Evans E, Dart JK. Biofilm-related infections in ophthalmology. *Eye* 1995;9:102-109

VIII. ANEXOS, CUADROS Y GRÁFICAS

Anexo No. 1 Hoja de recolección de datos

NOMBRE

EXP. EDAD DM

DIAGNOSTICO

OTRO DIAGNOSTICO OFTALMOLOGICO

TIEMPO DE EVOLUCIÓN LC

SINTOMAS

ARDOR PRURITO DOLOR

SENSACIÓN DE CUERPO EXTRAÑO OJO ROJO

LAGRIMEO SECRECIÓN

SIGNOS

ESCAMAS EN PESTAÑAS

HIPEREMIA CONJUNTIVAL

SECRECIÓN DE GLANDULAS DE MEIBOMIO

EDEMA DE PARPADOS

DISMINUCIÓN DEL TRL

QUERATITIS PUNTEADA INFERIOR

PELICULA LAGRIMAL OLEOSA

PTERGIÓN

FOLICULOS PAPILAS

NEOVASCULARIZACIÓN DE LA PERIFERIA
DE LA CórNEA

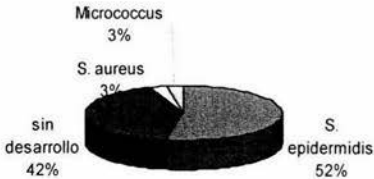
Anexo 2. Tabla de sensibilidad y resistencia de acuerdo al diámetro del halo originado por el antibiótico.

Antibiótico	Resistente	Intermedio	Sensible
Ciprofloxacina	≤ 15	16-20	≥ 21
Eritromicina	≤ 13	14-22	≥ 23
Gatifloxacina	≤ 14	15-17	≥ 18
Oxacilina	≤ 17	-----	≥ 18
Vancomicina	≤ 11	-----	≥ 12
Cloranfenicol	≤ 12	13-17	≥ 18

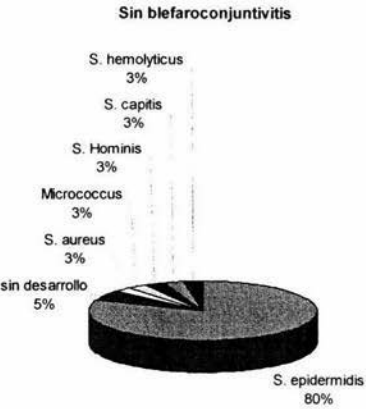
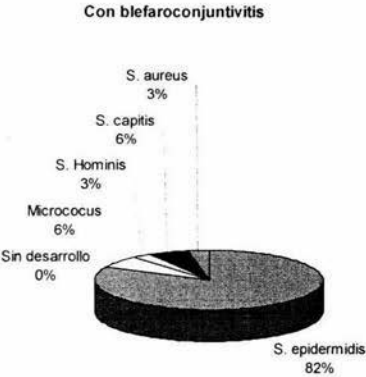
Anexo 3. Microorganismos aislados de fondo de saco conjuntival de pacientes con blefarconjuntivitis y sin blefarconjuntivitis.



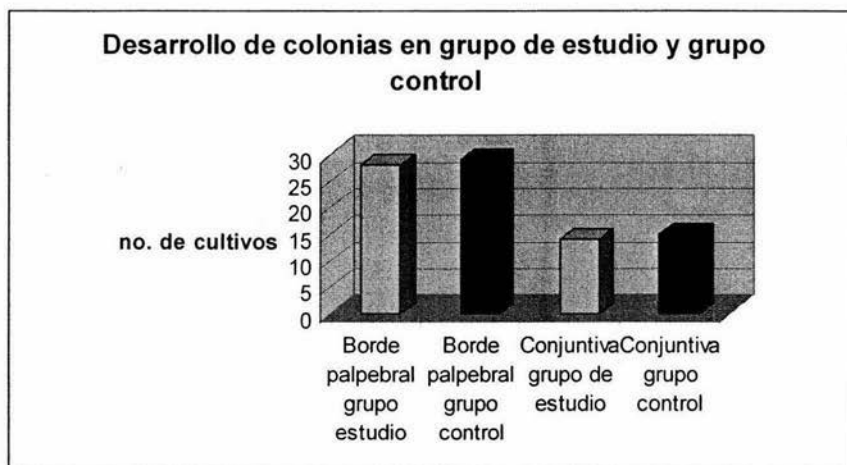
Microorganismos aislado en fondo de saco conjuntival en pacientes sin blefarconjuntivitis



Anexo 4. Microorganismos aislados de borde palpebral de pacientes con blefarconjuntivitis y sin blefarconjuntivitis



Anexo 5. Desarrollo de colonias en grupo control y grupo de estudio.



Anexo 6. *S. epidermidis* formador de biofilm en pacientes con blefaroconjuntivitis.

***S. epidermidis* formador de biofilm en pacientes con blefaroconjuntivitis**

	Blefaroconjuntivitis		
	si	No	
Formador de biofilm	21	13	34
No formador de biofilm	9	17	26
	30	30	60

$\chi^2 = 4.34 > 3.84$, $p < 0.05\%$

Anexo 7. *S. epidermidis* formador de biofilm en muestras de pacientes con blefarconjuntivitis.

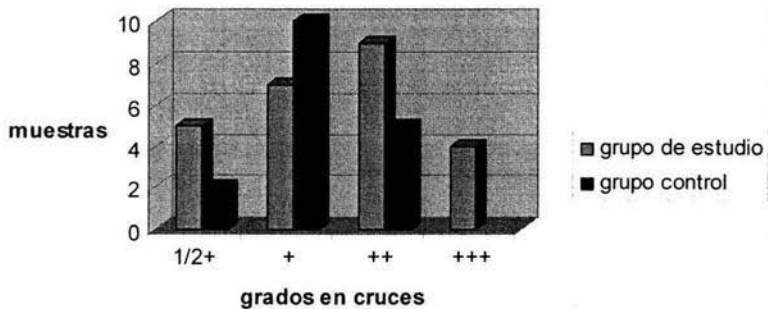
***S. epidermidis* formador de biofilm en muestras de pacientes con blefarconjuntivitis**

	Blefarconjuntivitis		
	si	no	
Formador de biofilm	25	17	42
No formador de biofilm	17	31	48
	42	48	90

$\chi^2 = 5.23 > 3.84$ $p < 0.05\%$

Anexo 8. Grados de Biofilm en grupo de estudio y grupo control.

Grados de Biofilm en grupo de estudio y grupo control



Anexo 9. Sensibilidad y resistencia de *S. epidermidis* pacientes con blefarconjuntivitis y sin blefarconjuntivitis.

Sensibilidad y resistencia de *S. epidermidis* pacientes con blefarconjuntivitis y sin blefarconjuntivitis

	Gatifloxacina		Cloranfenicol		Ciprofloxacina		Oxacilina		Eritromicina		Vancomicina	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
Grupo de estudio	40	43	34	8	31	11	14	28	13	29	42	0
Grupo control	2	5	36	12	31	17	14	34	16	32	48	0

Anexo 10. Sensibilidad a Eritromicina de *S. epidermidis* formador de biofilm y no formador de biofilm.

Sensibilidad a Eritromicina de *S. epidermidis* formador de biofilm y no formador de biofilm

	SENSIBILIDAD		
	si	no	
Formador de biofilm	16	26	42
No formador de biofilm	14	34	48
	30	60	90

$X^2 = 0.8 < 3.84$ no es estadísticamente significativa

Anexo 11. Sensibilidad a Oxacilina de *S. epidermidis* formador de biofilm y no formador de biofilm.

Sensibilidad a Oxacilina de <i>S. epidermidis</i> formador de biofilm y no formador de biofilm				
	SENSIBILIDAD			
	si	no		
Formador de biofilm	15	27		42
No formador de biofilm	16	32		48
	31	59		90
$\chi^2 = 0.06 < 3.84$ no es estadísticamente significativa				

Anexo 12. Sensibilidad a Ciprofloxacina de *S. epidermidis* formador de biofilm y no formador de biofilm.

Sensibilidad a Ciprofloxacina de <i>S. epidermidis</i> formador de biofilm y no formador de biofilm				
	SENSIBILIDAD			
	si	no		
Formador de biofilm	26	16		42
No formador de biofilm	33	15		48
	59	31		90
$\chi^2 = 0.46 < 3.84$ no es estadísticamente significativa				

Anexo 13. Sensibilidad a Gatifloxacina de *S. epidermidis* formador de biofilm y no formador de biofilm.

Sensibilidad a Gatifloxacina de <i>S. epidermidis</i> formador de biofilm y no formador de biofilm				
		SENSIBILIDAD		
		si	no	
Formador de biofilm		39	3	42
No formador de biofilm		44	4	48
		83	7	90
$\chi^2 = 0.04 < 3.84$ no es estadísticamente significativa				

Anexo 14. Sensibilidad a Cloramfenicol de *S. epidermidis* formador de biofilm y no formador de biofilm.

Sensibilidad a Cloramfenicol de <i>S. epidermidis</i> formador de biofilm y no formador de biofilm				
		SENSIBILIDAD		
		si	no	
Formador de biofilm		33	9	42
No formador de biofilm		37	11	48
		70	20	90
$\chi^2 = 0.03 < 3.84$ no es estadísticamente significativa				