

Incidencia de la flora conjuntival bacteriana previo a cirugía refractiva

Dr. Oscar Fernández Vizcaya, Dra. Regina Velasco Ramos, Dr. Oscar Baca Lozada,
Dr. Alejandro Babayan Sosa, Dra. Paz Juárez Flores

RESUMEN

Objetivo: Determinar la incidencia de los principales microorganismos de flora conjuntival previa a cirugía refractiva. **Método:** Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo, transversal, observacional, durante los meses de mayo de 2006 a marzo de 2007. Se obtuvieron cultivos mediante un sistema de recolección y transporte de muestras (BBL Culture Swab, Becton Dickinson SPA) y frotis de conjuntiva de pacientes sanos, previos al procedimiento.

Resultados: Se estudiaron 177 ojos de 89 pacientes, 64 femeninos y 25 masculinos, con edad promedio de 29.5 años. De éstos, 32 estaban colonizados y 57 con resultados negativos, representando 35.9% y 64% respectivamente. Se reportaron 38 casos como Gram positivos, de los cuales la mayoría correspondieron a *Staphylococcus epidermidis* resistentes a sulfas y tobramicina.

Conclusiones: Al igual que estudios previos acerca de flora conjuntival, existe un claro predominio de Gram positivos, especialmente *Staphylococcus epidermidis*. Las muestras obtenidas pudieran compararse posteriormente con la epidemiología encontrada en las infecciones posteriores a cirugía refractiva para determinar la profilaxis antibiótica de una población determinada o establecer un tratamiento específico en caso de presentarse una queratitis infecciosa.

Palabras clave: Flora conjuntival, *Staphylococcus epidermidis*, queratitis.

SUMMARY

Purpose: To determine the incidence of the most frequent conjunctival micro-organisms in patients undergoing refractive surgery.

Methods: A prospective, descriptive, transversal and observational study was carried out between May 2006 and March 2007. Conjunctival cultures were obtained with a collection and transportation system (BBL Culture Swab, Becton Dickinson SPA), cytology was also obtained from healthy patients prior to the procedure.

Results: One hundred and seventy seven eyes from 89 patients were studied, 64 females and 25 males, with a mean age of 29.5 years. From these 32 presented positive colonization and 57 were negative, representing 35.9% and 64%. Thirty eight cases were reported as Gram-positive, from which the majority corresponded to *Staphylococcus epidermidis* resistant to sulfonamides and tobramycine.

Conclusions: In accordance to previous reports from conjunctival flora there is a clear predominance of Gram positives, especially of *Staphylococcus epidermidis*. The samples obtained could be compared with the later refractive surgery infections to set the basis of a prophylactic scheme of a determined population and establish a specific treatment in the case of an infectious keratitis.

Key words: Conjunctival flora, *Staphylococcus epidermidis*, keratitis.

INTRODUCCIÓN

La queratitis infecciosa es una complicación rara asociada con cirugía refractiva, con una incidencia aproximada de 0.12% (1). Perez-Santonja y cols. reportaron el primer caso de infección corneal posterior a LASIK dada por *Nocardia asteroides* (2).

Se sabe que la prevalencia de infecciones corneales posteriores a cirugía refractiva es muy variable entre los diferentes países y aun entre las diferentes poblaciones. Aunque estas infecciones sean poco frecuentes, el número de casos se ha incrementado de manera importante en años recientes (3).

Las micobacterias atípicas y los cocos Gram positivos (CGP) se encuentran entre los principales patógenos cau-

santes de estas complicaciones (1, 3, 4). Las infecciones por Gram positivos generalmente se presentan durante los primeros siete días del postoperatorio y se asocian con dolor, secreción, defectos epiteliales y reacción en cámara anterior, mientras que las causadas por micobacterias, con una incidencia de 1 en 1000 a 1 en 5000, y generalmente tienen un periodo de incubación de hasta 10 días. Además, se piensa que la incidencia por estas últimas puede ser mucho mayor, sin embargo, muchos casos no se diagnostican (3, 5-7). La infección bilateral se ha asociado con el virus de inmunodeficiencia humana y puede ocurrir tanto en el periodo postoperatorio temprano como en el tardío (2).

El diagnóstico y tratamiento de las infecciones corneales requiere la identificación y aislamiento oportuno de los organismos causales (8). Se ha considerado que existe la posibilidad de contaminación microbiana durante la cirugía debido a los párpados, las pestañas, la conjuntiva, partículas aéreas y material quirúrgico como el láser, las soluciones y el microquerátomo (2, 7). Los diversos factores predisponentes para la infección posterior a LASIK incluyen blefaritis, dacriocistitis, ojo seco, uso prolongado de lentes de contacto, infección por VIH, entropión con triquiasis, iatrogenia (esteroides tópicos), abuso de anestésicos, utilización de goteros contaminados y defectos epiteliales (2).

Dentro de estos factores predisponentes no está considerada la prevalencia de los microorganismos localizados en la superficie corneal previo al procedimiento, lo cual podría ser un dato importante para los casos en los que no existen antecedentes de ningún otro factor predisponente. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio es determinar si la flora conjuntival previa a un procedimiento de cirugía refractiva pudiera ser considerada un factor relevante para los casos en los que no existen antecedentes de ningún otro factor predisponente para las infecciones posteriores.

La principal flora aislada en párpados y conjuntiva son *Staphylococcus epidermidis*; variedades de éste que son coagulasa negativos, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis*, *Corynebacterium difteroides* y *Propionibacterium acnes* (9, 10).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio prospectivo, descriptivo, transversal, observacional, donde se incluyeron todos los pacientes que cumplieran los criterios para ser candidatos a cirugía refractiva y que fuesen sometidos a ésta durante el periodo de mayo de 2006 a marzo de 2007.

Los criterios de exclusión fueron pacientes con cirugía refractiva previa, así como con las contraindicaciones para cirugía refractiva como ectasias, embarazo, diabetes mellitus, inmunocompromiso o infecciones previas diagnosticadas, y pacientes en tratamiento con sumatriptan, amiodarona o retinol.

La recolección de muestras se llevó a cabo previa al procedimiento, así como a la utilización de cualquier antibiótico o anestésico utilizado para el mismo.

El procedimiento de recolección de muestras se dividió en dos partes; la primera, la toma de cultivo, se realizó mediante un hisopo, haciendo pasar el mismo sobre los bordes y fondo de saco palpebral inferior.

Para este procedimiento se utilizó, como sistema de recolección y transporte de muestras microbiológicas, un medio de transporte de la marca BBL Culture Swab, el cual se encuentra inyectado con gas nitrógeno que modifica la atmósfera del empaque aspirando el aire presente, cuenta también con un sistema de sellado el cual cambia de transparente a blanco una vez abierto, además el medio está marcado con un número de lote y fecha de caducidad para llevar un control en la utilización del producto dentro de las fechas prescritas. El medio contiene un aplicador con el hisopo dentro de un tubo de poliuretano.

Para llevar a cabo la toma de las muestras, se consideró individualizar una muestra de cada ojo, en los casos en que la cirugía se llevara a cabo en ambos ojos. Para la utilización del medio de transporte se separan las películas plásticas, retirando la tapa del tubo de transporte, a su vez, se retira el hisopo y se recolecta la muestra, haciendo girar el hisopo dentro de la conjuntiva bulbar, tarsal y fondo de saco y se introduce nuevamente en el tubo. Se utilizaron hisopos extra largos (13.5 cm), para facilitar el acceso a la zona de muestreo sin presentar contaminación, con punta de rayón suave, aséptica y no tóxica para los microorganismos. El tubo en su interior presenta una esponja de espuma de poliuretano para almacenar el medio líquido suficiente; una columna de Agar gel de 5 ml de capacidad ofrece protección al hisopo y mejora la calidad de la muestra.

En la etiqueta adherida al tubo de poliuretano se colocaron los datos del paciente así como su edad, sexo, fecha de la toma y hospital de procedencia. Los medios de transporte contenidos en el tubo fueron líquidos Stuart, Amies y Cary Blair, diseñados para albergar una amplia variedad de bacterias. El glicerofosfato presente en la fórmula de Stuart es metabolizado por bacterias como coliformes y Gram negativas, ocasionando la proliferación de esos microorganismos en las muestras. Sales de calcio y magnesio fueron agregadas ya que estos iones son importantes para controlar la permeabilidad de las células bacterianas contribuyendo a su supervivencia.

La toma de frotis se llevó a cabo mediante el raspado de la conjuntiva con una espátula metálica, colocando la muestra sobre dos portaobjetos previamente marcados con nombre, edad y sexo del paciente; así como con dos círculos marcados con un lápiz de punta de diamante o en su defecto con marcador indeleble en la parte inferior de los portaobjetos, para representar el sitio donde debían ser depositadas las muestras.

Las muestras se fijaron mediante la aplicación de citospray y calor por medio de un mechero Bunsen colocado a 15 cm de distancia, previo al transporte de las muestras.

Los resultados del crecimiento bacteriano y frotis a partir de la conjuntiva fueron transportados y examinados posteriormente antes de transcurridas 72 h. y el resultado fue

reportado por el laboratorio una semana después de entregadas las muestras.

RESULTADOS

Se analizaron 177 ojos correspondientes a 89 personas sanas, 64 pacientes del sexo femenino y 25 del sexo masculino, con una edad promedio de 29.5 años, en la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz de la ciudad de México, durante los meses de mayo 2006 a marzo 2007.

De los 89 pacientes estudiados, sólo 32 estaban colonizados y 57 presentaron resultados negativos correspondiendo a 35.9 y 64% respectivamente.

El total de microorganismos colonizantes de la conjuntiva fueron CGP, en su mayoría presentando 41 casos (42.2%) y el resto con un caso representando el 1%: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis*, *Gemella morbillorum*, *Micrococcus varians*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus similans*.

Los resultados obtenidos por el antibiograma muestran que la resistencia principal de *Staphylococcus epidermidis* es a sulfas, tetraciclinas y tobramicina, mientras que el resto de la población de microorganismos hallados presenta una sensibilidad y resistencia muy similar a la de *S. epidermidis*. Únicamente *Gemella morbillorum* se mostró resistente a quinolonas particularmente a ofloxacina, como se muestra en el cuadro 1.

DISCUSIÓN

Es interesante el cambio que se ha venido desarrollando en los patógenos encontrados como causantes de queratitis en cirugía refractiva. En 2001 la American Society of Cataract and Refractive Surgery (ASCRS) reportaba que 50% de los patógenos causantes eran especies de mycobacterias como *chelonae*, *fortuitum* y *abscessus* entre otros; mientras que el mismo estudio en 2004 reportó como causante a las mycobacterias en menos del 5%. Se piensa que esto se debió probablemente a la importante difusión que se le dio al tema y a la llegada de las quinolonas de cuarta generación (11).

A pesar de lo ya mencionado, en muchos hospitales la profilaxis previa al procedimiento se sigue realizando con antibióticos como la tobramicina el cual, como podemos observar en nuestro estudio, presenta un número considerable de casos resistentes en cuanto a CGP y no tiene acción alguna sobre las micobacterias.

Una causa importante de que la conjuntiva esté colonizada fundamentalmente por bacterias grampositivas, especialmente estafilococos, se debe a la facilidad con que estas bacterias llegan al ojo por estar presentes en las proximidades y en el resto de la piel. Así *S. epidermidis*, la bacteria más frecuentemente aislada, es el microorganismo predominante en la piel humana. Se ha observado variación de la flora conjuntival y palpebral normal, dependiendo de la edad del paciente, sin embargo *S. epidermidis* y *Corynebacterium spp.* continúan siendo los microorganismos más frecuentemente encontrados como parte de la flora normal. Estudios reportan tan sólo 30 a 40% de colonización en la población estudiada (12).

Se ha encontrado un ligero aumento de *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Moraxella catharralis* antes de los 18 años y escasa presencia de patógenos entre los 20 y 35 años. De los 40 a 90 años un aumento de *Streptococcus viridans* y cocos Gram negativos (CGN) como *Proteus vulgaris* o *Morganella morganii*. La presencia de esporas por hongos depende de la zona en que se haya realizado el estudio, algunos hongos no patógenos comúnmente observados son *Pytirosporom orbiculare* o *Pytirosporom ovale* (10).

Es difícil asumir la participación de la flora conjuntival en la etiología de las queratitis postquirúrgica refractiva a no ser que existan circunstancias favorecedoras. En cuanto a *S. epidermidis* sería importante definir si los criterios que pueden implicar a esta bacteria como patógena, como se observa en otros procedimientos como cirugía de catarata, en el que está bien identificada como uno de los principales agentes etiológicos de la endoftalmitis postquirúrgica.

Los resultados obtenidos por el antibiograma confirman que la utilización de antibióticos de amplio espectro como las quinolonas no sólo ha disminuido la incidencia de infecciones por mycobacterias, sino que es una buena opción por su espectro para grampositivos (11).

Cuadro 1. Representación del antibiograma mostrando en número de casos la resistencia frente a los principales antibióticos

	OX		CIP		TOB		VA		TE		CE		S	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
<i>S. epidermidis</i>	8		8		7	2	8		6	2	7	1	1	7
<i>S. warneri</i>	1		1		1		1		1		1		1	
<i>S. hominis</i>	1		1		1		1		1		1		1	
<i>M. varians</i>	1		1		1		1		1		1		1	
<i>G. morbillorum</i>		1	1		1		1	1	1		1		1	
<i>S. lentus</i>	1		1		1		1		1		1		1	

OX= Ofloxacina, CIP=Ciprofloxacina, TOB= tobramicina, VA= Vancomicina, TE=Tetraciclina, CE= Ceftriaxona, S= Sulfas.

Los primeros reportes obtenidos en el estudio señalaban 100% de negativos, lo que llamaba la atención en relación con lo reportado como porcentaje de colonización normal, probablemente debido al mal procesamiento de las muestras. Se decidió entonces cambiar de laboratorio obteniendo no sólo el resultado reportado sino además el antibiograma específico. Es primordial la elección de un laboratorio de confianza para disminuir los sesgos y evitar al máximo el aumento en el número de falsos negativos.

CONCLUSIONES

Existe un claro predominio de microorganismos Gram positivos, especialmente *Staphylococcus epidermidis*. La prevalencia de la flora observada es similar a la que se aprecia en reportes previos y las muestras obtenidas pudieran compararse posteriormente con la epidemiología encontrada en las infecciones posteriores a cirugía refractiva.

Reportes recientes mencionan ya como un patógeno importante en las causas de queratitis posterior a cirugía refractiva a los CGP como *S. epidermidis*, lo que concuerda con los resultados de nuestros cultivos, por lo que podría ser conveniente, además de rápido y práctico, obtener un cultivo del paciente previo al procedimiento, el cual en caso de ser positivo y presentarse una queratitis, nos aportará información muy valiosa para su tratamiento (13).

REFERENCIAS

1. Sao Bing L, Oliver K, Strube Y. Fourth-generation fluoroquinolones in the treatment of mycobacterial infectious keratitis after laser-assisted in situ keratomileusis surgery. *Can J Ophthalmol* 2005; 40:750-3.
2. Mittanamalli S, Srinivas K y cols. Complications of laser-in-situ-keratomileusis. *Indian J Ophthalmol* 2002; 50(4):265-282.
3. Chang MA, Jain S, Azar DT. Infections following laser in situ keratomileusis: an integration of the published literature. *Surv Ophthalmol* 2004; 49(3):269-80.
4. John T, Velotta E. Nontuberculous (atypical) mycobacterial keratitis after LASIK: current status and clinical implications. *Cornea* 2005; 24(3):245-55.
5. Verma S, Watson SL, Dart JK, Eykyn SJ. Bilateral Mycobacterium chelonae keratitis following LASIK. *J Refract Surg* 2003; 19(3):379-80.
6. Pache M, Schipper I, Flammer J, Meyer P. Unilateral fungal and mycobacterial keratitis after simultaneous laser in situ keratomileusis. *Cornea* 2003; 22(1):72-5.
7. Yang KS, Chen YF, Lin KK, Hsiao CH. Mycobacterium keratitis after laser in situ keratomileusis. *Cornea* 2005; 24(3):344-6.
8. Robert C. Grayson Enfermedades de la córnea. 4a Ed. Madrid. 1999. p.63-83
9. Moeller C, Branco B y cols. Evaluation of normal ocular bacterial flora with two different culture media. *Can J Ophthalmol* 2005; 40:448-453.
10. Vanzini V. Microbiología oftalmológica. Fascículos de enseñanza clinicopatológica. 1ª ed. 2002 p.1-2.
11. Mah FS. Gaining Perspective. En: Incidence, Prevention & Treatment of Infection. *Ophthalmology Management*, 2006; 10(4).
12. García-Sáenz M, Ortiz P. Flora conjuntival según edades. *Arch Soc Esp Oftal* 1999; 7.
13. Pushker y cols. Microbial Keratitis After Laser in situ Keratomileusis. *J Refract Surg* 2002; 18 280-286.