

**SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA IN VITRO EN MUESTRAS DE CONJUNTIVA,  
CÓRNEA Y LÍQUIDOS INTRAOCULARES EN LA FUNDACIÓN  
OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER – CLÍNICA CARLOS ARDILA LULLE  
(FOSCAL) EN BUCARAMANGA -COLOMBIA**

**CARLOS ANDRÉS WONG MORALES**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE SALUD  
ESCUELA DE MEDICINA  
FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER  
BUCARAMANGA  
2010**

**SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA IN VITRO EN MUESTRAS DE CONJUNTIVA,  
CÓRNEA Y LÍQUIDOS INTRAOCULARES EN LA FUNDACIÓN  
OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER – CLÍNICA CARLOS ARDILA LULLE  
(FOSCAL) EN BUCARAMANGA -COLOMBIA**

**Autor:**

**CARLOS ANDRÉS WONG MORALES**

Trabajo de investigación presentado  
para optar al título de **OFTALMÓLOGO**

**Directores de tesis y asesores metodológicos:**

**ALEJANDRO TELLO HERNÁNDEZ**

Médico Oftalmólogo especialista en Segmento Anterior y Refractiva del Centro Oftalmológico Virgilio Galvis y la Fundación Oftalmológica de Santander – Clínica Carlos Ardila Lulle (FOSCAL)

**VIRGILIO GALVIS RAMIREZ**

Médico Oftalmólogo especialista en Segmento Anterior y Refractiva del Centro Oftalmológico Virgilio Galvis y la Fundación Oftalmológica de Santander – Clínica Carlos Ardila Lulle (FOSCAL)

**DONALDO VILLAREAL MARTÍNEZ**

Bacteriólogo y Laboratorista Clínico, especializado en exámenes oculares del Laboratorio Higuera Escalante – Centro de Diagnostico Ocular OCULAB, Fundación Oftalmológica de Santander – Clínica Carlos Ardila Lulle (FOSCAL)

**JUAN JOSE REY SERRANO**

Médico Epidemiólogo de la Fundación Oftalmológica de Santander – Clínica Carlos Ardila Lulle (FOSCAL), Floridablanca, Santander, Colombia

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE SALUD  
ESCUELA DE MEDICINA  
FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER  
BUCARAMANGA**

**2010**

## RESUMEN

**TITULO:** SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA IN VITRO EN MUESTRAS DE CONJUNTIVA, CÓRNEA Y LÍQUIDOS INTRAOCULARES EN LA FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER – CLÍNICA CARLOS ARDILA LULLE (FOSCAL) EN BUCARAMANGA -COLOMBIA\*

**AUTOR:** WONG MORALES CARLOS ANDRÉS\*\*

**PALABRAS CLAVE:** RESISTENCIA BACTERIANA, ANTIBIÓTICOS, FLUROQUINOLONAS, MOXIFLOXACINA, GATIFLOXACINA

**OBJETIVO:** DETERMINAR LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA IN VITRO DE LA FLORA OCULAR PATÓGENA EN CULTIVOS DE INFECCIONES OCULARES EN LA FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER - CLÍNICA CARLOS ARDILA LULLE (FOSCAL)

**Materiales y métodos:** Estudio descriptivo retrospectivo de una serie de registros de cultivos de muestras de superficie ocular y líquidos intraoculares del laboratorio OCULAB-FOSCAL en Floridablanca, Colombia realizados entre Enero y Diciembre del 2007. Se realizó antibiograma por el método de Kirby-Bauer con sensidiscos impregnados de concentraciones determinadas de antibiótico (Gatifloxacin, Moxifloxacin, Levofloxacin, Ciprofloxacina, Penicilina, Vancomicina, Gentamicina, Amikacina, Imipenem).

**Resultados:** Se recogió un total de 352 muestras de los cuales 160 fueron de conjuntiva, 150 fueron de córnea y 42 de líquidos intraoculares. Se recuperó más de un microorganismo en 45.65%. El total de bacterias identificadas fue de 385 siendo Gram positivos en 78.7% y Gram negativos en 18.4%. La resistencia global de todas las bacterias aisladas para los Gram positivos ordenados de menor a mayor resistencia fue: gatifloxacin 6.3%, moxifloxacin 8.9%, vancomicina 8.9%, imipenem 11.4%, ciprofloxacina 33.2%, levofloxacin 35.6% y penicilina 80.8%. La resistencia global para los Gram negativos ordenados de menor a mayor resistencia fue: gatifloxacin 7.4%, imipenem 14.8%, moxifloxacin 16.7%, levofloxacin 16.7%, ciprofloxacina 25.9%, amikacina 29.3% y gentamicina 50.0%. La resistencia bacteriana global a la moxifloxacin fue de 10.15% y a la gatifloxacin fue de 6.46%, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

**Conclusiones:** En nuestro estudio, es una realidad el desarrollo de resistencia por parte de las bacterias en oftalmología. Las fluoroquinolonas de cuarta generación comparada con las de tercera y segunda presentaron diferencias significativas, especialmente para Gram positivos. Entre gatifloxacin y moxifloxacin, mostró menores niveles de resistencia la primera. La interpretación de esta superioridad debe, sin embargo, hacerse con cuidado en el campo clínico, ya que se deben tomar en cuenta otros factores como la penetración tisular.

---

\* Proyecto de Grado

\*\* Universidad Industrial de Santander, Facultad de Salud, Escuela de Medicina, Director:  
Alejandro Tello Hernandez

## ABSTRACT

**TITULO:** SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA IN VITRO EN MUESTRAS DE CONJUNTIVA, CÓRNEA Y LÍQUIDOS INTRAOCULARES EN LA FUNDACIÓN OFTALMOLÓGICA DE SANTANDER – CLÍNICA CARLOS ARDILA LULLE (FOSCAL) EN BUCARAMANGA -COLOMBIA\*

**AUTOR:** WONG MORALES CARLOS ANDRÉS\*\*

**KEY WORDS:** BACTERIAL RESISTANCE, ANTIBIOTICS, FLUROQUINOLONAS, MOXIFLOXACIN, GATIFLOXACIN

**Objective:** To evaluate the antibiotic susceptibility in vitro of the ocular pathogenic bacterias isolates of ocular infections in the Fundación Oftalmológica de Santander - Clínica Carlos Ardila Lülle (FOSCAL).

**Materials and methods:** We performed a descriptive retrospective study in which we analyze a record of the cultures taken from the ocular surface and intraocular samples in eye infections of the clinical laboratory OCULAB – FOSCAL in Floridablanca, Colombia from January to December 2007. The antibiogram was performed by the Kirby-Bauer technique with sensidiscs impregnated of previously fixed antibiotic concentration (Gatifloxacin, Moxifloxacin, Levofloxacin, Ciprofloxacin, Penicilin, Vancomycin, Gentamicin, Amikacin, Imipenem).

**Results:** Population included 352 reports of culture samples: 160 were from conjunctiva, 150 were from cornea and 42 from intraocular liquids. We had more than one organism in 147 cultures (45.65%). The total of bacterias isolated were 385 been Gram positive bacterias in 78.7% and Gram negative in 18.4%. The global resistance for the Gram positive bacteria in all samples was gatifloxacin 6.3%, moxifloxacin 8.9%, vancomycin 8.9%, imipenem 11.4%, ciprofloxacin 33.2%, levofloxacin 35.6% and penicilin 80.8%. The global resistance for the Gram positive bacteria in all samples was gatifloxacin 7.4%, imipenem 14.8%, moxifloxacin 16.7%, levofloxacin 16.7%, ciprofloxacin 25.9%, amikacin 29.3% and gentamicin 50.0%. The global resistance to the moxifloxacin was 10.15% and to the gatifloxacin was 6.46%. This difference was statistically significant ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** In our study, it's a fact the development of bacterial resistance in ophthalmology. The fourth generation fluoroquinolones compared to the third and second generation fluoroquinolones had important differences in resistance, especially for Gram positive bacteria. The difference between gatifloxacin and moxifloxacin showed lower resistance levels for the first one ( $p < 0.05$ ). Nevertheless, the interpretation of this difference must be carefully taken because the big difference in the treatment in vivo with the cultures in vitro.

---

\* Proyecto de Grado

\*\* Universidad Industrial de Santander, Faculty of health, Medicine School, Director: Alejandro Tello Hernandez

## CONTENIDO

1. JUSTIFICACIÓN	11
2. MARCO TEÓRICO	12
2.1 FAMILIAS DE ANTIBIOTICOS	12
2.1.1 PENICILINA	12
2.1.2 AMINOGLICÓSIDOS	16
2.1.3 VANCOMICINA	18
2.1.4 IMIPENEM	19
2.1.5 FLUOROQUINOLONAS	20
2.2 SUSCEPTIBILIDAD Y RESISTENCIA	22
2.3 ANTIBIOGRAMA	22
3. OBJETIVOS	24
4. MATERIALES Y MÉTODOS	25
5. RESULTADOS	27
5.1 DISTRIBUCION GENERAL	27
5.2 DISTRIBUCION POR AREAS ANATOMICAS	28
5.3 DISTRIBUCION POR ANTIBIOTICOS	28
5.3.1 MOXIFLOXACINA (Tabla IV)	28
5.3.2 GATIFLOXACINA (Tabla V)	29

5.3.3 LEVOFLOXACINA (Tabla VI)	29
5.3.4 CIPROFLOXACINA (Tabla VII)	30
5.3.5 VANCOMICINA (Tabla VIII)	30
5.3.6 IMIPENEM (Tabla IX)	31
5.3.7 PENICILINA (Tabla X)	31
5.3.8 AMIKACINA (Tabla XI)	31
5.3.9 GENTAMICINA (Tabla XII)	31
5.4 DATOS DE RESISTENCIA GLOBAL	32
5.5 COMPARACION ENTRE LA RESISTENCIA A LAS FLUOROQUINOLONAS	32
5.6 MULTIGERMEN VS MONOGERMEN	33
5.7 SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIOTICA DE LOS STAPHYLOCOCCUS Y PSEUDOMONAS	33
6. DISCUSIÓN	35
7. CONCLUSIONES	42
8. RECOMENDACIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	64

## LISTA DE TABLAS

Tabla I: Tabla de interpretación de sensibilidad antibiótica de BBL®Sensi-Disc®	45
Tabla II: Distribución por sitio de muestra	46
Tabla III: Distribución por sexos y sitios de muestra	46
Tabla IV: Sensibilidad antibiótica a moxifloxacina	47
Tabla V: Sensibilidad antibiótica a gatifloxacina	47
Tabla VI: Sensibilidad antibiótica a levofloxacina	48
Tabla VII: Sensibilidad antibiótica a ciprofloxacina	48
Tabla VIII: Sensibilidad antibiótica a vancomicina	49
Tabla IX: Sensibilidad antibiótica a imipenem	49
Tabla X: Sensibilidad antibiótica a penicilina	50
Tabla XI: Sensibilidad antibiótica a amikacina	50
Tabla XII: Sensibilidad antibiótica a gentamicina	51
Tabla XIII: Resistencia antibiótica de los Staphylococcus aureus coagulasa positivos	51
Tabla XIV: Resistencia antibiótica de los Staphylococcus aureus coagulasa negativos	52
Tabla XV: Resistencia antibiótica de las Pseudomonas	53

## LISTA DE GRAFICAS

Gráfico I: Total de muestras positivas y negativas	54
Gráfico II: Total de distribución de bacterias	55
Gráfico III: Total de distribución de hongos	56
Gráfico IV: Total de distribución de parásitos	56
Gráfico V: Distribución de bacterias Gram positivas	57
Gráfico VI: Distribución de bacterias Gram negativas	58
Gráfico VII: Distribución de gérmenes en conjuntiva	59
Gráfico VIII: Distribución de gérmenes en córnea	60
Gráfico XII: Resistencia de las fluoroquinolonas a los Gram Positivos	62
Gráfico XIII: Resistencia de las fluoroquinolonas a los Gram Negativos	63

## 1. JUSTIFICACIÓN

En medicina, tenemos la necesidad permanente de desarrollar nuevos acercamientos preventivos y terapéuticos para combatir la aparición de nuevas infecciones y de sus mecanismos resistencia al tratamiento.

El oftalmólogo se enfrenta a diversos tipos de infecciones: conjuntivitis, queratitis, blefaritis y endoftalmitis. Las más comunes son las infecciones superficiales, como las conjuntivitis, que afortunadamente no llevan a consecuencias serias y pueden incluso ser autolimitadas sin tratamiento antimicrobiano. Por otra parte, las infecciones de la córnea o las del segmento posterior como las endoftalmitis y las retinitis, pueden dejar serias secuelas visuales. La endoftalmitis ha sido asociada a pérdida visual severa en el 20% de pacientes<sup>1</sup> y requiere a menudo vitrectomía y aplicación de antibióticos intravítreos. Debido a la severidad de este tipo de infecciones, la prevención es la línea de manejo más adecuada y los regímenes antibióticos profilácticos han llegado a ser la regla.

El uso común y prolongado de los antibióticos (ya sea sistémicos o tópicos) nos puede llevar a la aparición de resistencia bacteriana y de hecho, algunos estudios recientes han sugerido que este fenómeno podría estar apareciendo incluso con las modernas fluoroquinolonas de cuarta generación<sup>2</sup>.

Debido a la alta incidencia de infecciones oculares y la creciente resistencia bacteriana, decidimos revisar la susceptibilidad antibiótica in vitro de la flora ocular patógena en cultivos de infecciones oculares con los antibióticos más comúnmente utilizados en la Fundación Oftalmológica de Santander - Clínica Carlos Ardila Lulle (FOSCAL), centro de remisión de oftalmología ubicado en Bucaramanga (departamento de Santander, Colombia) para las regiones de los departamentos de Cesar, Arauca, Santander y Norte de Santander. La información recogida será útil en la selección empírica de antibióticos para las diferentes infecciones oculares antes de obtener los resultados de los cultivos, y adicionalmente nos dará un panorama real de la resistencia microbiana en nuestro medio. Dentro de los antibióticos evaluados, se tomaron tanto los que son preparados a manera de fórmula magistral para uso tópico oftalmológico (penicilina, amikacina, vancomicina e imipenem); como los medicamentos de uso comercial, incluyendo las 4 fluoroquinolonas más utilizadas : moxifloxacina, gatifloxacina, levofloxacina y ciprofloxacina.

## 2. MARCO TEÓRICO

La introducción de agentes antimicrobianos en la medicina fue uno de los avances más importantes en la medicina moderna. Según su origen, los antibióticos pueden ser biológicos o naturales (sintetizados por organismos vivos, ej. penicilina, cloranfenicol), semisintéticos (obtenidos por modificación química de antibióticos naturales, ej. ampicilina) o sintéticos (generados mediante síntesis química, ej. sulfas).

Desde mediados del siglo XX, cuando se introdujeron muchos nuevos antimicrobianos de uso clínico se evidenció el incremento de las tasas de resistencia de organismos previamente susceptibles. Para combatir el desarrollo y diseminación de organismos resistentes, se propone el uso racional de antibióticos preexistentes así como el descubrimiento y desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos<sup>3</sup>.

En Oftalmología, se utilizan preparados antibióticos por diversas vías: tópica (gotas), subconjuntival e intravítreo. Las presentaciones tópicas comerciales utilizadas más comúnmente son las sulfonamidas, aminoglicósidos, combinaciones con polimixina y las fluoroquinolonas<sup>4</sup>; sin embargo, también se utilizan preparaciones magistrales como vancomicina, imipenem, penicilinas y cefalosporinas dependiendo del organismo causante de la infección y de su susceptibilidad antibiótica.

A continuación realizaremos una revisión de cada familia de antibióticos.

### 2.1 FAMILIAS DE ANTIBIOTICOS

#### 2.1.1 PENICILINA

La penicilina fue el primer antibiótico empleado ampliamente en medicina. Descubierta por Alexander Flemming en 1928 a partir de experimentos con hongos del género *Penicillium notatum*, lo cual lo hizo acreedor del Premio Nobel de Medicina en 1945. La penicilina G fue el primer antibiótico sintético utilizado por primera vez en Londres en 1941<sup>5</sup>.

Las penicilinas son del grupo de los betalactámicos, derivados del ácido 6-aminopenicilánico, cuya estructura básica es un anillo de tiazolidina unido a un anillo beta-lactámico, difiriendo entre sí según la sustitución en la cadena lateral de su grupo amino. La presencia del anillo betalactámico define químicamente a esta familia de antibióticos. El término penicilina se usa a menudo, en sentido genérico, para cualquiera de las variantes que derivan de la penicilina misma, en especial, la benzilpenicilina. Estas tienen la mayor actividad contra organismos Gram positivos, cocos Gram negativos, espiroquetas y organismos anaerobios que no

producen beta-lactamasa. Sin embargo, presentan una baja actividad contra bacilos Gram negativos, micoplasmas y organismos intracelulares como Rickettsias o Chlamidias. Todos son susceptibles a la hidrólisis por beta-lactamasas, que son enzimas que hidrolizan el anillo betalactámico y que inactivan el antibiótico. Y su producción puede estar mediada por plásmidos o puede estar cromosómicamente codificada (gen *meca*)<sup>6</sup>. Para evitar la resistencia por beta lactamasas, se pueden administrar en conjunto con inhibidores de betalactamasas como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam; los cuales tienen una mínima actividad antibacteriana.

La pared celular bacteriana es indispensable para su división celular, procesos de transporte de sustancias dependiendo de su permeabilidad y además tiene una alta capacidad patógena y antigénica por la presencia de endotoxinas bacterianas. Hay importantes diferencias en la estructura de la pared entre las bacterias Gram positivas y Gram negativas, de las que cabe destacar la mayor complejidad y contenido en lípidos en las Gram negativas. El mecanismo de acción de los beta-lactámicos se da por inhibición de la síntesis de la pared bacteriana e inducción de la autólisis bacteriana; son bactericidas ya que producen inhibición del proceso de transpeptidación de la síntesis de peptidoglicanos ubicados en la pared celular bacteriana, estructura que no existe en las células humanas. Se unen a la enzima transpeptidasa, responsable de producir una serie de enlaces cruzados entre las cadenas de péptidos, debilitando la pared celular y favoreciendo la lisis osmótica de la bacteria y la fagocitosis por los granulocitos.

La unión a proteínas es muy variable y solo la fracción libre es activa. Los betalactámicos tienen una distribución corporal amplia, con concentraciones séricas y tisulares adecuadas en la mayoría de los tejidos, incluidos la bilis y el líquido sinovial; atraviesan sin problemas la barrera placentaria, pero no penetran bien ni en el sistema nervioso central no inflamado ni en el ojo. Sin embargo, cuando hay inflamación meníngea, la penetración a través de la barrera hematoencefálica aumenta de 3 a 10 veces, lo que permite concentraciones terapéuticas en algunos de ellos. Al tratarse de sustancias poco lipofílicas, su penetración intracelular es escasa y casi nunca alcanzan niveles mayores del 25 al 50% de las concentraciones plasmáticas<sup>7</sup>.

La excreción de la mayoría de los betalactámicos es vía renal mediante filtrado glomerular y secreción tubular; excepto la cefoperazona o la ceftriaxona, que su excreción predomina por vía biliar. En general, es necesario ajustar la dosis del betalactámico en sujetos con filtrado glomerular inferior a 50ml/min. Las penicilinas se clasifican en 2 grupos: naturales y semisintéticas. Las penicilinas naturales son aquellas generadas sin intervención biotecnológica. Entre ellas destacan la bencilpenicilina (penicilina G) y la isopenicilina N (penicilina N).

Las biosintéticas, en cambio, se producen mediante adición de determinados compuestos en el medio de cultivo del biorreactor empleado durante su producción, es decir, sin que tenga lugar un aislamiento y una modificación química. Entre las biosintéticas encontramos: la fenoximetilpenicilina (penicilina V), la alilmercaptometilpenicilina y la benzilpenicilina sintética.

La penicilina G es el estándar de las penicilinas. Por lo general se administra por vía parenteral (intravenosa o intramuscular), porque tiende a perder estabilidad con el jugo gástrico del estómago. Debido a que se administra inyectada, se pueden alcanzar mayores concentraciones del medicamento en los tejidos que con la penicilina V. Estas mayores concentraciones se traducen en una mayor eficacia antibacteriana. Las ventajas de la penicilina G son su bajo costo, su fácil administración, su excelente penetración en los tejidos y su índice terapéutico favorable. En contraste, las desventajas son su degradación por el ácido gástrico, su destrucción por las beta-lactamasas bacterianas y su asociación con el desarrollo de reacción adversa en cerca del 10% de los pacientes.

La penicilina G procaínica es una combinación de la penicilina G con un anestésico local, la procaína. Esta combinación tiene como fin reducir el dolor asociado con la inyección intramuscular de penicilina. Tras la administración de una inyección intramuscular, el fármaco se absorbe lentamente en la circulación y se hidroliza a bencilpenicilina. Por ello, es administrada cuando se desea que sus concentraciones sean bajas pero prolongadas.

La penicilina G benzatínica es una combinación con benzatina que se absorbe lentamente en la circulación sanguínea después de una inyección intramuscular y luego se hidroliza a bencilpenicilina. Es la primera opción cuando se requiere una concentración baja de bencilpenicilina, permitiendo una acción prolongada del antibiótico por más de 2-4 semanas por cada inyección. La administración de penicilina G benzatínica puede presentar ocasionalmente una reacción alérgica anafiláctica en pacientes hipersensibles.

La penicilina V es la única penicilina activa por vía oral. Tiene una actividad menor que la bencilpenicilina, por lo que se administra cuando no se requiere alcanzar concentraciones elevadas en los tejidos. Con la penicilina oral V, el espectro es prácticamente igual al de la penicilina G. No es inactivada por el jugo gástrico, alcanzándose en poco tiempo concentraciones adecuadas de penicilina en tejidos y plasma. La absorción no está influida por la ingesta de alimentos.

Las penicilinas semisintéticas son aquellas generadas mediante el aislamiento de un intermediario estable durante su producción microbiológica industrial en biorreactores, continuada por la modificación química o enzimática del compuesto aislado. Se dividen según su acción antibacteriana en: resistentes a beta-lactamasas, aminopenicilinas, antipseudomonas y amidinopenicilinas.

Entre las resistentes a las beta-lactamasas tenemos la meticilina, desarrollada por Beecham en 1959, usada principalmente en infecciones por estafilococos productores de beta-lactamasas, como el *Staphylococcus aureus* y algunos

estreptococos<sup>8</sup>. Posteriormente aparecieron la oxacilina y la nafcilina para uso parenteral; y la cloxacilina y la dicloxacilina para uso oral. El representante del grupo de los Resistentes a betalactamasas de Gram negativos es la temocilina, el cual sólo es útil frente a enterobacterias, *Haemophilus* sp y *Neisseria gonorrhoeae*. Las bacterias Gram positivas, anaerobias y *Pseudomona* sp son resistentes a su acción.

Las aminopenicilinas tienen un mayor espectro de acción pero son sensibles a las beta-lactamasas. Entre ellas tenemos a la ampicilina, que es un beta-lactámico con un grupo fenil desarrollada en el 1959. Administrada oralmente, la ampicilina es absorbida, se une parcialmente a proteínas plasmáticas (15 a 25%) y es biodisponible en un 40%. Se excreta principalmente por el riñón. La amoxicilina es otra aminopenicilina que presenta amplio espectro y es indicada para el tratamiento de un gran número de infecciones, incluyendo las del tracto respiratorio, digestivo, genitourinario, sistema nervioso, así como en odontología y durante la erradicación de *Helicobacter pylori* en casos de úlcera péptica. Como estrategia para potenciar la resistencia a las beta-lactamasas, se presenta acompañada de ácido clavulánico.

Las antipseudomónicas son penicilinas de amplio espectro con cobertura de Gram positivos, Gram negativos y anaerobios. Dentro de este grupo existen dos subgrupos, las carboxipenicilinas y las ureidopenicilinas, atendiendo a su eficacia frente a pseudomonas. Las carboxipenicilinas fueron desarrolladas para ampliar el espectro de bacterias Gram negativas cubiertas por penicilinas, tales como infecciones nosocomiales causadas por *Pseudomona aeruginosa*. Inicialmente se fabricó la carbenicilina por sustitución del grupo amino por un grupo carboxilo en la ampicilina y con algunas sustituciones en la carbenicilina, se desarrolló la ticarcilina. Las ureidopenicilinas se crearon derivadas de la molécula de ampicilina para ampliar aún más el espectro contra las bacterias Gram negativas y las *Pseudomonas*. Las ureidopenicilinas penetran bien en los tejidos y tiene excelentes concentraciones tisulares, incluyendo el líquido cefalorraquídeo y hueso. Al igual que las carboxipenicilinas, están asociadas a hipocalcemia, hipernatremia y disfunción plaquetaria. En este grupo de penicilinas están la mezlocilina, azlocilina y la piperacilina.

Las amidinopenicilinas presentan gran eficacia frente a Gram negativos, pero escasa ante cocos Gram positivos debido a su estructura química, la 6-amidinopenicilina. El mecilinam actúa muy bien frente a enterobacterias. Sin embargo, el mecilinam no es capaz de actuar frente a bacterias productoras de beta-lactamasas ni ante *Haemophilus influenzae*, ni *Pseudomona aeruginosa* ni *Bacillus fragilis*. El pivmecilinam es el éster del mecilinam y es indicada en los mismos casos, aunque presenta una ventaja en cuanto a la administración. A diferencia de la anterior amidinopenicilina, ésta se puede administrar por vía oral, hidrolizándose después a mecilinam.

Las bacterias pueden desarrollar resistencia a los betalactámicos por 3 mecanismos: producción de beta-lactamasas (especialmente Gram negativos), modificación en las proteínas de unión a penicilina o alteraciones en la permeabilidad y bombas de eflujo.

Tienen alta tasa de reacciones alérgicas, llegando a ser casi del 10%, pudiendo llegar a tener serias consecuencias. Se han descrito diversos tipos de reacciones, algunas de ellas fatales, en personas a las que se administró penicilina. La penicilina y sus derivados son las causas más frecuentes de reacciones dependientes de la inmunoglobulina E. Las reacciones adversas a la penicilina ocurren en  $\leq 1\%$  de los pacientes que toman el antibiótico. Aunque la alergia a la penicilina es la forma más frecuente de alergia reportada en medicina, menos del 20% de las personas que creen ser alérgicos verdaderamente lo son<sup>7</sup>. Entre las reacciones adversas más comunes están las reacciones de hipersensibilidad<sup>9</sup> (desde urticaria hasta shock anafiláctico, el cual ocurre en el 1 de cada 5000 a 10000 tratados con penicilina y provoca la muerte en el 0,001% de los casos), síndrome de Steven Johnson, trastornos gastrointestinales (diarrea, náuseas y vómitos), infecciones, elevación transitoria de las enzimas hepáticas, trastornos hematológicos, hipocalcemia, nefritis intersticial y encefalopatía. La vía de administración más frecuente con la cual aparecen estas reacciones alérgicas es la endovenosa, y raramente ocurre cuando se administra por vía oral. Para desarrollar la reacción se necesita de una exposición inicial al medicamento o sus determinantes antigénicos, por ejemplo, al ingerir lácteos o productos de animales tratados con penicilina, a través de la leche materna o por el contacto con la droga al administrarla al individuo.

La penicilina tiene un efecto sinérgico con los aminoglicósidos in vitro frente a Gram positivos y negativos<sup>7</sup>; sin embargo, no debe ser tomada conjuntamente con otros antibióticos como el cloranfenicol, la eritromicina, la tetraciclina o la neomicina, entre otros, porque se reduce su efectividad. Se sabe que la penicilina disminuye el efecto de las pastillas anticonceptivas y que las reacciones secundarias ocurren con más frecuencia al combinar la penicilina con los beta-bloqueadores. También interfiere con la absorción del atenolol, y a grandes dosis, la penicilina potencia el efecto de los medicamentos anticoagulantes.

Las penicilinas son agentes usados ocasionalmente en oftalmología, ya que no vienen en preparaciones comerciales tópicas porque son inestables en solución y penetran pobremente en la cornea y humor acuoso. Sin embargo, se usan excepcionalmente por algunos clínicos, siendo preparadas como fórmulas magistrales fortificadas.

### **2.1.2 AMINOGLICÓSIDOS**

Los aminoglicósidos son antibióticos bactericidas y bacteriostáticos que actúan a nivel de ribosomas en el subunidad 30S bacteriana, inhibiendo la de síntesis de proteínas y creando porosidades en la membrana externa de la pared celular bacteriana. Tienen actividad especialmente contra Gram negativos y actúan de forma sinérgica en contra de Gram positivos en conjunto con los beta-lactámicos.

Están formados por una base nitrogenada unida a amino-azúcares y necesitan la presencia de oxígeno en el medio para entrar en la célula. No se absorben vía oral por lo cual su administración es vía parenteral. Se eliminan por vía renal y tienen riesgo de causar nefrotoxicidad y ototoxicidad. Entre los más representativos tenemos: estreptomina, neomicina, gentamicina, tobramicina y amikacina. Existen 3 tipos de aminoglicósidos disponibles de uso comercial para uso oftalmológico: neomicina, gentamicina y tobramicina. Todos tienen un amplio espectro relativo pero son más activos contra los Gram negativos. Debido al uso indiscriminado de estos antibióticos, la resistencia bacteriana ha ido en aumento. La amikacina se puede utilizar en oftalmología como gotas preparadas para tratamiento tópico.

Los aminoglicósidos de uso sistémico no son de uso muy común por la toxicidad que pueden causar al sistema auditivo y vestibular; sin embargo, el uso tópico de estos antibióticos no se ha asociado a estos efectos adversos.

Para disminuir el riesgo de toxicidad se debe evitar el uso prolongado, la depleción de volumen corporal y la administración concomitante de otros agentes potencialmente tóxicos. La nefrotoxicidad se da con elevación de la creatinina y la urea de forma transitoria y revierte en su mayoría de veces al suspender el medicamento. El más nefrotóxico es la gentamicina. La ototoxicidad se da por alteración de las neuronas sensitivas de las ramas coclear y/o vestibular del VIII par craneal. Generalmente es reversible. El más ototóxico es la estreptomina.

La resistencia bacteriana a los aminoglicósidos es debido a la producción de enzimas inactivantes (fosfotransferasas, acetilasas y adenilasas), disminución de la entrada del antibiótico o alteración de las proteínas ribosómicas diana.

La neomicina tiene un espectro muy amplio dentro de los aminoglicósidos. Se encuentra en combinaciones antibióticas comerciales con gran difusión entre los oftalmólogos e incluido en el sistema de salud colombiano (Plan Obligatorio de Salud). Es el más tóxico de los aminoglicósidos y cerca del 10% de los pacientes desarrollan reacción de hipersensibilidad caracterizada por hiperemia conjuntival, quemosis y queratitis luego del inicio de la terapia tópica. Esto puede complicar el cuadro clínico y por esta razón, con drogas mejores y menos tóxicas disponibles, se debe limitar su uso en la práctica clínica.

La gentamicina es otro aminoglicósido disponible en preparaciones comerciales de uso tópico en ungüento o solución al 0.3%, incluida en el Plan Obligatorio de Salud, para infecciones de superficie ocular.

La tobramicina es otro aminoglicósido disponible en solución o ungüento al 0.3%, de amplio espectro incluyendo actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*. Es la menos tóxica de las anteriores y aún tiene cabida en algunas infecciones oculares.

### **2.1.3 VANCOMICINA**

La vancomicina fue descubierta de una muestra de tierra enviada por un misionero en Borneo en 1952 para su análisis por el Dr. Kornfeld de laboratorios Eli Lilly, quien observó un organismo (*Streptomyces orientalis*) que producía un compuesto de alta actividad bactericida contra *Staphylococcus sp*<sup>10</sup>. Hacia el inicio de la década de los 80's, la vancomicina incrementó considerablemente su uso por la aparición de *Staphylococcus* meticilino-resistentes y el aumento de colitis pseudomembranosa<sup>11</sup>.

La vancomicina es un glicopéptido grande con un peso molecular aproximado de 1450 Da. No se absorbe apreciablemente vía oral, por lo cual su administración es endovenosa; y su eliminación es principalmente vía renal con recuperación de más del 80% sin cambios en la orina 24 horas después de administrada una dosis única. En pacientes con depuración de creatinina normal, la vancomicina tiene una fase de distribución de 30 minutos a 1 hora y una vida media de 6 a 12 horas. Su unión a proteínas se ha reportado de 10 a 50%<sup>12</sup>. En relación a efectos adversos, la toxicidad a vancomicina se relacionó con impurezas en el proceso de manufactura. Se describió un potencial nefrotóxico hasta en un 5% y un potencial ototóxico que no ha sido demostrable en humanos; siendo estos efectos mínimos y no relacionados a concentraciones séricas de la droga<sup>12</sup>.

Su mecanismo de acción es el bloqueo de la síntesis de peptidoglicanos para la formación de la pared celular mediante la unión de alta afinidad al d-Ala-d-Ala-C final del pentapéptido, bloqueando la adición de precursores tardíos por transglicosilación a la cadena de peptidoglicano nuevo y previniendo la subsecuente transpeptidación, generando la autólisis de la bacteria<sup>13</sup>. La vancomicina no penetra en el citoplasma, por lo cual, su interacción con su objetivo se produce luego de la translocación de precursores para la superficie externa de la membrana. Tiene muy buena cobertura para Gram positivos. Es una droga muy tóxica y se reserva como último recurso extremadamente efectivo para infecciones severas que puedan comprometer la vida, organismos resistentes o alergia a otros medicamentos. La resistencia a la vancomicina inició con cepas de *Enterococcus sp* reportadas en Europa y la costa este de Estados Unidos de América en 1988. Desde ahí, los enterococos vancomicina-resistentes se han diseminado rápidamente y se encuentran actualmente como gérmenes

intrahospitalarios en casi todos los países del mundo<sup>13</sup>. La resistencia antibiótica emergente usualmente ocurre por: 1) mutaciones de genes reguladores o estructurales preexistentes, 2) unión con DNA ajeno y/o 3) mutación de genes reguladores o estructurales adquiridos. Estas alteraciones genéticas abarcan los 4 mecanismos conocidos de resistencia bacteriana: 1) Alteración de los sitios blanco para la unión del antibiótico, 2) Alteración de la permeabilidad por menor diámetro de los poros, 3) Eflujo alterado con aumento de la excreción del antibiótico desde el interior de la bacteria, 4) Alteración del efecto por inactivación del antibiótico<sup>14</sup>. La vancomicina fué administrada por múltiples y casi siempre prolongados ciclos de tratamiento (semanas a meses) e incluso en dosis subterapéuticas y se asocia a interrupción en el control de la infección. La otra razón posible de promoción de la emergencia de resistencia a la vancomicina incluye el uso creciente de glicopéptidos y factores de crecimiento en uso veterinario y agricultura<sup>14</sup>. En oftalmología no existen preparaciones tópicas comerciales pero se utiliza de forma tópica como preparación magistral para infecciones corneales severas, y por vía intravítrea en casos de endoftalmítis. Se ha además empleado diluida en la irrigación de solución salina balanceada<sup>14</sup> o intracamerular<sup>15</sup> como profilaxis en cirugía intraocular.

#### **2.1.4 IMIPENEM**

Imipenem es un antibiótico beta-lactámico de amplio espectro del subgrupo de los carbapenems desarrollado en 1985 para uso endovenoso. Se deriva de un compuesto llamado tienamicina que es producido por la bacteria *Streptomyces cattleya*. Debe ser administrada por vía endovenosa o intramuscular porque no es absorbida eficazmente en el tracto gastrointestinal.

El imipenem interfiere con la síntesis de la pared celular de las bacterias, inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana en Gram negativos y Gram positivos sensibles. Es un medicamento que permanece estable en presencia de betalactamasas como penicilinasas y cefalosporinasas producidas por diferentes gérmenes como mecanismo de resistencia bacteriana; y además es un potente inhibidor de beta-lactamasas de bacterias Gram negativas que son resistentes a la mayoría de antibióticos betalactámicos.

El imipenem tiene un gran espectro antibacteriano incluyendo bacterias Gram negativas, gérmenes aerobios y anaerobios Gram negativos. Es especialmente importante su potencia contra la *Pseudomona aeruginosa*, *Acinetobacter* sp y *Enterococcus* sp. No es activo contra el *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilicina, *Enterococcus faecium* vancomicino-resistente, ni el *Clostridium difficile*. Imipenem, como otros medicamentos del grupo carbapenem, son de uso restringido con el fin de evitar la aparición de resistencia bacteriana.

Debido a que el imipenem tiene una degradación enzimática rápida en los riñones, la administración de cilastina conjuntamente enlentece su degradación

por inhibición de la enzima dehidropeptidasa I, evitando la inactivación de imipenem<sup>16</sup>.

Dentro de las reacciones adversas comunes al imipenem tenemos los trastornos gastrointestinales y las reacciones de hipersensibilidad cruzada con penicilinas u otros beta-lactámicos.

En oftalmología se usa en forma tópica como preparación magistral.

### **2.1.5 FLUOROQUINOLONAS**

Las fluoroquinolonas son agentes bactericidas extremadamente efectivos con amplio espectro con especial actividad sobre los patógenos Gram negativos. Son análogos sintéticos fluorados del ácido nalidíxico cuya función bactericida radica en el bloqueo de la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano por inhibición de las topoisomerasas II y IV. La topoisomerasa II (ADN girasa) se relaciona con el super-enrollamiento y desenrollamiento de la doble hélice del ADN de los procariotes. La topoisomerasa IV se relaciona con la separación del ADN duplicado para que así las células hijas puedan formarse<sup>17</sup>. La actividad contra los Gram negativos radica sobre su acción en la ADN girasa y la inhibición de la topoisomerasa IV correlaciona con su actividad sobre los Gram positivos<sup>18</sup>.

Las quinolonas se categorizan en generaciones basados en la clasificación de su actividad antimicrobiana. La quinolona de primera generación es el ácido nalidíxico (introducido a EEUU en 1962) y su cobertura es moderada para Gram negativos. Su uso clínico fue básicamente para el manejo de infecciones de las vías urinarias no complicadas<sup>4</sup>. Las de segunda generación, que en Oftalmología están representadas por la ciprofloxacina, la ofloxacina y la norfloxacina; tienen un espectro expandido para Gram negativos y patógenos atípicos; pero con cobertura limitada para Gram positivos. La norfloxacina fue la primera quinolona utilizada en el manejo de infecciones oculares como las conjuntivitis<sup>4</sup>. Las de tercera generación (levofloxacina) tienen una cobertura mejorada contra Gram positivos manteniendo su actividad contra Gram negativos y patógenos atípicos. Las de cuarta generación (moxifloxacina y gatifloxacina) mejoran más aún su cobertura contra Gram positivos, cubren anaerobios y mantienen su cobertura contra Gram negativos<sup>19</sup>.

La ciprofloxacina fue aprobada para su uso como terapia tópica para las úlceras corneales bacterianas en Diciembre de 1990. Estudios previos demostraron su efectividad para tratar conjuntivitis bacteriana con una solución al 0.3%. Otros estudios también demostraron que esta fluoroquinolona de segunda generación tiene adecuada penetración en el estroma corneal e intraocular para alcanzar la concentración mínima inhibitoria (CMI) para la gran mayoría de patógenos oculares de acuerdo a las sensibilidades determinadas en la década de finales de los 90's<sup>19</sup>.

En el 2000, la levofloxacin como soluci3n oft3lmica fue aprobada para su uso y se catalog3 como una fluoroquinolona de tercera generaci3n. Esta droga es un is3mero S (forma L) de la ofloxacin y mejor3 su cobertura con los Gram positivos sobre las de segunda generaci3n<sup>19,20</sup>. Utilizado inicialmente para infecciones respiratorias v3a oral o intravenosa, con muy buen efecto anitmicrobiano e incluso con mejor costo-efectivo que las terapias convencionales. Posee muy buena cobertura contra el *Streptococcus pneumoniae* y presenta muy buena tolerabilidad sin efectos adversos de otras fluoroquinolonas m3s recientes como hepatotoxicidad, cardiotoxicidad o fototoxicidad<sup>20</sup>.

Las fluoroquinolonas llamadas de cuarta generaci3n, aprobadas por la FDA en 2003, presentan modificaciones que mejoran su actividad contra bacterias gram-positivas y anaerobios, en relaci3n con un incremento en su efecto sobre la topoisomerasa IV (gatifloxacin y moxifloxacin).

Las fluoroquinolonas tienen baja toxicidad corneal, buena penetraci3n corneal y una tasa r3pida de muerte de agente pat3genos, lo cual le da poco tiempo a las bacterias a adquirir resistencia.

La resistencia a las fluoroquinolonas se identific3 a trav3s de 2 mecanismos: alteraciones en las enzimas blanco de las drogas (mutaciones del genoma bacteriano que causan cambios del sitio blanco del antibi3tico) y alteraciones al acceso de las enzimas blanco (se han identificado un sistema de "bomba de eflujo" que permite la expuls3n activa del antibi3tico del medio intracelular bacteriano a trav3s de la membrana celular<sup>19</sup>).

Mientras que las quinolonas de primera y segunda generaci3n se unen primariamente ya sea a la ADN girasa o a la topoisomerasa IV, variando de acuerdo al tipo de bacteria, las de tercera y cuarta generaci3n se unen firmemente a ambas enzimas. Por ello se considera que mientras una sola mutaci3n en una de las enzimas podr3a causar resistencia a las fluoroquinolonas de primera y segunda generaci3n, se requieren mutaciones en las dos enzimas para que este efecto ocurra en las de de tercera y cuarta generaci3n<sup>21</sup>.

Un estudio que determin3 la susceptibilidad in-vitro y las Concentraciones Inhibitorias M3nimas (CIM) para gatifloxacin y moxifloxacin comparadas con ciprofloxacina, ofloxacin y levofloxacin en microorganismos aislados de queratitis, y mostr3 que las cepas de *Staphylococcus aureus* ten3an mayor susceptibilidad a las quinolonas de cuarta generaci3n<sup>22</sup>.

Resultados similares se obtuvieron en otro estudio donde cepas de *Staphylococcus Aureus* y coagulasa negativos aisladas de casos de endoftalmitis, los cuales fueron resistentes a la ciprofloxacina, a la ofloxacin, y a la levofloxacin, pero fueron sensibles a la gatifloxacin y a la moxifloxacin<sup>21</sup>.

Por ello las fluoroquinolonas de cuarta generaci3n o 8-metoxi fluoroquinolonas son considerados los agentes m3s potentes en la actualidad<sup>23</sup> y son antibi3ticos que van en creciente demanda para el tratamiento y prevenci3n de infecciones oft3lmicas bacterianas tales como infecciones perioperatorias (endoftalmitis) en

cirugía intraocular<sup>24</sup>, conjuntivitis, queratitis y úlceras corneales. Un factor definitivo de este reciente crecimiento en el empleo de las fluoroquinolonas de cuarta generación, es el incremento de la resistencia bacteriana a las fluoroquinolonas de segunda y tercera generación.

En forma tópica, las fluoroquinolonas de cuarta generación se presentan como moxifloxacin al 0.5% (Vigamox®, Laboratorios Alcon, Fort Worth, Estados Unidos) que no tiene preservativos adicionales y gatifloxacin al 0.3% (Zymar® Laboratorios Allergan, Irving, Estados Unidos) que posee cloruro de benzalconio al 0.05%. Ambas fluoroquinolonas tienen una gran penetración ocular, alta potencia, buena seguridad y biodisponibilidad, aunque existen algunas dudas en cuanto a la tolerancia corneal de la moxifloxacin en dosis muy frecuentes<sup>25</sup>. En general, se consideran muy buenas opciones para el tratamiento y prevención de diferentes infecciones oculares<sup>26,27</sup> y por ello su creciente uso tanto en tratamiento como en profilaxis de diferentes procedimientos oftalmológicos.

## **2.2 SUSCEPTIBILIDAD Y RESISTENCIA**

La susceptibilidad a antimicrobianos, junto con la identidad de la bacteria aislada y ciertos factores del hospedero constituyen las bases para la elección de una terapia antimicrobiana adecuada. En el laboratorio, se puede estudiar la susceptibilidad a antimicrobianos que presentan bacterias aisladas desde una muestra biológica (in vitro) pudiendo hacerse por técnicas de dilución o por difusión con normas estandarizadas.

La susceptibilidad antibiótica in vivo es mucho más compleja, ya que hay que considerar la relación con el hospedero, factores intrínsecos del microorganismo y propiedades bioquímicas del antibiótico. Existen múltiples factores que influyen la actividad in vivo del antibiótico como el estado de actividad metabólica de los microorganismos (usualmente menor que in vitro), distribución del medicamento en los diferentes tejidos y órganos, localización de los microorganismos (pueden ser parásitos intracelulares, lo que dificulta la acción antimicrobiana) o sustancias que interfieren con el medicamento como condiciones ambientales dentro del organismo (ej. pH) o fijación por proteínas sanguíneas o tisulares.

## **2.3 ANTIBIOGRAMA**

El antibiograma por dilución es una técnica de referencia en la mayoría de los estudios clínicos de susceptibilidad a antimicrobianos y nos entrega un resultado cuantitativo, ya que permite determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) que se define como la menor concentración de antimicrobiano que inhibe el crecimiento bacteriano luego de 18 a 24 horas de incubación. Se puede realizar en medio líquido (dilución en caldo) o en medio sólido (dilución en agar). Sin embargo es un método complejo y de alto costo. Otra definición básica es la concentración

bactericida mínima (CBM) que es la menor concentración capaz de matar un 99,9% la población bacteriana.

El antibiograma por difusión es el método más usado. Es práctico y sencillo de realizar e implementar y permite analizar un gran número de antibióticos al mismo tiempo y bajo las mismas condiciones, y aunque sólo genera un resultado cualitativo (sensible o resistente), da una información valiosa para el clínico y el investigador.

En los años 40's, se desarrollaron métodos de difusión en agar utilizando disco de papel de filtro seco impregnado de concentraciones específicas de anitbióticos. Bauer et al<sup>28</sup> crearon un procedimiento estandarizado de concentraciones fijas de diversos antibióticos en agar de Mueller Hinton. Luego se publicaron varios procedimientos de referencia normalizados basados en el método de Kirby-Bauer, los cuales finalmente fueron adoptados por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, antes NCCLS) como norma de aceptación general y se actualizan periódicamente. Para el presente estudio se usaron estas técnicas de determinación de la suceptibilidad/resistencia con discos especialmente diseñados (Sensi-Disc®).

Los discos Sensi-Disc® miden 6 mm y se preparan impregnando papel absorbente de alta calidad con cantidades exactas de antibióticos o de otros agentes quimioterapéuticos. Los discos están marcados claramente en ambos lados con letras y números que indican el agente y el contenido del fármaco, cuyo contenido se determina mediante los métodos establecidos por la FDA o por métodos similares o comparables a los publicados en el Federal Register de Estados Unidos.

Se suministran en cartuchos que contienen 50 discos cada uno. Los cartuchos deben ser utilizados en los dispensadores BBL Sensi-Disc, que incluyen un dispensador de un solo disco, un dispensador de 8 posiciones para placas de Petri de 100 mm, dispensadores de autoapisonamiento de 6 y 8 posiciones para placas de 100 mm y un dispensador de autoapisonamiento de 12 posiciones para placas de 150 mm.

Después de la incubación, se examinan las placas, se miden y comparan las zonas de inhibición que rodean los discos con los límites de tamaños de zona establecidos para agentes antimicrobianos individuales (Tabla I) a fin de determinar el agente o agentes más convenientes en la terapia antimicrobiana. Si solo crecen colonias aisladas, el inóculo está demasiado diluido y debe repetirse la prueba.

### **3. OBJETIVOS**

- Determinar el perfil bacteriológico de las muestras de conjuntiva, córnea y líquidos intraoculares in vitro de la Fundación Oftalmológica de Santander – Clínica Carlos Ardila Lulle
- Determinar su susceptibilidad y resistencia antibiótica in vitro a la penicilina, amikacina, vancomicina, imipenem, moxifloxacina, gatifloxacina, levofloxacina y ciprofloxacina.
- Determinar si existe diferencia significativa en la resistencia a las fluoroquinolonas en las muestras in vitro
- Determinar la resistencia antibiótica por separado para los *Staphylococcus* sp y para las *Pseudomona* sp.

#### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente es un estudio descriptivo retrospectivo de una serie de registros de cultivos de muestras de superficie ocular (córnea o conjuntiva) y líquidos intraoculares del laboratorio OCULAB (Fundación Oftalmológica de Santander – Clínica Carlos Ardila Lulle (FOSCAL), Floridablanca, Santander, Colombia) realizados entre Enero y Diciembre del 2007.

Para la toma de muestras de superficie conjuntival, se utilizó un raspado con hisopo de alginato de calcio o de algodón estéril. Para la toma de muestra de córnea, se realizó un raspado con espátula de Kimura estéril y adicionalmente con pinza de relojero se tomaron restos de tejido en la zona comprometida. En algunos casos, se estudió el tejido corneal obtenido en cirugía al realizar queratoplastia penetrante. Para los líquidos intraoculares, la toma se realizó por punción vítrea (humor vítreo) o por paracentesis (humor acuoso).

Para examen directo, se practicó un extendido en la lámina de vidrio y se realizó examen de Gram e hidróxido de potasio (KOH) al 10%. Luego de hacer el extendido para examen directo, se tomó muestra para colocarla en los caldos (ver siguiente párrafo) y en un segundo paso se sembró con asa bacteriológica en agar chocolate con CO<sub>2</sub>, agar sangre y agar Mc Conkey. En caso de sospecha de anaerobios, se cultivó en feniletanol, agar carne-hígado, agar sangre y agar chocolate en anaerobiosis. En casos de sospecha de Acanthamoeba, se realizó observación de la muestra directa en busca de los microorganismos.

Se emplearon diversos caldos de cultivo para poder disponer de varias fuentes de muestra para los cultivos en platos de agar. Dentro de los caldos se incluyeron: caldo nutritivo de baja concentración estándar (extracto de levaduras 3 g/L, CINA 6g/L, base de peptona 15g/L, glucosa 1g/L) y caldo de triptosa (triptosa 20g/L, glucosa 1g/L, CINA 5 g/L, dicloruro de tiamina 0.005/L). Luego de colocar la muestra en el caldo a 37°C, se esperaron entre 30 minutos y 24 horas; y dependiendo de la densidad microbiana, se tomaron muestras para nueva evaluación bajo examen directo y para los cultivos en agar sólido.

Se revisaron los cultivos a las 24, 48 y 72 horas; reportando el crecimiento microbiano en cada cultivo. Si no había crecimiento, se descartaron los medios de cultivo bacterianos a los 5 días.

Se realizó antibiograma solo para las bacterias con cultivo positivo. Para el antibiograma, se tomó una muestra del cultivo sobre el agar, y se colocó en un caldo de cerebro corazón por aproximadamente 12 horas. Luego se extendió en un Agar Mueller Hinton para antibiograma, sembrando 3 veces toda la superficie de la placa girando la misma 60° después de cada siembra para obtener una inoculación uniforme. Se deja la tapa entreabierta por 5 minutos para permitir que se absorba toda la humedad de la superficie y luego se colocan los discos impregnados de antibiótico (Becton Dickinson -BBL™ Sensi-Disc™ Susceptibility Test Discs) específicos para Gram positivos o Gram negativos (método de Kirby

Bauer). Los discos se colocan mediante un dispensador BBL, empleando condiciones asépticas y se depositan de modo que los centros queden a no menos de 24 mm de distancia. Los discos de ciprofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina e imipenem se emplearon en todos los casos por su amplio espectro.

Los sensidiscos antibióticos tenían concentraciones determinadas. Los antibiogramas fueron realizados por metodología convencional de difusión en Agar Mueller Hinton. Se incubaron las placas de agar por 24 horas a 35°C y se estudió el crecimiento bacteriano en ellas. Se valoró el diámetro de la zona de inhibición que se formó alrededor de cada disco como lo descrito en el marco teórico. Con esta referencia podemos informar si el microorganismo es sensible, tiene sensibilidad intermedia o es resistente (S, I, R) a cada uno de los antibióticos ensayados en las placas (Tabla I).

Las variables fueron tomadas con una ficha de recolección individual para cada muestra y traspasadas a una base de datos en Microsoft Excel. Se realizó el análisis de las variables con STATA y Epi Info 6 en conjunto con el epidemiólogo.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 DISTRIBUCION GENERAL

Se recogió un total de 352 muestras para cultivos de diferentes pacientes tomando muestras de diferentes estructuras oculares con cuadros infecciosos (Tabla II). El grupo se dividió en superficie conjuntival (secreción conjuntival), superficie corneal (queratitis y úlceras corneales, muestra de botón corneal, muestra de entrecara de LASIK) y líquidos intraoculares (muestras de humor acuoso y humor vítreo). Del total de muestras 160 fueron de conjuntiva (45.46%), 150 fueron de córnea (42.61%) y 42 de líquidos intraoculares (11.93%).

La distribución por sexos fue de 203 casos para el sexo masculino y de 149 para el sexo femenino Encontrándose mayor incidencia de muestras de córnea y líquidos intraoculares en varones (Tabla III). La diferencia encontrada fue estadísticamente significativa ( $p=0.10$ ) por  $\chi^2$  por Epi Info 6.

Del total de muestras, 322 (91.42 %) fueron muestras positivas. En 30 (8.52%) de las muestras, no se recuperó ningún germen (*Gráfico I*). En el total de muestras positivas, se aislaron 385 bacterias, 67 hongos y 39 parásitos, aislándose así 491 microorganismos en total.

Del total de cultivos, 173 tuvieron un solo germen, 127 presentaron 2 germenos, 19 presentaron 3 germenos y 1 presentó 4 germenos. Se recuperó más de un microorganismo (polimicrobiano) en 147 cultivos (45.65% de las muestras); encontrando solo bacterias (polibacteriano) en 80 cultivos, bacterias más hongos en 39, acanthoamebas más hongos en 6, acanthamoebas más bacterias en 20 y polimicrobiano (bacterias, hongos y acanthamoebas) en 6.

El total de bacterias identificadas fue de 385: 303 Gram positivos (78.7%), 71 Gram negativos (18.4%), 1 anaerobio (0.3%), 2 *Mycobacterium sp* (0.5%) y en 8 casos se sospechó *Chlamydia trachomatis* por la presencia de inclusiones citoplasmáticas sugestivas (2.1%) (*Gráfico II*). El total de hongos fue de 67 en el total de muestras, encontrándose 31 *Aspergillus sp* (46.3%), 18 *Fusarium sp* (26.9%), 14 *Candida sp* (20.9%), 1 *Cladosporidium cladosporides* (1.5%), 1 *Lecitophora mutabilis* (1.5%), 1 *Emmonsia sp* (1.5%) y 1 *Rhizomucor variabilis* (1.5%) (*Gráfico III*). El total de parásitos fue de 39 divididos en 37 *Acanthamoeba sp* (94.9%) y en 2 casos se observaron estructuras compatibles con *Microsporidium sp* (5.1%) (*Gráfico IV*).

En el grupo general, dentro de los Gram positivos, los más comunes fueron los *Staphylococcus sp* (227 casos) incluyendo: 170 *Staphylococcus coagulasa* negativo (incluyendo *S. epidermidis*) y 57 *Staphylococcus aureus coagulasa* positivo. Le siguieron los *Corynebacterium sp* (59 casos), *Streptococcus* no hemolítico tipo B (7 casos), *Bacillus sp* (6 casos), *Streptococcus viridans* (2 casos) y *Enterococcus sp* (2 casos) (*Gráfico V*).

Dentro de los Gram negativos, los más comunes fueron los *Haemophyllus sp* (24 casos), seguidos por *Klebsiella enterobacter* (18 casos), *Pseudomona sp* (11

casos), *Escherichia coli* (7 casos), *Enterobacter sp* (3 casos), *Acinetobacter sp* (2 casos), *Achromobacter* (2 casos); *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi* y *Aeromona hydrophilla* (1 caso cada uno) (Gráfico VI).

## 5.2 DISTRIBUCION POR AREAS ANATOMICAS

Por áreas anatómicas, en conjuntiva se identificaron 207 gérmenes con la siguiente distribución: 75 *Staphylococcus coagulasa* (-) (incluyendo *S. epidermidis*), 36 *Corynebacterium sp*, 32 *Staphylococcus aureus coagulasa* (+), 15 *Haemophyllus sp*, 11 *Candida sp*, 10 *Klebsiella enterobacter*, 8 *Chlamydia trachomatis*, 5 *Escherichia coli*, 4 *Streptococcus* no hemolítico tipo B, 3 *Enterobacter sp*, 2 *Pseudomona sp*, 2 *Achromobacter sp*, 1 *Bacillus sp*, 1 *Enterococo sp*, 1 *Acinetobacter sp*, 1 *Aeromona hydrophilla* (Gráfico VII).

En cornea, se aislaron 231 gérmenes con la siguiente distribución: 77 *Staphylococcus coagulasa* (-) (incluyendo *S. epidermidis*), 37 *Acanthamoeba sp*, 26 *Aspergillus sp*, 18 *Staphylococcus aureus coagulasa* positivo, 17 *Corynebacterium sp*, 16 *Fusarium sp*, 6 *Klebsiella enterobacter*, 6 *Pseudomonas sp*, 4 *Bacillus sp*, 3 *Streptococcus* no hemolítico tipo B, 3 *Haemophyllus sp*, 3 *Candida sp*, 2 *Escherichia coli*, 2 *Microsporidium sp*, 2 *Mycobacterium sp*, 1 *Streptococcus viridans*, 1 *Anaerobios*, 1 *Proteus mirabilis*, 1 *Serratia marcescens*, 1 *Acinetobacter sp*, 1 *Cladosporidium cladosporides*, 1 *Lecitophora mutabilis*, 1 *Emmonsia sp*, 1 *Rhizomucor variabilis* (Gráfico VIII).

En líquidos intraoculares, se recuperaron 53 gérmenes con la siguiente distribución: 18 *Staphylococcus coagulasa* (-) (incluyendo *S. epidermidis*), 7 *Staphylococcus aureus coagulasa* (+), 6 *Haemophyllus sp*, 6 *Corynebacterium sp*, 5 *Aspergillus sp*, 3 *Pseudomonas sp*, 2 *Klebsiella enterobacter*, 2 *Fusarium sp*, 1 *Enterococo sp*, 1 *Streptococcus viridans*, 1 *Bacillus sp*, 1 *Salmonella typhi* (Gráfico IX).

## 5.3 DISTRIBUCION POR ANTIBIOTICOS

El antibiograma se realizó en los cultivos con muestra positiva para bacterias y se colocaron sensibilizadores de moxifloxacina, gatifloxacina, levofloxacina, ciprofloxacina, vancomicina, imipenem, oxacilina, penicilina, amikacina y gentamicina; la selección de los sensibilizadores se hizo de acuerdo al espectro antibiótico teórico contra Gram positivos, Gram negativos o ambos.

### 5.3.1 MOXIFLOXACINA (Tabla IV)

En conjuntiva, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 129 muestras que 68 fueron totalmente sensibles (52.7%), 49 presentaron sensibilidad intermedia (38.0%) y 12 fueron resistentes (9.3%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 30: 16 fueron totalmente sensibles (53.3%), 9 presentaron sensibilidad intermedia (30.0%) y 5 fueron resistentes (16.7%).

En córnea, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 111 muestras que 58 fueron totalmente sensibles (52.3%), 43 presentaron sensibilidad intermedia (38.7%) y 10 fueron resistentes (9.0%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 15 muestras: 8 fueron totalmente sensibles (53.3%), 4 presentaron sensibilidad intermedia (26.7%) y 3 fueron resistentes (20.0%).

En líquidos intraoculares, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 31 muestras que 11 fueron totalmente sensibles (35.5%), 18 presentaron sensibilidad intermedia (58.1%) y 2 fueron resistentes (6.4%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 9 muestras: 4 fueron totalmente sensibles (44.4%), 4 sensibilidad intermedia (44.4%) y 1 fue resistente (11.2%).

### **5.3.2 GATIFLOXACINA (Tabla V)**

En conjuntiva, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 129 muestras que 80 fueron totalmente sensibles (62.0%), 41 presentaron sensibilidad intermedia (31.8%) y 8 fueron resistentes (6.2%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 30 muestras: 21 fueron totalmente sensibles (70.0%), 8 presentaron sensibilidad intermedia (26.7%) y 1 fue resistente (3.3%).

En córnea, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 111 muestras que 65 fueron totalmente sensibles (58.6%), 37 presentaron sensibilidad intermedia (33.3%) y 9 fueron resistentes (8.1%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 15 muestras: 9 fueron totalmente sensibles (60.0%), 4 presentaron sensibilidad intermedia (26.7%) y 2 fueron resistentes (13.3%).

En líquidos intraoculares, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 31 muestras que 18 fueron totalmente sensibles (58.1%), 13 presentaron sensibilidad intermedia (41.9%) y ninguna fue resistente (0%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 9 muestras: 5 fueron totalmente sensibles (55.6%), 3 presentaron sensibilidad intermedia (33.3%) y 1 fue resistente (11.1%).

### **5.3.3 LEVOFLOXACINA (Tabla VI)**

En conjuntiva, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 129 muestras que 38 fueron totalmente sensibles (29.5%), 48 presentaron sensibilidad intermedia (37.2%) y 43 fueron resistentes (33.3%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 30 muestras: 13 fueron totalmente sensibles (43.3%), 11 presentaron sensibilidad intermedia (36.7%) y 6 fueron resistentes (20.0%).

En córnea, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 111 muestras que 27 fueron totalmente sensibles (24.3%), 47 sensibilidad intermedia (42.4%) y 37 resistentes (33.3%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total

de 15 muestras: 5 fueron totalmente sensibles (33.3%), 9 sensibilidad intermedia (60.0%) y 1 resistentes (6.7%).

En líquidos intraoculares, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 31 muestras que 5 fueron totalmente sensibles (16.1%), 15 sensibilidad intermedia (48.4%) y 11 resistentes (35.5%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 9 muestras: 3 fueron totalmente sensibles (33.3%), 4 sensibilidad intermedia (44.5%) y 2 resistentes (22.2%).

#### **5.3.4 CIPROFLOXACINA (Tabla VII)**

En conjuntiva, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 129 muestras que 40 fueron totalmente sensibles (31.0%), 42 sensibilidad intermedia (32.6%) y 47 resistentes (36.4%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 30 muestras: 10 fueron totalmente sensibles (33.3%), 12 sensibilidad intermedia (40.0%) y 8 resistentes (26.7%).

En córnea, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 111 muestras que 34 fueron totalmente sensibles (30.6%), 45 sensibilidad intermedia (40.6%) y 32 resistentes (28.8%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 15 muestras: 4 fueron totalmente sensibles (26.7%), 9 sensibilidad intermedia (60.0%) y 2 resistentes (13.3%).

En líquidos intraoculares, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 30 muestras que 6 fueron totalmente sensibles (20.0%), 13 sensibilidad intermedia (43.3%) y 11 resistentes (36.7%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 9 muestras: 4 fueron totalmente sensibles (44.4%), 1 sensibilidad intermedia (11.2%) y 4 resistentes (44.4%).

#### **5.3.5 VANCOMICINA (Tabla VIII)**

Se realizó el antibiograma con vancomicina solo para los Gram positivos, ya que el espectro de la vancomicina no cubre Gram negativos y no sería de relevancia clínica.

En conjuntiva, se evidenció del total de 129 muestras que 55 fueron totalmente sensibles (42.6%), 60 sensibilidad intermedia (46.5%) y 14 fueron resistentes (10.9%).

En córnea, se evidenció del total de 111 muestras que 56 fueron totalmente sensibles (50.5%), 49 presentaron sensibilidad intermedia (44.1%) y 6 fueron resistentes (5.4%).

En líquidos intraoculares, se evidenció del total de 31 muestras que 14 fueron totalmente sensibles (45.2%), 13 presentaron sensibilidad intermedia (41.9%) y 4 fueron resistentes (12.9%).

### **5.3.6 IMIPENEM (Tabla IX)**

En conjuntiva, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 129 muestras que 82 fueron totalmente sensibles (63.6%), 29 presentaron sensibilidad intermedia (22.5%) y 18 fueron resistentes (13.9%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 30 muestras: 18 fueron totalmente sensibles (60.0%), 8 sensibilidad intermedia (26.7%) y 4 resistentes (13.3%).

En córnea, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 111 muestras que 78 fueron totalmente sensibles (70.3%), 22 sensibilidad intermedia (19.8%) y 11 resistentes (9.9%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 15 muestras: 11 fueron totalmente sensibles (73.3%), 3 sensibilidad intermedia (20.0%) y 1 resistentes (6.7%).

En líquidos intraoculares, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 31 muestras que 21 fueron totalmente sensibles (67.7%), 8 sensibilidad intermedia (25.8%) y 2 resistentes (6.5%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 9 muestras: 6 fueron totalmente sensibles (66.7%), 0 sensibilidad intermedia (0%) y 3 resistentes (33.3%).

### **5.3.7 PENICILINA (Tabla X)**

Se realizó el antibiograma con penicilina solo para los Gram positivos, ya que el espectro de la penicilina no cubre Gram negativos y no sería de relevancia clínica.

En conjuntiva, se evidenció del total de 129 muestras que 11 fueron totalmente sensibles (8.5%), 12 sensibilidad intermedia (9.3%) y 106 resistentes (82.2%).

En córnea, se evidenció del total de 111 muestras que 4 fueron totalmente sensibles (3.6%), 17 sensibilidad intermedia (15.3%) y 90 resistentes (81.1%).

En líquidos intraoculares, se evidenció del total de 31 muestras que 3 fueron totalmente sensibles (9.7%), 5 sensibilidad intermedia (16.1%) y 23 resistentes (74.2%).

### **5.3.8 AMIKACINA (Tabla XI)**

Se realizó el antibiograma con amikacina solo para los Gram negativos, ya que el espectro de la amikacina no cubre Gram positivos y no sería de relevancia clínica.

En conjuntiva, se evidenció del total de 21 muestras: 6 fueron totalmente sensibles (28.6%), 10 sensibilidad intermedia (47.6%) y 5 resistentes (23.8%).

En córnea, se evidenció del total de 14 muestras: 5 fueron totalmente sensibles (35.7%), 5 sensibilidad intermedia (35.7%) y 4 resistentes (28.6%).

En líquidos intraoculares, se evidenció del total de 6 muestras: 0 fueron totalmente sensibles (0%), 3 sensibilidad intermedia (50.0%) y 3 resistentes (50.0%).

### **5.3.9 GENTAMICINA (Tabla XII)**

En conjuntiva, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 23 muestras que 0 fueron totalmente sensibles (0%), 1 sensibilidad intermedia (4.3%)

y 22 resistentes (95.7%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 23 muestras: 1 fueron totalmente sensibles (4.3%), 9 sensibilidad intermedia (39.2%) y 13 resistentes (56.5%).

En córnea, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 29 muestras que 0 fueron totalmente sensibles (0%), 2 sensibilidad intermedia (6.9%) y 27 resistentes (93.1%). En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 14 muestras: 3 fueron totalmente sensibles (21.4%), 6 sensibilidad intermedia (42.9%) y 5 resistentes (35.7%).

En líquidos intraoculares, del grupo de los Gram positivos, se evidenció del total de 6 muestras que el 100% fueron resistentes. En el grupo de los Gram negativos, se evidenció del total de 6 muestras: 0 fueron totalmente sensibles (0%), 2 sensibilidad intermedia (33.3%) y 4 resistentes (67.7%).

#### **5.4 DATOS DE RESISTENCIA GLOBAL**

Se realizó la comparación entre la resistencia de global de todas las bacterias aisladas (sin importar el sitio anatómico de origen) a los diversos antibióticos, observándose que la resistencia total para los Gram positivos ordenados de menor a mayor resistencia fue así: gatifloxacina 6.3% (17 de 271), moxifloxacina 8.9% (24 de 271), vancomicina 8.9% (24 de 271), imipenem 11.4% (31 de 271), ciprofloxacina 33.2% (90 de 271), levofloxacina 35.6% (91 de 271), y penicilina 80.8% (219 de 271). (Gráfico X)

Por su parte, la resistencia total para los Gram negativos ordenados de menor a mayor resistencia fue: gatifloxacina 7.4% (4 de 54), imipenem 14.8% (8 de 54), moxifloxacina 16.7% (9 de 54), levofloxacina 16.7% (9 de 54), ciprofloxacina 25.9% (14 de 54), amikacina 29.3% (12 de 41) y gentamicina 50.0% (21 de 42). (Gráfico XI)

#### **5.5 COMPARACION ENTRE LA RESISTENCIA A LAS FLUOROQUINOLONAS**

Se obtuvo que las fluoroquinolonas de 4ta generación tienen una resistencia menor que las de 3era y 2da generación, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ )

La resistencia bacteriana global (Gram positivas y Gram negativas de cualquier origen anatómico) a la moxifloxacina fue de 10.15% (33 de 325) y a la gatifloxacina fue de 6.46% (21 de 325) siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) por  $\chi^2$  en SPSS 10.

Se obtuvo que la resistencia bacteriana global a la levofloxacina fue de 30.77% (100 de 325) y a la ciprofloxacina fue de 32.0% (104 de 325).

Se realizó la comparación entre la resistencia a las fluoroquinolonas para los Gram positivos, ordenados de menor a mayor resistencia, fue así: gatifloxacina 6.3% (17 de 271), moxifloxacina 8.9% (24 de 271), ciprofloxacina 33.2% (90 de 271), levofloxacina 35.6% (91 de 271). (Gráfico XII)

Por su parte, la resistencia a las fluoroquinolonas para los Gram negativos ordenados de menor a mayor resistencia fue: gatifloxacina 7.4% (4 de 54), moxifloxacina 16.7% (9 de 54), levofloxacina 16.7% (9 de 54), ciprofloxacina 25.9% (14 de 54). (Gráfico XIII)

## **5.6 MULTIGERMEN VS MONOGERMEN**

Se realizó con Epi info 6.0 tablas cruzadas de infección por germen único (monogermen) contra infección polimicrobiana (multigermen) tanto para Gram positivos como para Gram negativos por separado para evaluar si había diferencias en la resistencia bacteriana, no encontrándose diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0.50$  en todos los cruces) por  $\chi^2$ .

## **5.7 SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIOTICA DE LOS STAPHYLOCOCCUS Y PSEUDOMONAS**

Consideramos importante analizar como un grupo separado a los Staphylococcus sp y las Pseudomona sp y su resistencia antibiótica.

Los Staphylococcus aureus coagulasa positivos presentaron resistencia en la muestra de conjuntiva a la moxifloxacina en 4 de 30 cultivos (13.3%), gatifloxacina en 4 de 30 (13.3%), levofloxacina en 11 de 30 (36.7%), ciprofloxacina en 11 de 30 cultivos (36.7%), a la vancomicina en 6 de 30 (20%), imipenem en 8 de 30 (26.7%) y penicilina en 28 de 30 (93.3%). En la muestra de córnea, presentaron resistencia a la moxifloxacina en 1 de 16 cultivos (6.3%), gatifloxacina en 1 de 16 (6.3%), levofloxacina en 8 de 16 (50.0%), ciprofloxacina en 4 de 16 cultivos (25.0%), a la vancomicina en 0 de 16 (0.0%), imipenem en 3 de 16 (18.8%) y penicilina en 13 de 16 (81.3%). En los líquidos intraoculares, presentaron resistencia a la moxifloxacina en 0 de 5 cultivos (0.0%), gatifloxacina en 0 de 5 (0.0%), levofloxacina en 1 de 5 (20.0%), ciprofloxacina en 3 de 5 cultivos (60.0%), a la vancomicina en 0 de 5 (0.0%), imipenem en 0 de 5 (0.0%) y penicilina en 3 de 5 (60.0%). (Tabla XIII)

Los Staphylococcus coagulasa negativos presentaron resistencia en la muestra de conjuntiva a la moxifloxacina en 4 de 66 cultivos (6.1%), gatifloxacina en 3 de 66 (4.5%), levofloxacina en 20 de 66 (30.3%), ciprofloxacina en 29 de 66 cultivos (43.9%), a la vancomicina en 7 de 66 (10.6%), imipenem en 8 de 66 (12.1%) y penicilina en 54 de 66 (81.8%). En la muestra de cornea, presentaron resistencia a la moxifloxacina en 7 de 71 cultivos (9.9%), gatifloxacina en 7 de 71 (9.9%), levofloxacina en 22 de 71 (31.0%), ciprofloxacina en 28 de 71 (39.4%), a la vancomicina en 5 de 71 (7.0%), imipenem en 8 de 71 (11.3%) y penicilina en 58 de 71 (81.7%). En los líquidos intraoculares, presentaron resistencia a la moxifloxacina en 0 de 16 cultivos (0.0%), gatifloxacina en 0 de 16 (0.0%), levofloxacina en 5 de 16 (31.3%), ciprofloxacina en 5 de 16 cultivos (31.3%), a la

vancomicina en 3 de 16 (18.8%), imipenem en 1 de 16 (6.3%) y penicilina en 14 de 16 (87.5%) (Tabla XIV)

Las *Pseudomonas* sp presentaron resistencia en la muestra de conjuntiva a la moxifloxacin en 1 de 3 cultivos (33.3%), gatifloxacin en 0 de 3 (0.0%), levofloxacin en 0 de 3 (0.0%), ciprofloxacina en 0 de 3 cultivos (0.0%), imipenem en 0 de 3 (0.0%), amikacina en 0 de 3 (0.0%) y gentamicina en 1 de 3 (33.3%). En la muestra de cornea, presentaron resistencia a la moxifloxacin en 1 de 5 cultivos (20.0%), gatifloxacin en 1 de 5 (20.0%), levofloxacin en 0 de 5 (0.0%), ciprofloxacina en 1 de 5 cultivos (20.0%), imipenem en 1 de 5 (20.0%), amikacina en 2 de 5 (40.0%) y gentamicina en 0 de 5 (0.0%). En los lquidos intraoculares, presentaron resistencia a la moxifloxacin en 1 de 3 cultivos (33.3%), gatifloxacin en 0 de 3 (0.0%), levofloxacin en 0 de 3 (0.0%), ciprofloxacina en 0 de 3 cultivos (0.0%), imipenem en 0 de 3 (0.0%), amikacina en 1 de 3 (33.3%) y gentamicina en 2 de 3 (66.7%) (Tabla XV).

En cuanto a la diferencia en la resistencia de estos microorganismos a las fluoroquinolonas de cuarta generacin, se encontr mayor resistencia a la moxifloxacin que a la gatifloxacin la cual fue estadsticamente significativa para los *Staphylococcus aureus* coagulasa positivos y negativos ( $p=0.038$  y  $p < 0.005$  respectivamente); pero no fue estadsticamente significativa para la *Pseudomonas* spp ( $P=0.737$ ).

## 6. DISCUSIÓN

El desarrollo de resistencia a los antimicrobianos es una condición prácticamente inevitable, así que es muy importante la determinación local de los niveles de resistencia bacteriana a las diversas sustancias, para que el clínico pueda tener un criterio adecuado para la elección del antibiótico al enfrentarse a un paciente con compromiso infeccioso.

En el presente estudio, se observó un alta incidencia de muestras de sexo masculino, especialmente en las muestras de cornea y líquidos intraoculares, que corresponde con la descripción de Serrano-Calderon y colaboradores<sup>29</sup> en la institución, que en la mayoría de los casos presentaban ulcera corneal o cuerpo extraño intraocular subsecuentes a trauma ocular.

También observamos que la gran mayoría de infecciones (más del 50%) son causadas por bacterias o infecciones mixtas, siendo mayor que la literatura mundial descrita en reportes previos<sup>30</sup>.

Las bacterias más comúnmente encontradas fueron Gram positivos con más del 75% seguidos de Gram negativos con casi un 20%, semejante a lo encontrado por Kunimoto et al en la India<sup>31</sup>. En los 8 casos que se sospecha *Chlamydia trachomatis*, su presencia no pudo ser demostrada y se quedó en sospecha por encontrar inclusiones citoplasmáticas sugestivas. La *Chlamydia* sp es un organismo pequeño e intracelular que depende de su huésped para su replicación y supervivencia. El tracoma se ha reconocido desde la antigüedad y las inclusiones intracitoplasmáticas características de las infecciones por *Chlamydia trachomatis* fueron identificadas en células epiteliales conjuntivales en 1907. En Colombia, no se tiene estadísticas reales de la enfermedad, pero a pesar de que es bastante frecuente la infección genital, es poco frecuente la infección ocular<sup>32</sup>. Es importante tomar en cuenta que la infección por tracoma puede llevar potencialmente a la ceguera, como en países endémicos como África; por lo cual debe instaurarse de inmediato tratamiento médico con tetraciclinas, fluoroquinolonas o macrólidos. Se ha descrito resistencia antibiótica bajo ciertas condiciones<sup>33</sup>.

Se encontró que el organismo más frecuentemente encontrado en todas las áreas anatómicas (conjuntiva, córnea y líquidos intraoculares) fueron los *Staphylococcus* sp. En conjuntiva, el germen más común encontrado fue el *Staphylococcus coagulans* negativo coincidiendo con reportes previos<sup>34,35,36</sup>. El segundo organismo encontrado en frecuencia fue el *Corynebacterium* sp seguido por el *Streptococcus* sp. Para los Gram negativos, se encontró *Haemophilus* sp, *Klebsiella enterobacter*, *Pseudomonas* sp y *Escherichia coli* como las bacterias más comunes.

En córnea, se evidenció una cantidad importante de infecciones por *Acanthamoeba* sp (37 de 231 muestras). Este es un microorganismo poco frecuente (menos del 1% de las úlceras corneales) y usualmente relacionado a patología por uso de lentes de contacto<sup>37,38,39</sup>. Nuestro estudio se correlaciona con la alta prevalencia descrita en un estudio previo realizado en la institución<sup>29</sup> donde se evidenció que un 25% de los pacientes con queratitis infecciosa eran por *Acanthamoeba* sp sin relación al uso de lentes de contacto. No se ha podido determinar las causas de estos hallazgos ni sus factores de riesgo.

El uso empírico de los antibióticos para tratamiento o profilaxis de infecciones en Oftalmología va cambiando con el tiempo según la resistencia antibiótica y el desarrollo de nuevo antibióticos para tratamiento tópico. Infecciones como úlceras corneales o endoftalmitis puede comprometer seriamente la visión, por lo cual el tratamiento temprano empírico y la susceptibilidad antibiótica de los gérmenes locales debe conocerse, ya que esto varía en el mundo de acuerdo a sus condiciones estacionales y climáticas así como sus diferencias culturales. Frecuentemente, se inicia el tratamiento empírico con un antibiótico de amplio espectro.

De los antibióticos analizados, se observó una alta resistencia a los aminoglicósidos (gentamicina y amikacina) en las bacterias Gram negativas, correlacionando con el reporte de Chalita et al<sup>35</sup> donde se evidencia una creciente resistencia a aminoglicósidos a través del tiempo; sin embargo, la gentamicina aun muestra algún efecto sobre la *Pseudomonas* sp, lo que no fue observado en nuestro estudio por tener una muestra muy pequeña de este organismo. Se observó una muy alta resistencia de los Gram positivos a la penicilina (más del 80%), por lo cual debe ponerse en duda la formulación de este antibiótico preparado para tratamiento de infecciones oculares.

Las fluoroquinolonas de uso oftálmico, tienen como ventaja sobre los antibióticos tópicos preparados o fortificados, que vienen disponibles de comercialmente, no requieren de preparación especial, tienen menores costos, tienen mayor tiempo de duración ya que los preparados usualmente vencen en los primeros 10 días, y han sido aprobadas por la FDA para el tratamiento de infección oculares. Por estas razones, enfocaremos la discusión en las fluoroquinolonas y su susceptibilidad antibiótica.

Desde la introducción de las fluoroquinolonas para uso oftálmico, la incidencia de resistencia *in vitro* reportada en pacientes con úlceras y endoftalmitis bacteriana ha ido en aumento<sup>6</sup>. La resistencia a las fluoroquinolonas se puede dar a través de 4 mecanismos: (a) cambios en la enzima blanco (ADN girasa o topoisomerasa IV), (b) cambios en la permeabilidad de las membranas celulares del micro-organismo,

(c) bombas de efusión que causen excreción del antibiótico y (d) una mutación genética que confiera resistencia en las quinolonas. Las áreas del genoma de la bacteria donde generalmente ocurren las mutaciones para resistencia se conocen como QRDR (de sus siglas en inglés *Quinolone Resistance Determining Regions*); siendo estas mutaciones en su mayoría mediadas por plásmidos y se encuentran en la gran mayoría de las veces en la región del gen *gyrA* que codifica una porción de la subunidad que se une al ADN durante la actividad enzimática<sup>4</sup>.

Las fluoroquinolonas, como se mencionó anteriormente, actúan sobre la ADN girasa (topoisomerasa II) y sobre la topoisomerasa IV; siendo las de cuarta generación de mayor acción, menor probabilidad de resistencia bacteriana y mayor espectro de acción porque actúan simultáneamente sobre las dos enzimas. Aunque las pruebas in vitro proveen evidencia de desarrollo de resistencia a las fluoroquinolonas de cuarta generación, no existen estudios clínicos confiables de falla de tratamiento<sup>2</sup>. La resistencia antibiótica a las fluoroquinolonas de segunda generación (ciprofloxacina, ofloxacina) solo requieren de una mutación; mientras que las fluoroquinolonas más nuevas como la moxifloxacina y gatifloxacina fueron específicamente diseñadas para verse menos afectadas por las mutaciones espontáneas, ya que requieren generalmente de 2 mutaciones para generar resistencia<sup>40</sup>, sin embargo el terreno puede estar ya abonado para un crecimiento de la resistencia a estas nuevas fluoroquinolonas, ya que la resistencia a las de anteriores generaciones ha crecido notablemente en la última década, y por ello puede servir de “trampolín” a los micro-organismos para, con una nueva mutación, lograr la resistencia a las fluoroquinolonas de cuarta generación.

Múltiples reportes recientes muestran resistencia a fluoroquinolonas de 2da y 3era generación, y cuestionan su eficacia para tratamiento y profilaxis de infecciones oculares. Estudios previos reportan en muestras de conjuntiva, una incidencia de resistencia bacteriana in vitro de hasta cerca de 30% a ofloxacina<sup>41</sup>. Goldstein et al<sup>36</sup> presentaron una revisión de queratitis bacteriana en Pittsburg en un periodo de 5 años entre 1993 y 1997, encontrando resistencia a la ciprofloxacina en 21.5% de los Gram positivos y 2.7% de los Gram negativos, y la resistencia a la ofloxacina fue de 18.5% y 2.7%, respectivamente. Otro reporte<sup>31</sup> muestra resistencia en 30.7% a la ciprofloxacina en muestras in vitro de queratitis bacteriana, siendo mayor para los Gram positivos, similar a nuestro estudio (en muestras de cornea con 27% en total, 28.8% para Gram positivos y 13.3% para Gram negativos), y observándose un aumento creciente de esta resistencia a través de los años. Mather et al<sup>21</sup> reporta superioridad de las fluoroquinolonas de cuarta generación sobre la ciprofloxacina, ofloxacina y levofloxacina in vitro especialmente sobre los Gram positivos; siendo muy similar su eficacia con los Gram negativos.

En estudios recientes de susceptibilidades bacterianas *in vitro*, se ha evidenciado buena respuesta antibiótica a las fluoroquinolonas de cuarta generación (moxifloxacina y gatifloxacina) y una resistencia en aumento a las de menor generación (levofloxacina y tosufloxacina) en flora conjuntival normal y nos advierte de ciertas cepas de *Staphylococcus* sp con posibles mecanismos de resistencia a las fluoroquinolonas, importante para la práctica clínica en el uso continuo de antibióticos nuevos<sup>4,34</sup>. Se ha reportado una mayor resistencia a las fluoroquinolonas en pacientes con ojo seco<sup>42</sup>.

La selección adecuada de un antibiótico que alcance una concentración adecuada sobre la concentración mínima inhibitoria (MIC) reduce la oportunidad del desarrollo de resistencia bacteriana y debe considerarse para la frecuencia de formulación de la droga, además de la biodisponibilidad y penetrancia de la misma<sup>43</sup>. Las fluoroquinolonas son antibióticos que son bactericidas concentración-dependientes, por lo cual debe alcanzarse la MIC para que sean efectivas. Esto significa que los antibióticos con menor MIC puede ser los más potentes y efectivos. Se ha demostrado en un estudio en conejos y otro en humanos que la administración de moxifloxacina y gatifloxacina tópicas en una frecuencia elevada y por corto tiempo, no presenta efectos adversos sobre el epitelio corneal<sup>44,45</sup>; por lo cual, se puede considerar la administración de una dosis de ataque con administración frecuente para alcanzar la MIC adecuada en la superficie ocular en poco tiempo.

La penetración tisular y una baja MIC son necesarios para una terapia efectiva así como para prevenir resistencia antibiótica, y pueden influenciar en el tratamiento *in vivo* de una infección ocular. Múltiples estudios muestran que la penetrancia de las fluoroquinolonas de cuarta generación penetran más que las de 3era o 2da generación; y dentro de las de 4ta generación, la de mayor penetrancia es la moxifloxacina. Bucci et al<sup>46</sup> reportaron concentraciones de 0.28 y 0.07 µg/ml en humor acuoso para levofloxacina 0.5% y ciprofloxacina 0.3% respectivamente en pacientes a quienes se administró gotas 4 veces al día 2 días antes de la cirugía de catarata. Mc Culley et al<sup>47</sup> reportó la comparación de la penetración a humor acuoso entre las fluoroquinolonas de cuarta generación observándose concentraciones de 1.86±1.06 µg/ml para moxifloxacina 0.5% y de 0.94±0.72 µg/ml para gatifloxacina 0.3%, siendo la diferencia estadísticamente significativa con dosis de 1 gota 4 veces al día previo a cirugía de catarata. Holland et al<sup>48</sup> en pacientes a quienes se realizó queratoplastia penetrante, comparó la concentración de gatifloxacina y moxifloxacina en el botón corneano y humor acuoso, encontrándose mayores concentraciones de moxifloxacina de forma significativa. Otro estudio<sup>49</sup> confirma los resultados del estudio anterior, observándose mayor actividad biológica de la moxifloxacina 0.5% contra *Staphylococcus epidermidis* que la gatifloxacina 0.3% en humor acuoso. Ambas

fluoroquinolonas obtuvieron niveles muy superiores de concentración en humor acuoso con respecto a las de generaciones previas. La penetración superior de la moxifloxacin puede deberse parcialmente a su mayor lipofilia, mayor solubilidad a pH neutro y su mayor concentración en la formulación comercial. En otro estudio realizado por Kleinmann et al<sup>50</sup>, demostraron en modelos animales que al colocar un dispositivo de colágeno remojado previamente en gatifloxacin o moxifloxacin sobre la cornea, alcanza niveles que sobrepasan ampliamente la concentración mínima inhibitoria en cámara anterior, siendo mayor para gatifloxacin ( $6.32 \pm 2.67 \mu\text{g/mL}$ ) que para moxifloxacin ( $3.55 \pm 3.5 \mu\text{g/mL}$ ) de manera estadísticamente significativa ( $p=0.0034$ ) a las 3.5 horas de la colocación del dispositivo. Costello et al<sup>51</sup> compararon la penetración al vítreo de la gatifloxacin 0.3% y moxifloxacin 0.5% en ojos no inflamados previos a vitrectomía pars plana con 1 gota 4 veces al día 3 días antes de cirugía y encontraron que las concentraciones de gatifloxacin ( $0.008 \pm 0.006 \mu\text{g/ml}$ ) y de moxifloxacin ( $0.012 \pm 0.011 \mu\text{g/ml}$ ) no eran estadísticamente significativas, pero que eran menores al 90% de la concentración mínima inhibitoria para los agentes comunes de endoftalmitis postoperatoria aguda.

Las características de los *Staphylococcus* y las *Pseudomonas* se analizan por separado por la frecuencia y la gravedad de las infecciones causadas por estos gérmenes.

El *Staphylococcus aureus* y *epidermidis* son patógenos oculares prominentes en las patologías de superficie ocular. En un estudio reciente, se observó mutaciones en las regiones que determinan la resistencia a las quinolonas (QRDR) en un 50.7% de las cepas de *Staphylococcus epidermidis* tomadas de muestras de conjuntiva normal, reduciendo su sensibilidad a la levofloxacin, gatifloxacin y moxifloxacin<sup>52</sup>. Goldstein et al<sup>36</sup> describe en un periodo de 5 años que hay un aumento de la resistencia del *Staphylococcus aureus* a la ciprofloxacina y la ofloxacina, pasando de 5.8% en 1993 a 35.0% en 1997 y de 4.7% a 35.0% respectivamente. En otros estudios, se muestra que existen falencias en la cobertura de las fluoroquinolonas de 2da generación a los *Staphylococcus coagulasa* negativos y *Streptococcus* sp con una resistencia en aumento a los *Staphylococcus aureus*.

A principios de esta década, algunos estudios<sup>21,34</sup> muestran reportes de muy baja resistencia (cerca del 2%) a las fluoroquinolonas de cuarta generación por los *Staphylococcus* sp, con superioridad estadísticamente significativa sobre las de segunda o tercera generación. Stroman et al<sup>53</sup> describieron una alta efectividad de la moxifloxacin en cepas de *Staphylococcus aureus* y *epidermidis* resistentes a fluoroquinolonas de menores generaciones en pacientes con conjuntivitis y blefaritis infecciosa. Para este patógeno de manera preocupante se ha encontrado en algunos estudios una disminución considerable de la sensibilidad *in vitro* a la

gatifloxacina y a la moxifloxacina, que va en aumento en los últimos años, pudiendo tener implicancia en un futuro para la prevención y tratamiento de infecciones oculares. En un análisis de 111 especímenes de *Staphylococcus coagulasa-negativo* aislados de casos de endoftalmitis entre 1990 y 2004, mostró que la sensibilidad a la gatifloxacina y moxifloxacina disminuyó del 96.6% de los microorganismos recuperados entre 1990 a 1994, a un 65.4% de los aislados entre 2000 y 2004<sup>54</sup>. En otro estudio más reciente del mismo grupo de investigadores del Bascom Palmer Eye Institute, analizando los *Staphylococcus coagulasa-negativos* aislados de endoftalmitis entre 1993 y 2006, la susceptibilidad *in vitro* fue de sólo 48% para la moxifloxacina y de 47% para la gatifloxacina<sup>55</sup>.

En nuestros resultados para *Staphylococcus coagulasa-negativo* los niveles de resistencia fueron mucho menores en las muestras globales y en muestras de córnea, presentaron resistencia a la moxifloxacina el 9.9% de los *S. aureus* coagulasa-negativo y a la gatifloxacina el 9.9%. Ninguno de los *S. aureus* coagulasa-negativo recuperados de líquidos intraoculares presentaron resistencia a las quinolonas de cuarta generación.

La *Pseudomonas aeruginosa* en análisis de susceptibilidad *in vitro* ha mostrado resistencia a las fluoroquinolonas de 10 a 30% en estudios aislados. Yeh et al<sup>30</sup> y Kunitomo et al<sup>31</sup> describieron en sus estudio resistencias del 5.2% y 8.4% a la ciprofloxacina en infecciones corneanas por *Pseudomonas* sp. En un estudio realizado en el Bascom Palmer Eye Institute<sup>56</sup>, se observó que 9 de 423 cultivos de *Pseudomonas* mostraron resistencia *in vitro* a la ciprofloxacina la cual fue en aumento de 0.44% entre 1991 a 1994 a 4.1% de 1995 a 1998.

Aunque autores previos han demostrado susceptibilidades de casi 100% para levofloxacina, moxifloxacina y gatifloxacina; en estudios más recientes, se ha reportado resistencias *in vitro* cercanas al 20% (25% para levofloxacina, 28% para moxifloxacina y 21% para gatifloxacina), lo cual indica que estas fluoroquinolonas tienen buena acción contra esta bacteria pero que tiene un potencial de resistencia antibiótica que debe ser considerada<sup>4</sup>. En el presente estudio, se observa que las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* muestran una resistencia antibiótica relativamente alta a fluoroquinolonas de cuarta generación; pero la muestra nuestra es pequeña y no sobrepasa el 4% (11 de 322 cultivos) del total de la muestra, por lo cual no podemos sacar resultados concluyentes sobre esta germen, teniendo presente que una infección agresiva como la *Pseudomonas* sería difícil de tratar y constituye un riesgo potencial de pérdida severa de visión. En nuestro estudio en las *P. aeruginosa* recuperadas de córnea, presentaron resistencia a la moxifloxacina el 20.0%, a la gatifloxacina el 20.0%. En los líquidos intraoculares se presentaron resistencia a la moxifloxacina un 33.3% y a la gatifloxacina un 0 %.

Existen tres potenciales recomendaciones para evitar o disminuir el aumento de la resistencia bacteriana: (1) reservar estos nuevos agentes para bacterias resistentes, (2) uso selectivo de estos antibióticos para infecciones severas y

profilaxis, y (3) formulación de fluoroquinolonas de cuarta generación y suspensión de las de generaciones anteriores<sup>1</sup>.

## 7. CONCLUSIONES

El uso continuo e indiscriminado de antibióticos en una población conlleva siempre el riesgo de la emergencia de resistencia. La formulación indiscriminada de antibióticos en pacientes multitratados con diferentes antibióticos sin la realización de los cultivos necesarios para conocer certeramente cual es la bacteria a tratar genera resistencia.

En el presente estudio, observamos una resistencia en aumento con respecto a estudios previos a todos los antibióticos, por lo cual justificaría el cambio hacia antimicrobianos con menor resistencia como las fluoroquinolonas de cuarta generación, especialmente en situaciones donde sea crítica la acción antibacteriana, como en tratamiento de infecciones corneales o intraoculares y profilaxis de endoftalmitis.

La resistencia en aumento es indicativo que los médicos oftalmólogos deben darse una tregua ante cuadros infecciosos conjuntivales y anexos resistentes al primer antibiótico elegido sin estudios de microbiología y no ordenar un segundo antibiótico sin realizar los cultivos necesarios. En pacientes con úlceras corneales o endoftalmitis, es necesario conocer el germen causal por la gravedad de la patología y para el tratamiento específico de la misma.

Evidenciamos una muy alta resistencia en patógenos en general para la penicilina (80.8% en Gram positivos) y gentamicina (50.0% en Gram negativos), siendo esta última droga del Plan Obligatorio de Salud y primera línea de tratamiento en Medicina General para infecciones de superficie ocular y como profilaxis de Oftalmía Neonatorum, demostrándose que es necesario cambio de línea de tratamiento por su alta resistencia bacteriana como lo observado en otros estudios<sup>35</sup>.

Imipenem y vancomicina como soluciones oftálmicas preparadas pueden ser una opción de tratamiento por su baja resistencia. Sin embargo, como limitaciones para obtener estas soluciones oftálmicas se encuentra su elevado precio y su poco tiempo de vida (menor de 1 semana) luego de preparado. Las fluoroquinolonas, especialmente las de cuarta generación, son de mucha utilidad para patologías corneoconjuntivales y presentan todavía una baja tasa de resistencia a patógenos oculares; pero se debe ser consciente que ya un porcentaje de patógenos han desarrollado la resistencia, y esto parece ir en aumento.

Con respecto a los patógenos específicos, la *Pseudomonas aeruginosa* sigue siendo una bacteria que presenta alta resistencia; sin embargo, en nuestro estudio debido a la poca muestra es difícil determinar su sensibilidad antibiótica. Los *Staphylococcus sp* mostraron una baja resistencia a estos 2 importantes antibióticos y siguen siendo una muy buena opción de tratamiento. Sin embargo,

la resistencia va en aumento con respecto a reportes previos por lo cual se deben manejar estos antibióticos con mucha cautela<sup>54</sup>.

*EN SANTANDER, ES UNA REALIDAD EL DESARROLLO DE RESISTENCIA POR PARTE DE LAS BACTERIAS A TODAS LAS FLUOROQUINOLONAS, INCLUYENDO LAS DE CUARTA GENERACIÓN. SIN EMBARGO LOS PORCENTAJES DE RESISTENCIA DE LAS DE CUARTA GENERACIÓN COMPARADA CON LAS DE TERCERA Y SEGUNDA ES MENOR DE MANERA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA, ESPECIALMENTE PARA GRAM POSITIVOS.*

*LA DIFERENCIA ENTRE GATIFLOXACINA Y MOXIFLOXACINA MOSTRÓ MENORES NIVELES DE RESISTENCIA LA PRIMERA DE MANERA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA. LA INTERPRETACIÓN DE ESTA SUPERIORIDAD DEBE, SIN EMBARGO, HACERSE CON CUIDADO EN EL CAMPO CLÍNICO, YA QUE SE DEBEN TOMAR EN CUENTA OTROS FACTORES COMO LA PENETRACIÓN TISULAR DE ESTAS DOS SUSTANCIAS, LA CUAL ES MAYOR PARA LA MOXIFLOXACINA, LO QUE RESULTA EN MAYORES CONCENTRACIONES INTRAOCULARES DE ELLA<sup>47,49</sup>.*

## **8. RECOMENDACIONES**

- Continuar la investigación de estudios bacteriológicos de cultivos para evaluar cambios en la resistencia bacteriana de últimos años
- Correlacionar con el cuadro clínico de los pacientes para evaluar eficacia comparativa in vivo
- Cambio de tratamiento empírico inicial a antibióticos con menor resistencia bacteriana, especialmente en situaciones donde sea crítica la acción antibacteriana, como en tratamiento de infecciones corneales o intraoculares y profilaxis de cirugía intraocular; o reservar estos nuevos agentes para bacterias resistentes
- Cambiar la formulación de fluoroquinolonas de cuarta generación y suspensión de las de generaciones anteriores por la tendencia a que con una mutación adicional puedan generar resistencia a las primeras

## 9. TABLAS

**Tabla I:** Tabla de interpretación de sensibilidad antibiótica de BBL®Sensi-Disc®

AGENTE ANTIMICROBIANO	CÓDIGO	POTENCIA DE DISCO	DIÁMETRO STANDARD INTERPRETATIVO (mm)		
			RESISTENTE (R)	INTERMEDIA (I)	SENSIBLE (S)
<b>VANCOMICINA</b>	VA-30	30 ug			
<i>Staphylococcus sp</i>			-	-	≥ 15
<i>Enterococcus sp</i>			≤ 14	15 - 16	≥ 17
<i>Streptococcus pneumoniae</i> y otros streptococci			-	-	≥ 17
<b>IMIPENEM</b>	IPM-10	10 ug			
<i>Enterobacteriaceae, Pseudomona aeruginosa, Acinetobacter and Staphylococci</i>			≤ 13	14 - 15	≥ 16
<i>Haemophilus spp</i>			-	-	≥ 16
<b>CIPROFLOXACINA</b>	CIP-5	5 ug			
<i>Enterobacteriaceae, Pseudomona aeruginosa, Acinetobacter, Staphylococci, Enterococci</i>			≤ 15	16 - 20	≥ 21
<i>Haemophilus spp</i>			-	-	≥ 21
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>			≤ 27	28 - 40	≥ 41
<b>LEVOFLOXACINA</b>	LVX-5	5 ug			
<i>Enterobacteriaceae, Pseudomonas sp, Acinetobacter, Staphylococcus y Enterococcos</i>			≤ 13	14 - 16	≥ 17
<i>Haemophilus</i>			-	-	≥ 17
<i>S. Pneumoniae</i> y otros Streptococcos			≤ 13	14 - 16	≥ 17
<b>GATIFLOXACINA</b>	GAT-5	5 ug			
<i>Enterobacteriaceae y Staphylococcos sp</i>			≤ 14	15 - 17	≥ 18
<i>Pseudomonas sp, Acinetobacter sp y Enterococcos</i>			≤ 14	15 - 17	≥ 18
<i>Haemophilus influenzae y parainfluenzae</i>			-	-	≥ 18
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>			≤ 33	34 - 37	≥ 38
<i>Streptococcus pneumoniae</i> y otros streptococcos			≤ 17	18 - 20	≥ 21
<b>MOXIFLOXACINA</b>	MXF-5	5 ug			
<i>Enterobacteriaceae y Staphylococcus sp</i>			≤ 15	16 - 18	≥ 19

<i>Haemophilus influenzae y parainfluenzae</i>			-	-	≥ 18
<i>Streptococcus pneumoniae</i>			≤ 14	15 - 17	≥ 18
<b>PENICILINA</b>	P-10	10 UI			
<i>Staphylococcus sp</i>			≤ 28	-	≥ 29
<i>Enterococcus sp</i>			≤ 14	-	≥ 15
<i>Listeria monocytogenes</i>			≤ 19	20 - 27	≥ 28
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>			≤ 26	27 -46	≥ 47
<i>Streptococci</i>			-	-	≥ 24
<b>AMIKACINA</b>	AN-30	30 ug			
<i>Enterobacteriaceae, Pseudomona aeruginosa, Acinteobacter and Staphylococci</i>			≤ 14	15 -16	≥ 17
<b>GENTAMICINA</b>	GM				
<i>Enterococci high level reisitance</i>	GM - 120	120 ug	≤ 6	7 -9	≥ 10
<i>Enterobacteriaceae, Pseudomona aeruginosa, Acinteobacter and Staphylococci</i>	GM-10	10 ug	≤ 12	13 -14	≥ 15

**Tabla II: Distribución por sitio de muestra**

SITIO DE MUESTRA TOMADA	NUMERO DE CULTIVOS	PORCENTAJE DEL TOTAL
Superficie conjuntival	160	45.46%
Superficie corneal	150	42.61%
Líquidos intraoculares	42	11.93%
<b>TOTAL</b>	<b>352</b>	<b>100%</b>

**Tabla III: Distribución por sexos y sitios de muestra**

SITIO DE MUESTRA TOMADA	SEXO		TOTAL
	MASCULINO	FEMENINO	
Superficie conjuntival	79 (49.37%)	81 (50.63%)	160
Superficie corneal	94 (62.67%)	56 (37.33%)	150
Líquidos intraoculares	30 (71.43%)	12 (28.57%)	42
<b>TOTAL</b>	<b>203 (57.77%)</b>	<b>149 (42.33%)</b>	<b>352 (100%)</b>

**Tabla IV: Sensibilidad antibiótica a moxifloxacina**

MOX	GRAM POSITIVOS				GRAM NEGATIVOS			
	S	I	R	T	S	I	R	T
CONJUNTIVA	68 (52.7%)	49 (38.0%)	12 (9.3%)	129 (100%)	16 (53.3%)	9 (30.0%)	5 (16.7%)	30 (100%)
CORNEA	58 (52.3%)	43 (38.7%)	10 (9.0%)	111 (100%)	8 (53.3%)	4 (26.7%)	3 (20.0%)	15 (100%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	11 (35.5%)	18 (58.1%)	2 (6.4%)	31 (100%)	4 (44.4%)	4 (44.4%)	1 (11.2%)	9 (100%)

**Tabla V: Sensibilidad antibiótica a gatifloxacina**

GAT	GRAM POSITIVOS				GRAM NEGATIVOS			
	S	I	R	T	S	I	R	T
CONJUNTIVA	80 (62.0%)	41 (31.8%)	8 (6.2%)	129 (100%)	21 (70.0%)	8 (26.7%)	1 (3.3%)	30 (100%)
CORNEA	65 (58.6%)	37 (33.3%)	9 (8.1%)	111 (100%)	9 (60.0%)	4 (26.7%)	2 (13.3%)	15 (100%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	18 (58.1%)	13 (41.9%)	0 (0.0%)	31 (100%)	5 (55.6%)	3 (33.3%)	1 (11.1%)	9 (100%)

**Tabla VI: Sensibilidad antibiótica a levofloxacin**

LEV	GRAM POSITIVOS				GRAM NEGATIVOS			
	S	I	R	T	S	I	R	T
CONJUNTIVA	38 (29.5%)	48 (37.2%)	<b>43</b> <b>(33.3%)</b>	129 (100%)	13 (43.3%)	11 (36.7%)	<b>6</b> <b>(20.0%)</b>	30 (100%)
CORNEA	27 (24.3%)	47 (42.4%)	<b>37</b> <b>(33.3%)</b>	120 (100%)	5 (33.3%)	9 (60.0%)	<b>1</b> <b>(6.7%)</b>	20 (100%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	5 (16.1%)	15 (48.4%)	<b>11</b> <b>(35.5%)</b>	34 (100%)	3 (33.3%)	4 (44.5%)	<b>2</b> <b>(22.2%)</b>	12 (100%)

**Tabla VII: Sensibilidad antibiótica a ciprofloxacina**

CIP	GRAM POSITIVOS				GRAM NEGATIVOS			
	S	I	R	T	S	I	R	T
CONJUNTIVA	40 (31.0%)	42 (32.6%)	<b>47</b> <b>(36.4%)</b>	129 (100%)	10 (33.3%)	12 (40.0%)	<b>8 (26.7%)</b>	30 (100%)
CORNEA	34 (30.6%)	45 (40.6%)	<b>32</b> <b>(28.8%)</b>	111 (100%)	4 (26.7%)	9 (60.0%)	<b>2</b> <b>(13.3%)</b>	15 (100%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	6 (20.0%)	13 (43.3%)	<b>11</b> <b>(36.7%)</b>	30 (100%)	4 (44.4%)	1 (11.2%)	<b>4 (44.4%)</b>	9 (100%)

**Tabla VIII: Sensibilidad antibiótica a vancomicina**

VAN	GRAM POSITIVOS			
	S	I	R	T
CONJUNTIVA	55 (42.6.9%)	60 (46.5%)	<b>14 (10.9%)</b>	129 (100%)
CORNEA	56 (50.5%)	49 (44.1%)	<b>6 (5.4%)</b>	111 (100%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	14 (45.2%)	13 (41.9%)	<b>4 (12.9%)</b>	31 (100%)

**Tabla IX: Sensibilidad antibiótica a imipenem**

IMI	GRAM POSITIVOS				GRAM NEGATIVOS			
	S	I	R	T	S	I	R	T
CONJUNTIVA	82 (63.6%)	29 (22.5%)	<b>18 (13.9%)</b>	129 (100%)	18 (60.0%)	8 (26.7%)	<b>4 (13.3%)</b>	30 (100%)
CORNEA	78 (70.3%)	22 (19.8%)	<b>11 (9.9%)</b>	111 (100%)	11 (73.3%)	3 (20.0%)	<b>1 (6.7%)</b>	15 (100%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	21 (67.7%)	8 (25.8%)	<b>2 (6.5%)</b>	31 (100%)	6 (66.7%)	0 (0.0%)	<b>3 (33.3%)</b>	9 (100%)

**Tabla X: Sensibilidad antibiótica a penicilina**

PEN	GRAM POSITIVOS			
	S	I	R	T
CONJUNTIVA	11 (8.5%)	12 (9.3%)	<b>106 (82.2%)</b>	129 (100%)
CORNEA	4 (3.6%)	17 (15.3%)	<b>90 (81.1%)</b>	111 (100%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	3 (9.7%)	5 (16.1%)	<b>23 (74.2%)</b>	31 (100%)

**Tabla XI: Sensibilidad antibiótica a amikacina**

AMK	GRAM NEGATIVOS			
	S	I	R	T
CONJUNTIVA	6 (28.6%)	10 (47.6%)	<b>5 (23.8%)</b>	21 (100%)
CORNEA	5 (35.7%)	5 (35.7%)	<b>4 (28.6%)</b>	14 (100%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	0 (0.0%)	3 (50.0%)	<b>3 (50.0%)</b>	6 (100%)

**Tabla XII: Sensibilidad antibiótica a gentamicina**

GEN	GRAM POSITIVOS				GRAM NEGATIVOS			
	S	I	R	T	S	I	R	T
CONJUNTIVA	0 (0.0%)	1 (4.3%)	<b>22</b> <b>(95.7%)</b>	23 (100%)	1 (4.3%)	9 (39.2%)	<b>13</b> <b>(56.5%)</b>	23 (100%)
CORNEA	0 (0.0%)	2 (6.9%)	<b>27</b> <b>(93.1%)</b>	29 (100%)	3 (21.4%)	6 (42.9%)	<b>5</b> <b>(35.7%)</b>	14 (100%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	0 (0.0%)	0 (0.0%)	<b>6 (100%)</b>	6 (100%)	0 (0.0%)	2 (33.3%)	<b>4 (66.7%)</b>	6 (100%)

**Tabla XIII: Resistencia antibiótica de los Staphylococcus aureus coagulasa positivos**

	MOX	GAT	LEV	CIP	VAN	IMI	PEN
CONJUNTIVA	4/30 (13.3%)	4/30 (13.3%)	11/30 (36.7%)	11/30 (36.7%)	6/30 (20%)	8/30 (26.7%)	28/30 (93.3%)
CORNEA	1/16 (6.3%)	1/16 (6.3%)	8/16 (50%)	4/16 (25%)	0/16 (0%)	3/16 (18.8%)	13/16 (81.3%)
LIQUIDOS INTRAOCULARES	0/5 (0%)	0/5 (0%)	1/5 (20%)	3/5 (60%)	0/5 (0%)	0/5 (0%)	3/5 (60%)

**Tabla XIV: Resistencia antibiótica de los Staphylococcus aureus coagulasa negativos**

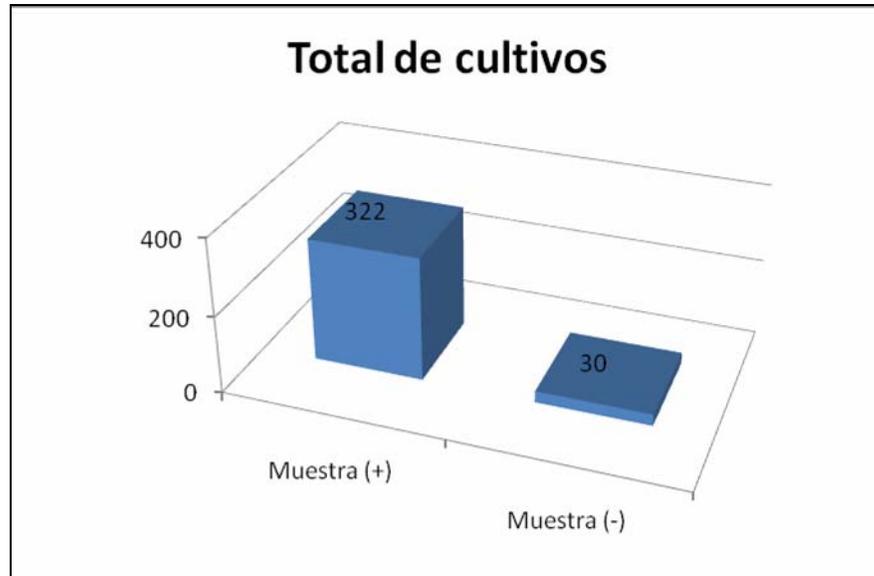
	<b>MOX</b>	<b>GAT</b>	<b>LEV</b>	<b>CIP</b>	<b>VAN</b>	<b>IMI</b>	<b>PEN</b>
<b>CONJUNTIVA</b>	4/66 (6.1%)	3/66 (4.5%)	20/66 (30.3%)	29/66 (43.9%)	7/66 (10.3%)	8/66 (12.1%)	54/66 (81.8%)
<b>CORNEA</b>	7/71 (9.9%)	7/71 (9.9%)	22/71 (31%)	28/71 (39.4%)	5/71 (7%)	8/71 (11.3%)	58/71 (81.7%)
<b>LIQUIDOS INTRAOCULARES</b>	0/16 (0%)	0/16 (0%)	5/16 (31.3%)	5/16 (31.3%)	3/16 (18.8%)	1/16 (6.3%)	14/16 (87.5%)

**Tabla XV: Resistencia antibiótica de las Pseudomonas**

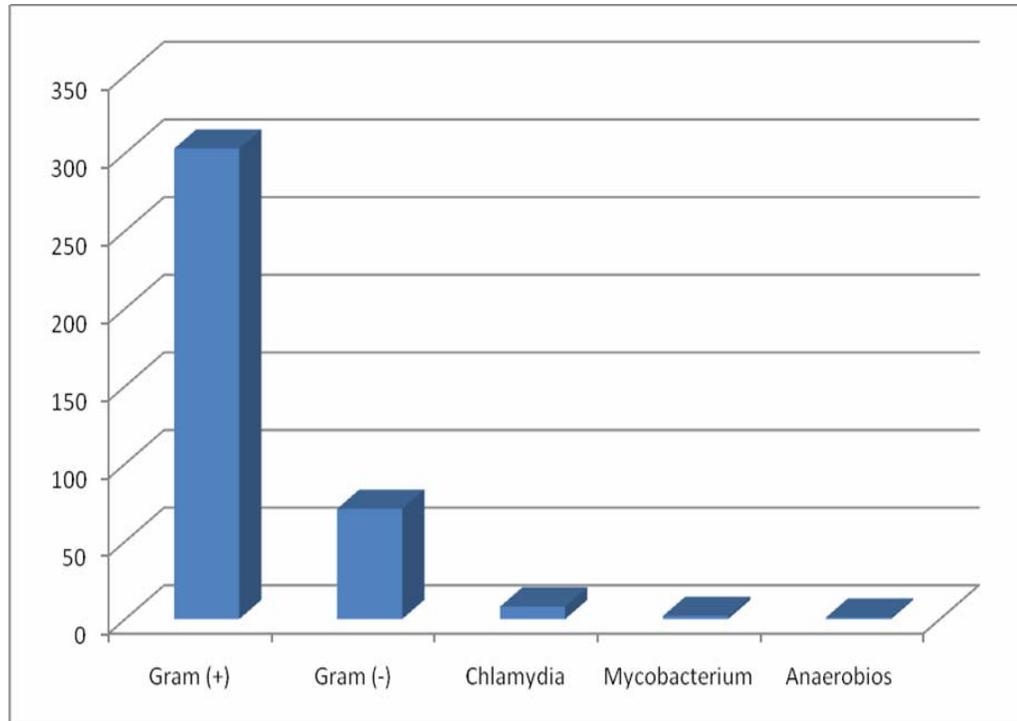
	<b>MOX</b>	<b>GAT</b>	<b>LEV</b>	<b>CIP</b>	<b>IMI</b>	<b>AMK</b>	<b>GEN</b>
<b>CONJUNTIVA</b>	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)
<b>CORNEA</b>	1/5 (20%)	1/5 (20%)	0/5 (0%)	1/5 (20%)	1/5 (20%)	2/5 (40%)	0/5 (0%)
<b>LIQUIDOS INTRAOCULARES</b>	1/3 (33.3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	1/3 (33.3%)	2/3 (66.6%)

## 10. GRAFICOS

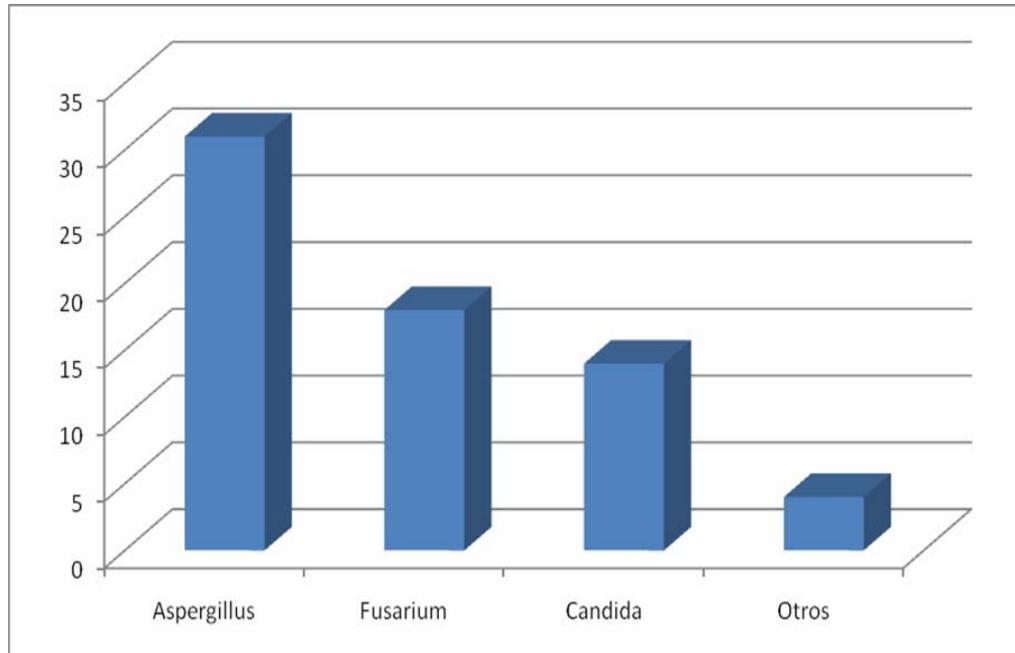
**Gráfico I: Total de muestras positivas y negativas**



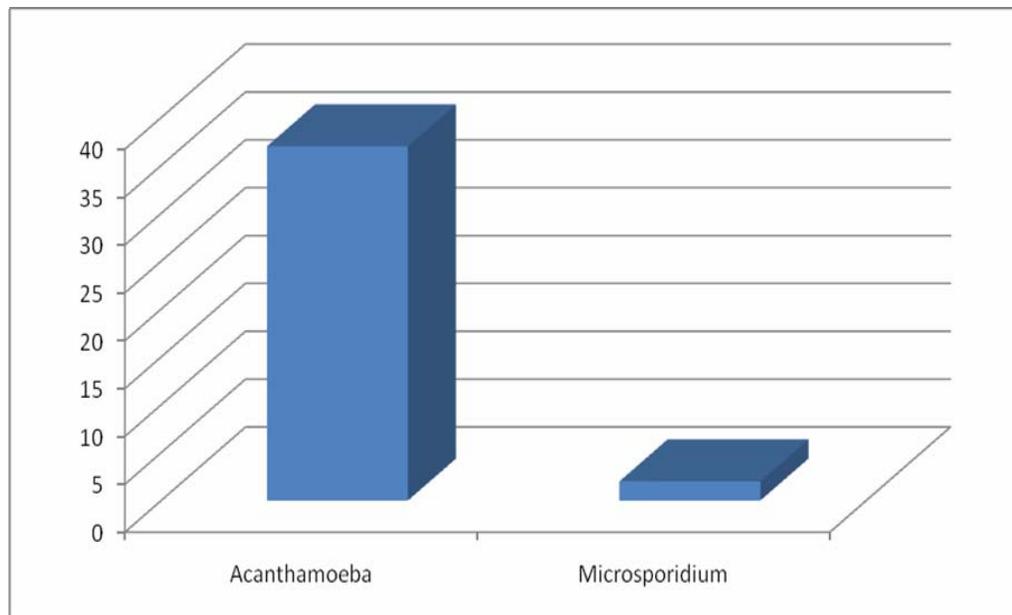
**Gráfico II: Total de distribución de bacterias**



**Gráfico III: Total de distribución de hongos**

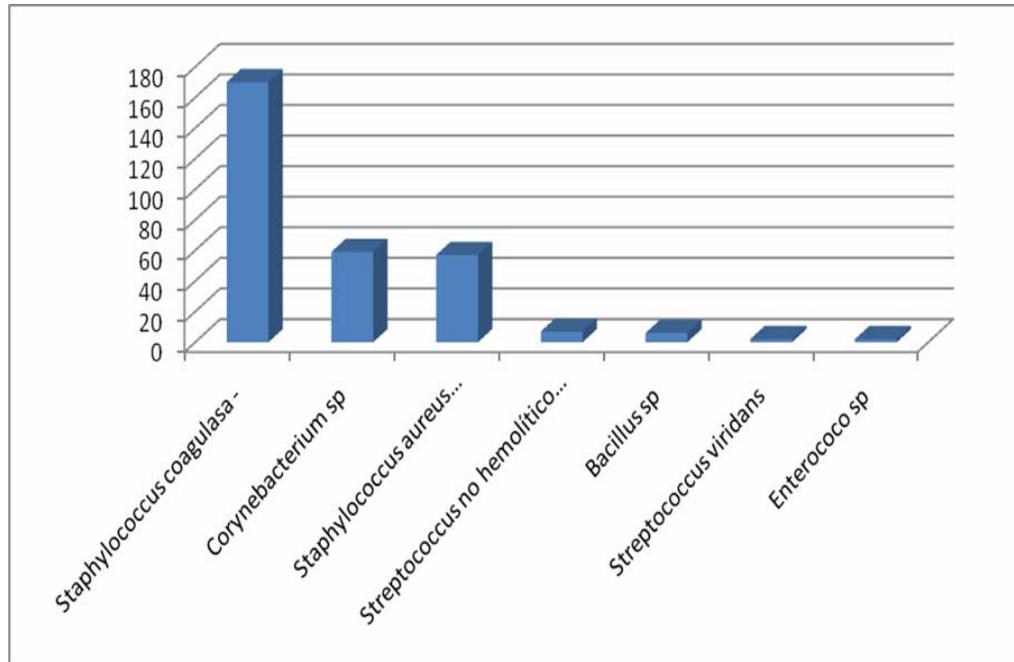


**Gráfico IV: Total de distribución de parásitos**

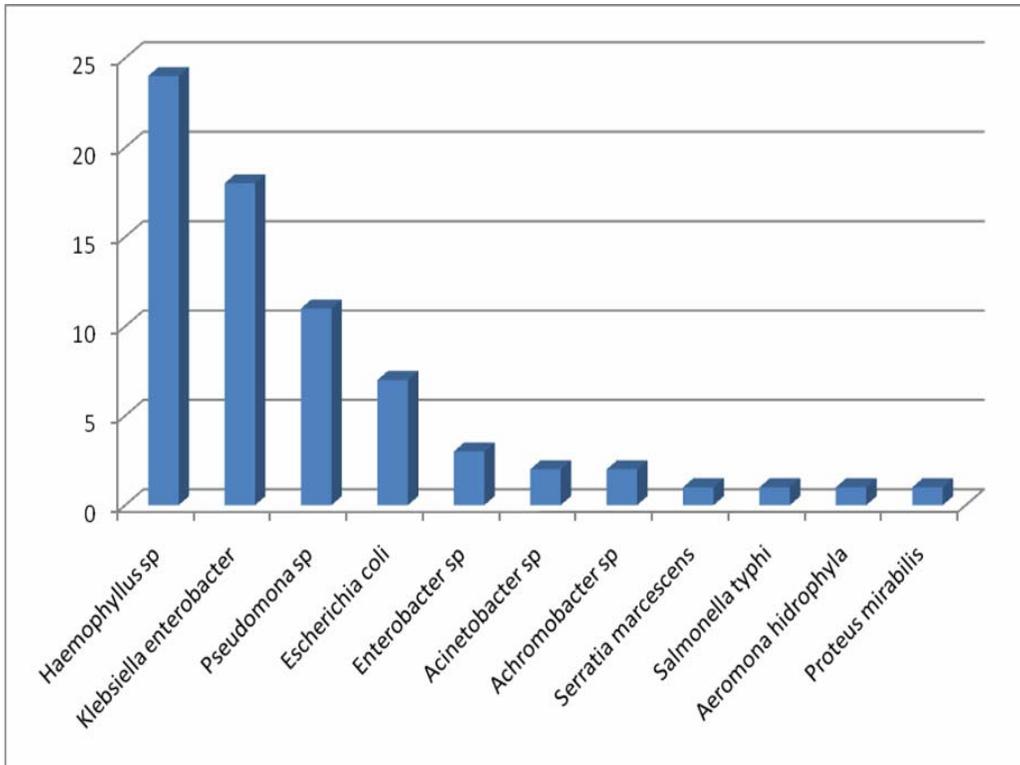


**Gráfico V: Distribución de bacterias Gram positivas**

10.  
11.  
12.  
13.  
14.

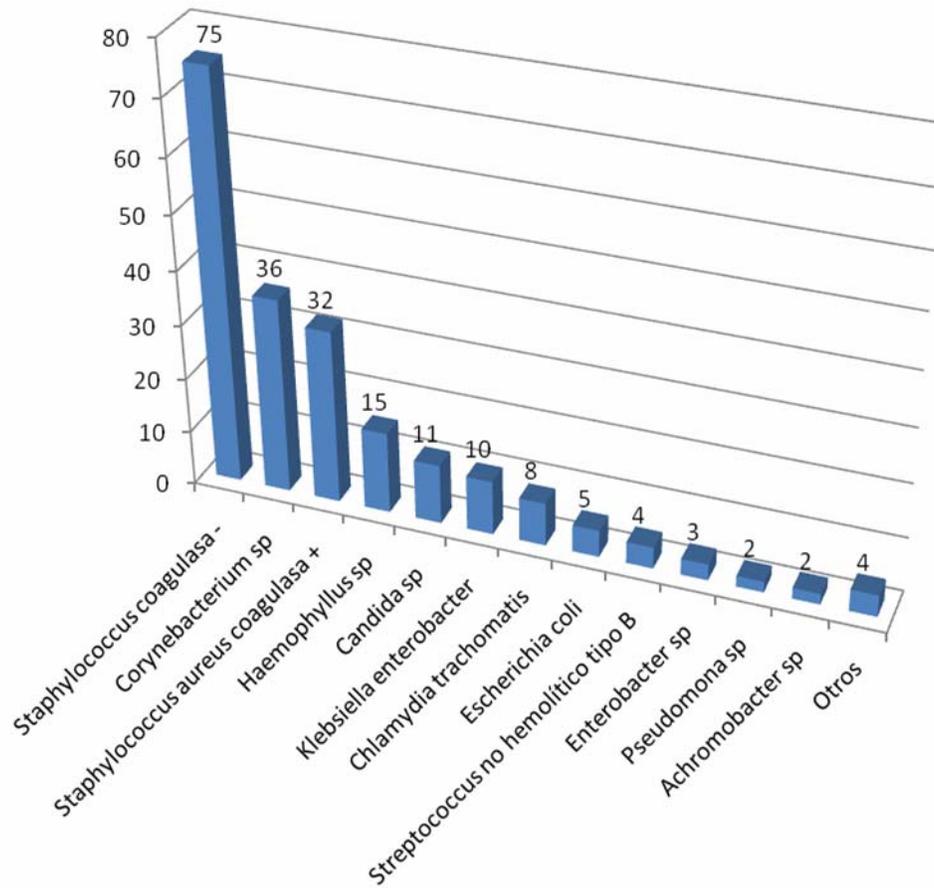


**Gráfico VI: Distribución de bacterias Gram negativas**



**Gráfico VII: Distribución de gérmenes en conjuntiva**

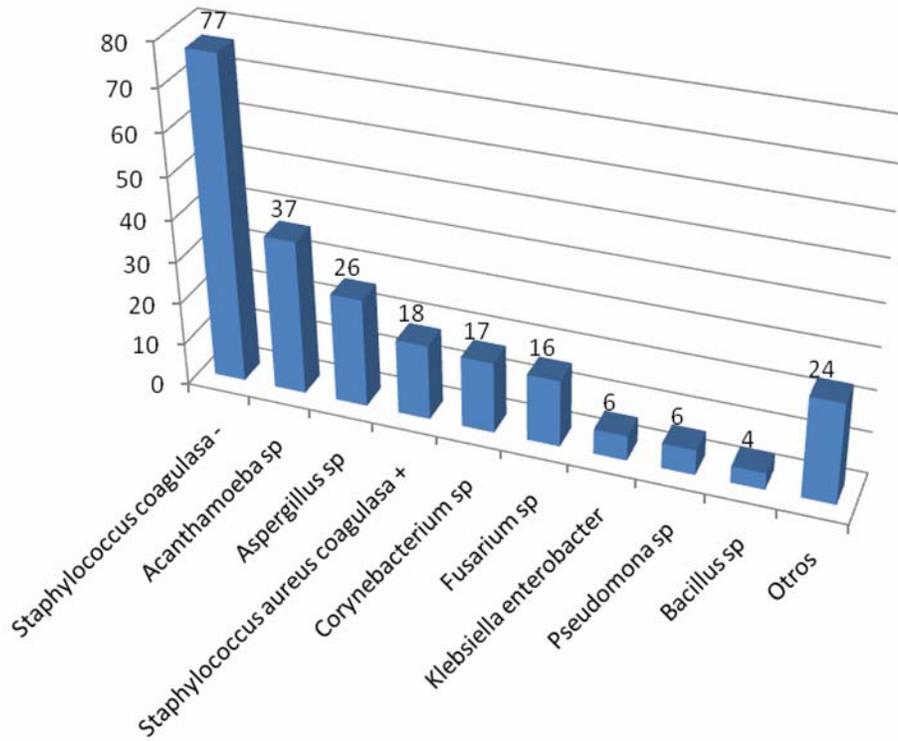
### Distribución de gérmenes en conjuntiva



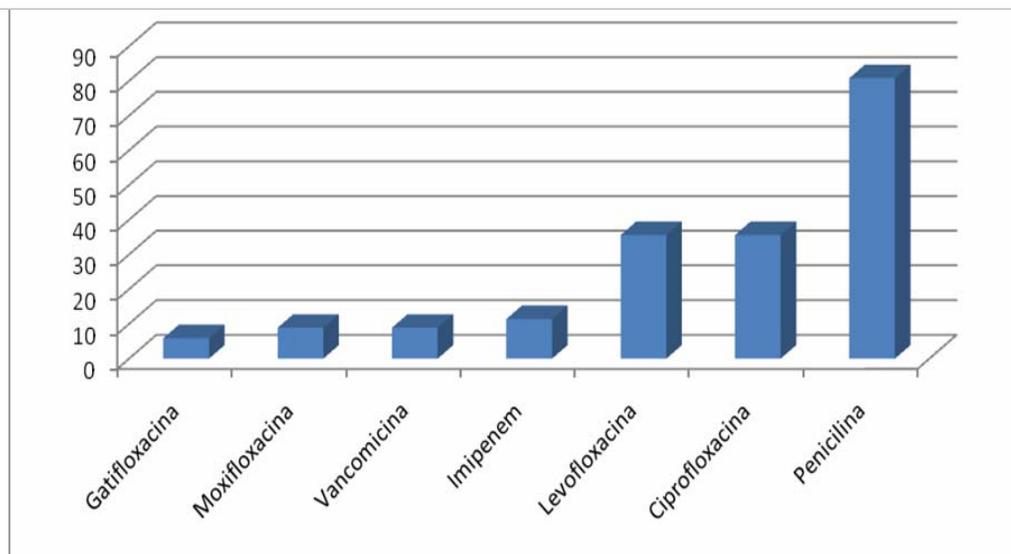
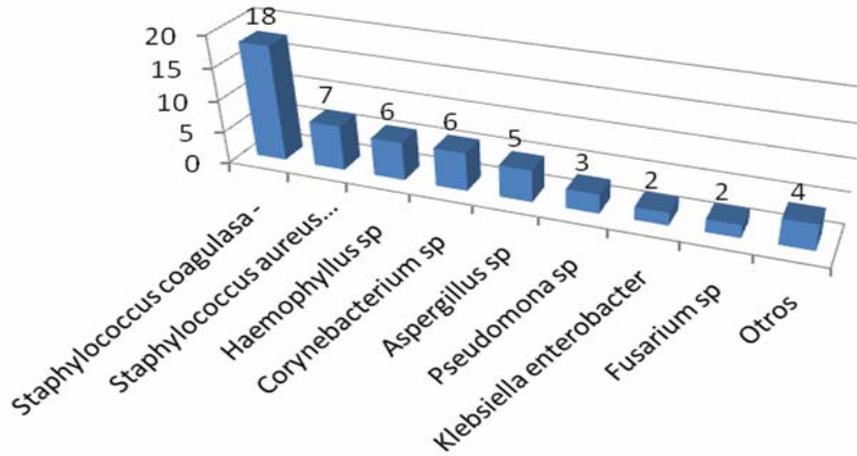
**Gráfico VIII: Distribución de gérmenes en córnea**

---

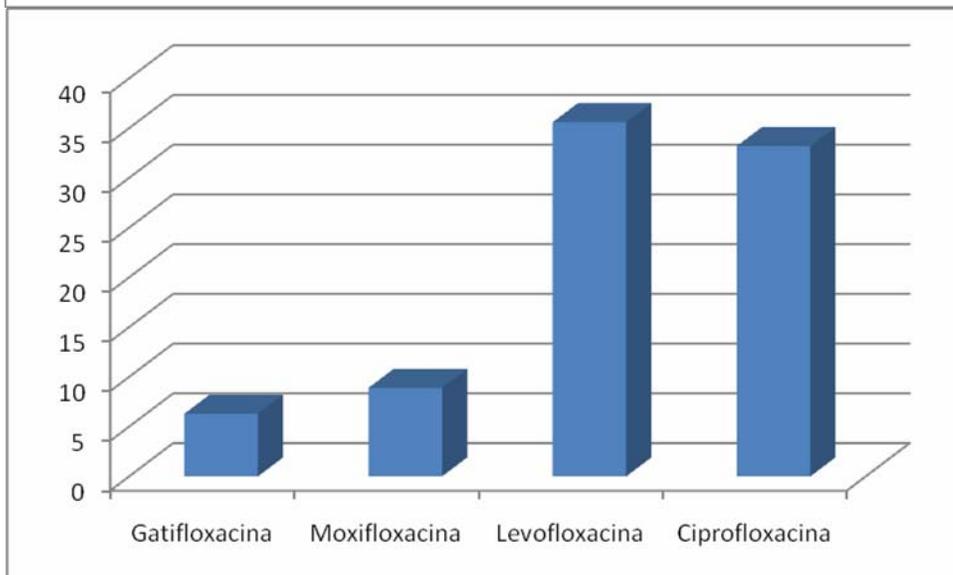
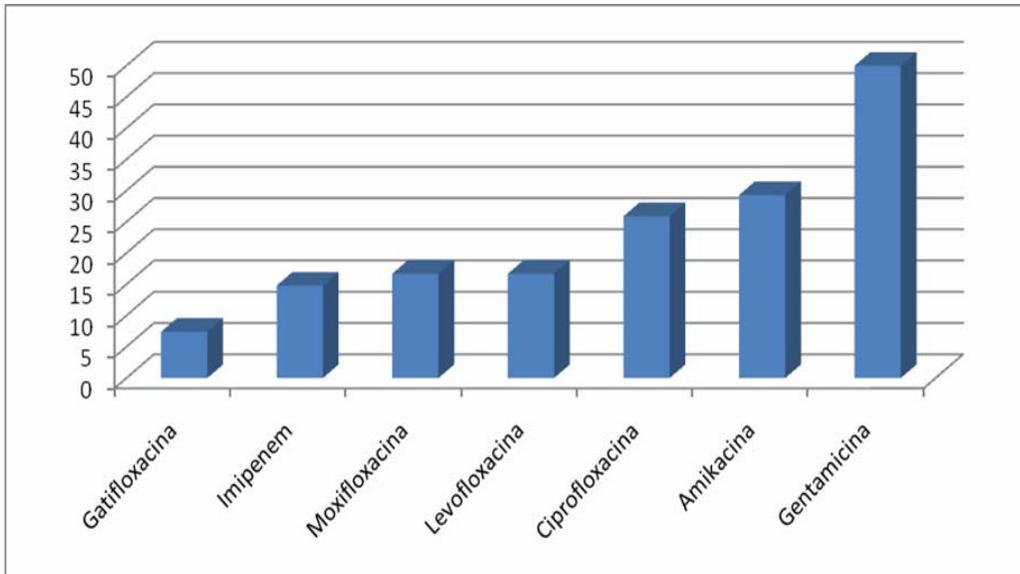
**Distribución de gérmenes en córnea**



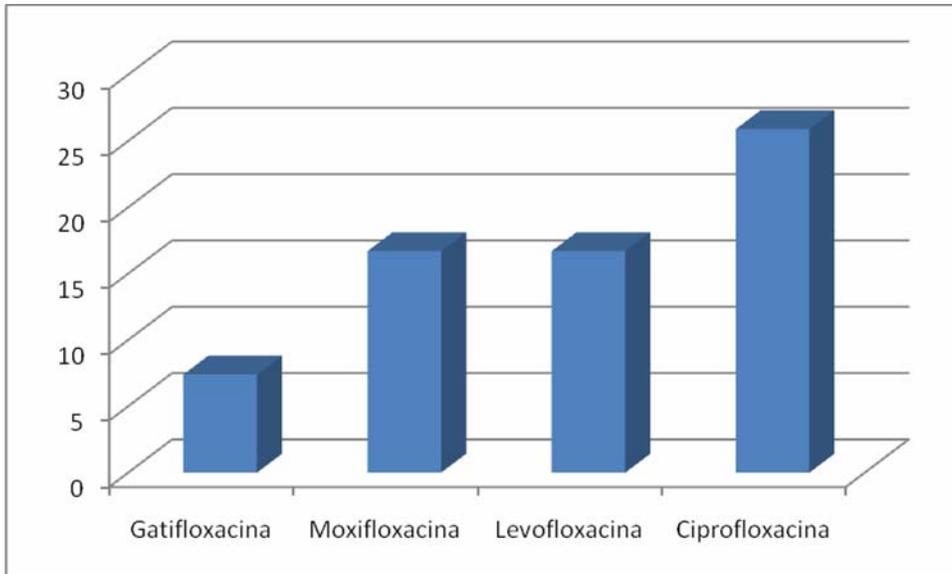
## Distribución de gérmenes en líquidos intraoculares



**Gráfico XII: Resistencia de las fluoroquinolonas a los Gram Positivos**



**Gráfico XIII: Resistencia de las fluoroquinolonas a los Gram Negativos**



## BIBLIOGRAFÍA

1. Olson R. Challenges in Ocular Infectious Diseases and the Evolution of Anti-Infective Therapy. *Surv Ophthalmol* 2004; 49 (suppl 2):S53-S54
2. Harper T, Miller D, Flynn HW Jr. In vitro efficacy and pharmacodynamic indices for antibiotics against coagulase-negative staphylococcus endophthalmitis isolates. *Ophthalmology*. 2007 May;114(5):871-5
3. Powers J. Antimicrobial drug development-the past, the present , and the future. *Clin Microbiol Infect* 2004;10 (suppl. 4):23-31
4. Blondeau J. Fluoroquinolones: Mechanism of action, Classification, and Development of resistance. *Surv Ophthalmol* 2004; 49 (suppl 2):S73-S78
5. Grossman CH. The first use of penicillin in the United States. *Ann Intern Med*. 2008;149:135-136.
6. Juliet C. Evaluacion de susceptibilidad in vitro de Staphylococcus spp. *Rev Chil Infect* 2002;19(Suppl.2):S116-118
7. Suarez C, Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009;27(2):116-129
8. Castells Molina, Silvia; Hernández Pérez, Margarita (2007). «Farmacología antiinfecciosa», *Farmacología en enfermería*, Segunda edición, Elsevier España, pp. 654.
9. Yates AB. Management of patients with a history of allergy to beta-lactam antibiotics. *Am J Med*. 2008;121:572-6.
10. Moellering R. Vancomycin: a 50-year reassessment. *Clinical Infectious Diseases* 2006;42:S3-4
11. Levine D. Vancomycin: A history. *Clinical Infectious Diseases* 2006;42:S5-12
12. Rybak M. The pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of vancomycin. *Clinical Infectious Diseases* 2006;42:S35-39
13. Courvalin P. Vancomycin resistance in Gram-positive cocci. *Clinical Infectious Diseases* 2006;42:S25-34
14. Gordon J. Vancomycin prophylaxis and emerging resistance: Are ophthalmologist the villains? the heroes? *Am J Ophtalmol* 2001;131:371-376
15. Yoeruek E, SpitzerM, Saygili O, Tatar O, Biedermann T, Yoeruek E, Bartz-Schmidt K, Szurman P. Comparison of in vitro safety profiles of vancomycin and cefuroxime on human corneal endothelial cells for intracameral use. *J Cataract Refract Surg* 2008;34:2139-2145
16. Balfour JA, Bryson HM, Brogden RN. Imipenem/cilastatin: An update of its antibacterial activity, pharmacokinetics, and therapeutic efficacy in the treatment of serious infections. *Drugs* 1996; 51:99-136
17. Mah F. Fourth-Generation Fluoroquinolones: New topical agents in the war on ocular bacterial infections. *Curr Opin Ophthalmol* 2004;15:316-320
18. Hooper D. Quinolones. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone; 2000:404-423.

19. Fynn-Thompson N, Pineda R. Antibiotic advances in Ophthalmology. *Int Ophthalmol Clin* 2004;44(3):91-102.
20. Hurst M, Lamb HM, Scott LJ, Figgitt DP. Levofloxacin: An updated review of its use in the treatment of bacterial infections. *Drugs* 2002;63(14):2127-2167
21. Mather R, Karenchak LM, Romanowski EG, Kowalski RP. Fourth generation fluoroquinolones: new weapons in the arsenal of ophthalmic antibiotics. *Am J Ophthalmol.* 2002;133:463-466
22. Kowalski RP, Dhaliwal DK, Karenchak LM, Romanowski EG, Mah FS, Ritterband DC, Gordon J. Gatifloxacin and moxifloxacin: An in vitro susceptibility comparison to levofloxacin, ciprofloxacin and ofloxacin using bacterial keratitis isolates. *Am J Ophthalmol* 2003; 136:500-505
23. *Ophthalmic Medications and Pharmacology*. 2<sup>nd</sup> edition. B. Duvall and R. Kershner. SLACK Inc.
24. Bucci F, Amico L, Evans R. Antimicrobial Efficacy of Prophylactic Gatifloxacin 0.3% and Moxifloxacin 0.5% in Patients Undergoing Phacoemulsification Surgery. *Eye & Contact Lens* 2008;34(1):39-42
25. Kaufman S, Rusinek C, Salahuddin A, Ahee J, Prasad A. Comparison of the biocompatibility of gatifloxacin 0.3% and moxifloxacin 0.5%. *Cornea* 2006;25:S31-S34
26. O'Brien T. Evidence-based Review of Moxifloxacin. *Int Ophthalmol Clin* 2006;46(4):61-72
27. Yamada M, Hatou S, Yoshida J. In vitro susceptibilities of bacterial isolates from conjunctival flora to gatifloxacin, levofloxacin, tosufloxacin, and moxifloxacin. *Eye & Contact Lenses* 2008;34(2):109-112
28. Bauer AW, Kirby W, Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 1966;45(4):493-6
29. Serrano-Calderon C, Hernández GA, Castillo CA, Gómez AJ. Perfil epidemiológico, clínico y microbiológico de los pacientes con queratitis infecciosa tratados en la Fundación Oftalmológica de Santander. *MedUNAB* 2007;10:93-98
30. Yeh D, Stinett S, Afshari S. Analysis of bacterial cultures in infectious keratitis 1997 to 2004. *Am J Ophthalmol* 2006;142:1066-1068
31. Kunimoto DI, Sharma S, Garg P, Rao G. In vitro susceptibility of bacterial keratitis pathogens to ciprofloxacin: Emerging resistance. *Ophthalmology* 1999;106:80-85
32. Ostos OL, Sanchez RM. Chlamydia trachomatis: avances y perspectivas. *NOVA* 2003;1(1):81-93
33. Kalayoglu MV, Pavan-Langston D, Miller J. Treatment of chlamydial eye infections. *Int Ophthalmol Clin.* 2004;44(3):135-46
34. Miño de Kaspar H, Koss M, He L, Blumenkranz M, Ta CN. Antibiotic susceptibility of preoperative normal conjunctival bacteria. *Am J Ophthalmol* 2005;139:730-733
35. Chalita MR, Höfling-Lima AL, Paranhos A, Schor P, Belfort R. Shifting trends in in vitro antibiotic susceptibilities for common ocular isolates during a period of 15 years. *Am J Ophthalmol* 2004;137:43-51
36. Goldstein MH, Kowalski RP, Gordon YJ. Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis: A 5-year review. *Ophthalmology* 1999;106:1313-1318

37. Srinivasan M, Gonzales A, George C. Epidemiology and aetiological diagnosis of corneal ulceration in Madurai, South India. *Ann Acad Med Singapore* 2006;35:185-189
38. Bharati M, Ramakrishnan R. Microbiological diagnosis of infective keratitis: comparative evaluation of direct microscopy and culture results. *Br J Ophthalmol* 2006;90:1271-1276
39. Srinivasan M, Burman S, George C. Non-contact lens related *Acanthamoeba* keratitis at a tertiary eye care center in South India: Implications for eye care programs in the region. *Med Sci Monit* 2003;9:125-129
40. Epstein S, Bottone E, Asbell P. Susceptibility testing of clinical isolates of *Pseudomonas Aeruginosa* to levofloxacin, moxifloxacin and gatifloxacin as a guide to treating *Pseudomonas* ocular infections. *Eye & Contact Lens* 2006;32(5):240-244
41. Kurokawa N, Hayashi K, Konishi M, Yamada M, Noda T, Mashima Y. Increasing ofloxacin resistance of bacterial flora from conjunctival sac of preoperative ophthalmic patients in Japan. *Jpn J Ophthalmol* 2002;46(5):586-589.
42. Hori Y, Maeda N, Sakamoto M, Shizuka K, Tomoyuki I, Tano Y. Bacteriologic profile of the conjunctiva in the patients with dry eye. *Am J Ophthalmol* 2008;146:729-734
43. Wise R. Maximizing efficacy and reducing the emergence of resistance. *J Antimicrobial Chemotherapy* 2003;51 supp 1:37-42
44. Herrygers L, Noecker R, Lane L, Levine J. Comparison of Corneal Surface Effects of Gatifloxacin and Moxifloxacin Using Intensive and Prolonged Dosing Protocols. *Cornea* 2005;24:66-71.
45. Yee RW, Setabutr P, Foltermann MO, Sami MS, Chuang AZ. The effects of topical moxifloxacin 0.5% ophthalmic solution and gatifloxacin 0.3% solution on corneal healing after bilateral photorefractive keratectomy. *Cornea* 2006;25:S8-S11
46. Bucci FA Jr. An in vivo study comparing the ocular absorption of levofloxacin and ciprofloxacin prior to phacoemulsification. *Am J Ophthalmol* 2004;137:308-312.
47. McCulley JP, Caudle D, Aronowicz JD, Shine WE. Fourth-generation fluoroquinolone penetration into the aqueous humor in humans. *Ophthalmology* 2006;113:955-959
48. Holland EJ, Lane SS, Kim T, Raizman M, Dunn S. Ocular penetration and pharmacokinetics of topical gatifloxacin 0.3% and moxifloxacin 0.5% ophthalmic solutions after keratoplasty. *Cornea* 2008;27:314-319
49. Kim DH, Stark WJ, O'Brien T, Dick JD. Aqueous penetration and biological activity of moxifloxacin 0.5% ophthalmic solution and gatifloxacin 0.3% solution in cataract surgery patients. *Ophthalmology* 2005;112:1992-1996
50. Kleinmann G, Larson S, Neuhann IM, Hunold AC, LeBoyer R, Hickman S, Mamalis N, Olson RJ. Intraocular concentrations of gatifloxacin and moxifloxacin in the anterior chamber via diffusion through the cornea using collagen shields. *Cornea* 2006;25:209-213
51. Costello P, Bakri S, Beer P, Singh R, Falk N, Peters G, Melendez A. Vitreous penetration of topical moxifloxacin and gatifloxacin in humans. *Retina* 2006; 26(2):191-5

52. Yamada M, Yoshida J, Hatou S, Yoshida T, Minagawa Y. Mutations in the quinolone resistance determining region in *Staphylococcus epidermidis* recovered from conjunctiva and their association with susceptibility to various fluoroquinolones. *BMJ* 2008;92(6):848-851
53. Stroman DW, Clark L, Macke L, Mendoza B, Schlech BA, O'Brien T. Moxifloxacin activity against quinolone resistant *Staphylococcal* ocular isolates. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(suppl 4):1377.
54. Miller D, Flynn PM, Scott I, Alfonso E, Flynn H. In vitro fluoroquinolone resistance in *Staphylococcal* Endophthalmitis Isolates. *Arch Ophthalmol* 2006;124(4):479-483
55. Harper T, Miller D, Flynn HW Jr. In vitro efficacy and pharmacodynamic indices for antibiotics against coagulase-negative *staphylococcus* endophthalmitis isolates. *Ophthalmology*. 2007 May;114(5):871-5
56. Chaudhry NA, Flynn H, Murray T, Tabandeh H, Mello MO, Miller D. Emerginig Ciprofloxacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Ophthalmol* 1999;128:509–510.