

**“Comparación de las concentraciones mínimas inhibitorias de
nuevos antibióticos sobre bacterias aisladas en casos de queratitis y
endofalmitis infecciosas”**

Walter Antonio Sánchez Reyes
Médico Residente de Oftalmología

Tesis de Grado para Optar por el título de Oftalmólogo – Cirujano

Dr. Alejandro Tello Hernández
Director



BUCARAMANGA – 2016

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alejandro Tello Hernández director de tesis por su guía y ayuda en el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. Virgilio Galvis Ramírez por el apoyo incondicional

Al Dr. Donaldo Villareal por la brillante labor que realiza en OCULAB

Al Dr. Paul Camacho por la asesoría brindada en este estudio

A la Fundación Oftalmológica de Santander FOSCAL

Al Laboratorio Clínico Higuera Escalante- OCULAB

A la Universidad Autónoma de Bucaramanga (UNAB)

INDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
3. OBJETIVO GENERAL.....	6
4. METODOLOGÍA.....	7
4.1 TIPO DE ESTUDIO.....	7
4.2 POBLACION Y MUESTRA	7
5. CRITERIOS DE SELECCIÓN	7
5.1 INCLUSIÓN	7
5.2 EXCLUSIÓN.....	7
6. PROCEDIMIENTOS.....	7
7. ASPECTOS ETICOS.....	9
8. RESULTADOS.....	9
9. DISCUSIÓN.....	14
10. CONCLUSIONES.....	19
11. LIMITACIONES	19
11.1 FORTALEZAS	19
11.2 DEBILIDADES	19
12. BIBLIOGRAFÍA	20

1. INTRODUCCIÓN

La introducción de agentes antimicrobianos en la Medicina fue uno de los avances más importantes en la medicina moderna pero rápidamente se encontró que los microorganismos podían desarrollar resistencia a ellos^{1,2}.

Para combatir el desarrollo y diseminación de organismos resistentes, se ha propuesto el uso racional de los antibióticos y se han desarrollado nuevos agentes antimicrobianos.

Las infecciones de la córnea y las endoftalmitis pueden llevar a serias secuelas visuales. El uso de antibióticos que sean efectivos en controlar la replicación bacteriana es crucial para obtener buenos resultados en estos casos, y por ello es definitivo conocer el estado de resistencia y de Concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) de las bacterias ante esas sustancias³.

La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) se define como la concentración más baja de un fármaco que inhiba el crecimiento visible de un organismo después de la incubación durante la noche (este periodo se extiende mas para organismos tales como anaerobios, que requieren una incubación mas prolongada para el crecimiento). Clásicamente la CIM de un antibiótico se determina utilizando un dispendioso procedimiento incluyendo una serie de diluciones del antibiótico (en agar o en caldo de cultivo) en las cuales se inoculan los microorganismos y se evalúa el crecimiento^{4,5}. Hay actualmente también sistemas automatizados que lo determinan. Adicionalmente existe otros métodos comerciales disponibles, incluyendo las tiras de Etest que, sin requerir alta tecnología, facilitan esa labor. El sistema Etest consiste en una tirilla de un material plástico que contiene un gradiente predefinido de concentraciones de antibióticos que cuando se aplica a placas de agar donde inocularon los microorganismos, y luego de la incubación, permite visualizar elipses de inhibición microbiana. La CIM se determina donde la

elipse de inhibición se cruza con la tirilla, en donde se encuentran impresas en una escala las diversas concentraciones⁵.

Utilizando este sistema nosotros determinamos las CIM de diversos antibióticos sobre bacterias aisladas en casos de queratitis y endoftalmitis infecciosas. Estudiamos quinolonas de cuarta generación normalmente utilizadas en la actualidad de manera tópica en infecciones corneales (gatifloxacina y moxifloxacina) y adicionalmente antibióticos que no se usan de manera rutinaria en infecciones corneales (imipenem, linezolid y tigeciclina).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial es clara la resistencia cada vez mayor a los antibióticos a nivel sistémico y a nivel ocular no es la excepción, como se muestran en los estudios en los últimos años , por tal motivo es necesario e importante realizar de manera periódica estudios de resistencia y sensibilidad a los antibióticos en uso en las instituciones de salud, para así dar un mejor manejo de las infecciones.

A nivel ocular se evidencia el uso frecuente de antibióticos tópicos como las quinolonas de 4ta generación para tratar distintas patologías oculares , por tal motivo el amplio uso de estas puede generar resistencia a las mismas por lo que es necesario encontrar y probar nuevos antibióticos conociendo sus CIM concentraciones inhibitorias mínimas para una mejor elección de que antibiótico usar para determinado agente bacteriano.

Por estos motivos en nuestro estudio tenemos como objetivo determinar las CIM concentraciones inhibitorias mínimas de nuevos antibióticos.

3.OBJETIVO GENERAL

Determinar las Concentraciones Inhibitorias Mínimas de las bacterias aisladas en cultivos de infecciones corneales y endoftalmitis en la Fundación Oftalmológica de Santander - Clínica Carlos Ardila Lulle (FOSCAL), para nuevos antibióticos (Gatifloxacina, Moxifloxacina, Imipenem, Linezolid, Tigeciclina) para así compararlas con los estándares internacionales y determinar así el nivel de resistencia de estas bacterias a estos antimicrobianos relativamente nuevos .

4.METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudio:

-Observacional descriptivo transversal

4.2 Población y Muestra:

-Todos los pacientes que presentaron cuadros infecciosos oculares que consultaron a la Fundación Oftalmológica de Santander –FOSCAL entre agosto y noviembre de 2014

5. CRITERIOS DE SELECCION

5.1 Inclusión:

-Todo paciente con diagnóstico de úlcera corneal infecciosa y/o con endoftalmitis infecciosa

5.2 Exclusión:

-Todo paciente que no acepte toma de muestra ocular

6. PROCEDIMIENTOS

Se practicaron cultivos y la determinación de las CIM con tirillas especialmente diseñadas (Etest®, BioMérieux SA, Marcy-l'Etoile - Francia) para los antibióticos gatifloxacina, moxifloxacina, tigeciclina, linezolidina e imipenem.

Las muestras de los casos de queratitis bacteriana fueron tomadas por los oftalmólogos que atienden el servicio de urgencias de la institución, bajo la magnificación de un biomicroscopio (lámpara de hendidura).

Las muestras de endoftalmitis correspondieron a humor vítreo y humor acuoso que fueron tomadas por el cirujano a través de punción vía pars plana o a través de una paracentesis en cámara anterior, en salas de cirugía.

Las muestras se sembraron en un caldo enriquecido y luego fueron resembradas en agar. Se colocaron las tirillas de Etest® para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias y la lectura se realizó por un microbiólogo ocular en Oculab, dependencia del Laboratorio Higuera Escalante (Floridablanca, Colombia).

La CIM₅₀ para cada microorganismo se calculó de acuerdo a lo sugerido por Kowalski y coautores, con una pequeña modificación: se consideró la CIM₅₀ como la concentración de antibiótico que inhibió el crecimiento de 50% de los aislados bacterianos ensayados, de manera similar a la mediana. Esto quiere decir que no se consideró como la concentración de antibiótico que se requirió para disminuir la cantidad de un único aislado dado en un 50%. Tampoco fue el promedio de todas las CIM. Por ejemplo, si suponemos que las CIM de 10 aislamientos ficticios se determinó que eran, respectivamente, 1, 1, 2, 2, 4, 8, 8, 8, 16, y 32 µg / ml. La MIC₅₀ sería equivalente a la mediana. es decir 6 µg / ml (el promedio de los dos valores centrales)³.

La correlación entre la CIM y la sensibilidad, sensibilidad intermedia o resistencia del microorganismo se determinó de acuerdo a las recomendaciones del Instituto de Estándares del Laboratorio Clínico de los Estados Unidos (sigla en inglés: CLSI). Cuando no se encontraron estándares indicados por esta guía para un microorganismo dado, se buscaron otras fuentes [European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) y la U.S. Food and Drug Administration (FDA)].

7. ASPECTOS ETICOS

En nuestro estudio no se realizaron exámenes, ni tratamientos que pudieran modificar en forma positiva o negativa los resultados ni criterio medico de tratamiento para las patologías oculares.

En nuestro estudio contamos con el aval del comité de ética en investigaciones (CEI) de las FOSCAL.

En este estudio todos las participantes cuentan con certificado de buenas practicas clínicas.

8. RESULTADOS:

Se examinaron un total de 50 muestras de 50 ojos distribuidas así: 39 muestras de úlceras corneales; 6 muestras de humor vítreo con presencia de endoftalmitis; 3 muestras de humor acuoso con presencia de endoftalmitis; 1 muestra de botón corneal en un caso de trasplante corneal por perforación secundaria a una úlcera y 1 muestra de humor acuoso post - perforación por úlcera corneal. De estas muestras , en total se aislaron 17 diferentes cepas bacterianas (Tabla 1).

Tabla 1. Porcentajes de diferentes bacterias aisladas en muestras de ulcera corneal y endoftalmitis

	% bacterias aisladas n=50
Bacterias Gram -	
<i>Escherichia Coli</i>	2.0
<i>Kingella dentrificans</i>	2.0
<i>Klebsiella enterobacter</i>	2.0
<i>Pseudomona stutzeri</i>	2.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12.0
<i>Serratia marcescens</i>	2.0
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2.0
Total Gram -	24.00
Bacterias Gram +	
<i>Bacillus Cereus</i>	6.0
<i>Bacillus sp</i>	2.0
<i>Enterococcus durans</i>	2.0
<i>Globicatella sanguinis</i>	2.0
<i>Micrococcus luteus</i>	2.0
<i>Staphylococcus aureus-Meticilino Resistente</i>	10.0
<i>Staphylococcus CN</i>	10.0
<i>Staphylococcus CN-Meticilino Resistente</i>	34.0
<i>Staphylococcus hemoliticus metcilino resistente</i>	2.0
<i>Streptococcus alfa hemolitico</i>	6.0
Total Gram +	76.0

Para el imipenem de los 31 aislamientos de Gram-positivos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares, en el 90,3% fueron sensibles. En dos casos de *Streptococcus alfa hemolítico* y uno de *Staphylococcus hemoliticus* metcilino resistente se presentó resistencia.

Para la gatifloxacina de los 32 aislamientos de Gram-positivos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares, en el 68,8% fueron sensibles. En 8 casos (de *Staphylococcus CN-Meticilino Resistente* se presentó resistencia y en dos sensibilidad intermedia.

Para la moxifloxacina de los 28 aislamientos de Gram-positivos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares, en el 67,8% fueron sensibles. 14,3% tuvieron sensibilidad intermedia y 17,9% fueron resistentes. Sin embargo no encontramos puntos de corte para determinar sensibilidad o resistencia en 10 de los 38 microorganismos aislados.

Para la linezolidina de los 33 aislamientos de Gram-positivos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares, en el 87,9 % fueron sensibles. 4 casos mostraron resistencia (12,1 %): un *Streptococcus alfa hemolítico*, un *Staphylococcus hemoliticus* metilino resistente, una *Globicatella sanguinis* y un *Enterococcus durans*.

Para la tigeciclina de los 31 aislamientos de Gram-positivos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares, en el 80,6% fueron sensibles. 19,4 % fueron resistentes. Sin embargo no encontramos puntos de corte para determinar sensibilidad o resistencia en 7 de los 31 microorganismos aislados.

Para el imipenem de los 10 aislamientos de Gram-negativos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares, en el 70% fueron sensibles. Un caso (10%) presentó resistencia (*Kingella dentrificans*) y en dos casos (20%) de *Pseudomonas Aeruginosa* la sensibilidad fue intermedia.

Para la gatifloxacina de los 9 aislamientos de Gram-negativos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares, en el 66,7% fueron sensibles, en dos casos (22,2%) de *Pseudomonas Aeruginosa* la sensibilidad fue intermedia y en un caso (11,1 %) resistente.

Para la moxifloxacina de los 2 aislamientos de Gram-negativos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares, en el 100% fueron sensibles. Sin embargo no encontramos puntos de corte para determinar sensibilidad o resistencia en 10 de los 12 microorganismos aislados.

Para la linezolidina de los 9 aislamientos de Gram-negativos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares no se encontró ninguna cepa sensible, en el 100% fueron resistentes.

Para la tigeciclina de los 9 aislamientos de Gram-negativos en los que se pudo determinar la sensibilidad de acuerdo a los estándares, en el 22,2% fueron sensibles.

Los resultados para cada microorganismo y antibacteriano se encuentran en las Tablas 2 a 7.

Tabla 2. MICs en *Staphylococcus CN-Meticilino Resistente*

Antimicrobiano	Min MIC	Max MIC	MIC ₅₀	% Sensible	% Sensibilidad intermedia	% Resistencia
Imipenem	0.032	4.0	0.38	100	0	0
Gatifloxacina	0.094	8.0	1.5	53	0	47
Moxifloxacina	0.094	8.0	1.0	47.1	23.5	29.4
Linezolidina	0.75	4.0	2.0	100	0	0
Tigeciclina	0.047	4.0	0.25	88.2	0	11.8

Valores de MIC se miden en µg/ml.

Tabla 3. MICs en *Pseudomonas aeruginosa*

Antimicrobiano	Min MIC	Max MIC	MIC ₅₀	% Sensible	% Sensibilidad intermedia	% Resistencia
Imipenem	1.5	4	3	66.7	33.3	0
Gatifloxacina	0.75	>32	2	83.3	0	16.7
Moxifloxacina	1.5	>32	4	nd	nd	nd
Linezolidina	>256	>256	>256	0	0	100
Tigeciclina	>256	>256	>256	0	0	100

Valores de MIC se miden en µg/ml, nd se indica en casos no definidos por falta de parámetros estandarizados de punto de corte

Tabla 4. MICs en *Staphylococcus CN*

Antimicrobiano	Min MIC	Max MIC	MIC ₅₀	% Sensible	% Sensibilidad intermedia	% Resistencia
Imipenem	0.012	0.125	0.06	100	0	0
Gatifloxacina	0.064	0.25	0.125	100	0	0
Moxifloxacina	0.032	0.125	0.09	100	0	0
Linezolid	0.15	4.0	2.0	100	0	0
Tigeciclina	0.032	1.0	0.094	80	0	20

Valores de MIC se miden en µg/ml

Tabla 5. MICs para *Staphylococcus Aureus Meticilino Resistente*

Antimicrobiano	Min MIC	Max MIC	MIC ₅₀	% Sensible	% Sensibilidad intermedia	% Resistencia
Imipenem	0.064	0.5	0.064	100	0	0
Gatifloxacina	0.125	0.38	0.125	100	0	0
Moxifloxacina	0.047	0.25	0.125	100	0	0
Linezolid	1.5	4.0	1.5	100	0	0
Tigeciclina	0.03	0.75	0.25	80	0	20

Valores de MIC se miden en µg/ml

Tabla 6. MICs para *Streptococcus alfa hemolitico*

Antimicrobiano	Min MIC	Max MIC	MIC ₅₀	% Sensible	% Sensibilidad intermedia	% Resistencia
Imipenem	0.064	3.0	3.0	33.3	0	66.6
Gatifloxacina	0.125	1.5	0.38	100	0	0
Moxifloxacina	0.016	0.75	0.25	nd	nd	nd
Linezolid	0.5	>256	1.25	66.6	0	33.3
Tigeciclina	0.064	0.38	0.064	66.6	0	33.3

Valores de MIC se miden en µg/ml, nd se indica en casos no definidos por falta de parámetros estandarizados de punto de corte

Tabla 7. MIC para *Bacillus Cereus*

Antimicrobiano	Min MIC	Max MIC	MIC₅₀	% Sensible	% Sensibilidad intermedia	% Resistencia
Imipenem	0.047	0.125	0.094	nd	nd	nd
Gatifloxacina	0.064	0.19	0.13	nd	nd	nd
Moxifloxacina	0.064	0.19	0.13	nd	nd	nd
Linezolida	1.0	4.0	3.0	nd	nd	nd
Tigeciclina	0.047	0.75	0.125	nd	nd	nd

Valores de MIC se miden en $\mu\text{g/ml}$, nd se indica en casos no definidos por falta de parámetros estandarizados de punto de corte

9. DISCUSIÓN

El Etest® es un método de prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos que, como la difusión en disco, es técnicamente sencillo y produce resultados semicuantitativos que se miden en microgramos por mililitro ($\mu\text{g/ml}$). Consiste en una tira plástica delgada impregnada con antibiótico en un gradiente definido, que se aplica sobre la placa de agar⁹.

Los resultados son generalmente comparables con los resultados cuantitativos de las pruebas estándar de CIM por microdilución en caldo o dilución en agar.

Los criterios de interpretación de las pruebas de susceptibilidad están basados en la respuesta in vitro de un microorganismo a un agente antimicrobiano comparada frente a los niveles alcanzados en sangre del antimicrobiano dosificado. Los puntos de corte y su interpretación se generan teniendo en cuenta los criterios microbiológicos, criterios de farmacocinética/farmacodinamia y clínicos. Es decir, un patógeno se considera sensible cuando es inhibido por las concentraciones séricas alcanzadas por el agente antimicrobiano a la dosis recomendada.

Se considera un microorganismo resistente a un antimicrobiano cuando el aislamiento no es inhibido por las concentraciones séricas alcanzadas por el antimicrobiano a dosis normales. Este tipo de estándares son determinados por organizaciones de investigación en microbiología, como el Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) o por comités especialmente constituidos para ello como el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Desafortunadamente no existen estándares definidos internacionalmente para todos los microorganismos.

De acuerdo a los estándares existentes encontramos que en caso de microorganismos Gram-positivos la sensibilidad in vitro en orden descendente de los antimicrobianos probados fue: imipenem 90,3%, linezolid 87,9 %, tigeciclina 80,6%, gatifloxacina 68,8% y moxifloxacina 67,8%.

Para los Gram negativos los valores de sensibilidad in vitro, en orden descendente, fueron: moxifloxacina 100%, imipenem 70 %, gatifloxacina 66,7% tigeciclina 22,2 %, y linezolid 0%. Se debe resaltar, sin embargo, que para la moxifloxacina solo se encontraron puntos de corte de referencia para dos de los patógenos, y no se encontraron para la *P. Aeruginosa*, por lo que este dato de sensibilidad no se puede tomar en cuenta.

Incluimos dentro de los antimicrobianos probados en nuestro estudio al imipenem, la linezolid y la tigeciclina como nuevas alternativas potenciales en oftalmología. El imipenem pertenece al grupo de las carbapenemas, antibiótico betalactámicos que son sumamente resistentes a las betalactamasas. Como todos los otros beta-lactámicos, el imipenem inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana mediante la unión a unas transpeptidasas específicas, conocidas como proteínas de unión a penicilina (PBP en inglés), a las cuales inactiva¹⁰.

La linezolid es miembro de la familia de las oxazolidinonas y su mecanismo de acción es por inhibición de la fase de iniciación de la síntesis proteica al unirse a la subunidad 50s y evitando la formación del complejo de iniciación 70s por el ribosoma. Tiene actividad en contra de muchos Gram-positivos, pero no contra las bacterias Gram-negativas¹¹. La tigeciclina, derivado modificado de la minociclina, es parte de la familia de las gliciliclinas, que se pueden considerar tetraciclinas de tercera generación. Inhibe la síntesis protéica por unión a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. Tiene actividad contra la mayoría de los Gram-positivos y Gram-negativos, excluyendo la *P. aeruginosa*¹³.

El empleo tópico tanto de imipenem como de linezolid ha sido reportado en pocos casos de úlceras corneales¹⁴⁻²¹.

No hay reportes del uso de tigeciclina tópica en oftalmología. Sin embargo, recientemente se han publicado estudios experimentales en modelos animales que sugieren que la tigeciclina, puede ser un candidato potencial como antibiótico tópico ocular^{22,23}

El fenómeno de la resistencia creciente de las fluoroquinolonas de cuarta generación es una realidad. Un estudio reciente mostró que para *Staphylococcus coagulasa-negativos* que causaron endoftalmitis la tasa de resistencia a la moxifloxacina en un centro de los Estados Unidos se incrementó de un 21% en el periodo de 1995–1999 al 62% en el periodo de 2010–2014²⁴. La resistencia a las fluoroquinolonas de cuarta generación en nuestra serie (muestras recolectada en 2014) no alcanzó niveles tan preocupantes. Sin embargo, el 25% de 32 aislamientos de Gram positivos fueron resistentes a la gatifloxacina y el 17,9 % de 28 aislamientos de Gram positivos fueron resistentes a la moxifloxacina. En un estudio previo en nuestra institución con muestras recolectadas de casos de queratitis e infecciones intraoculares entre los años 2011 y 2012, y en las cuales se evaluó la sensibilidad con el método de difusión en agar de Kirby-Bauer, habíamos

encontrado que el 0% y el 1,1% de los Gram positivos habían sido resistentes a la moxifloxacina y a la gatifloxacina, respectivamente. En cuanto a Gram-negativos el porcentaje de resistentes a la gatifloxacina también creció con respecto a nuestro estudio previo: 11,1% versus 0%²⁵. No pudimos determinar en el presente estudio el perfil de sensibilidad de los Gram-negativos a la moxifloxacina, por que no encontramos estándares aceptados actuales del punto de corte de la CIM. El notorio incremento del dato que encontramos en esta nueva serie podría ser un indicador de una creciente resistencia a estos antimicrobianos también en nuestro medio.

Comparando los hallazgos para el imipenem en el estudio actual (resistencia del 9,7% de los Gram-positivos y del 10% de los Gram-negativos) también evidenciamos un incremento con respecto al estudio realizado en nuestra institución con muestras obtenidas entre 2011 y 2012: la resistencia al imipenem con el método de Kirby-Bauer fue del 1,1% entre las bacterias Gram-positivas y del 0% en las Gram-Negativas²⁵.

No existen puntos de corte de las CIM establecidos para los antimicrobianos cuando se utilizan por vía tópica ocular, lo cual hace que la interpretación de los datos de CIM, basados en las concentraciones que se alcanzan en el suero, sea difícil. Sin embargo, constituyen al menos una guía y existe evidencia que demuestra la relación entre el CIM de antibióticos de aplicación tópica y el resultado clínico en la queratitis bacteriana²⁶.

Sueke y coautores analizaron 772 cultivos de bacterias recolectadas de casos de queratitis en el Reino Unido entre 2003 y 2006. Encontraron que todos los microorganismos, con excepción de la *P. Aeruginosa*, fueron sensibles a la tigeciclina. Ellos estudiaron también meropenem, linezolid y tigeciclina, y consideraron que el meropenem podría ser una buena alternativa para monoterapia empírica inicial en queratitis bacteriana, por su amplio espectro. Además que la tigeciclina y la linezolid podrían ser opciones para cubrir Gram-positivos, para ser usado en

combinación con un antimicrobiano que cubra Gram-negativos⁹.

En el grupo de microorganismos que analizamos los porcentajes de sensibilidad de estos tres antimicrobianos contra microorganismos Gram-positivos estuvieron por encima de un 80 %. En Gram negativos el imipenem alcanzó un porcentaje de sensibilidad e un 70%.

De acuerdo a nuestros resultados consideramos que como alternativas a las fluorquinolonas de cuarta generación (gatifloxacina y moxifloxacina), actualmente empleadas como monoterapia empírica inicial en nuestra institución, y ante la creciente resistencia ante ellas, podrían usarse cualquiera de los tres antimicrobianos nuevos en oftalmología que estudiamos (imipenem, linezolid o tigeciclina) en caso de encontrar bacterias Gram-positivas en la tinción inicial. En caso de identificarse inicialmente Gram-negativos ante la ausencia de un antimicrobiano con un porcentaje de sensibilidad por encima del 80%, habría que evaluar si alguna de las sinergias propuestas por algunos grupos de investigadores (o alguna de antibióticos de grupos similares a los estudiados) se podría emplear. Sueke y coautores sugirieron la combinación de meropenem y ciprofloxacina²⁷. Una combinación similar que se podría evaluar sería la de una quinolona de cuarta generación con imipenem. Suzuki y coautores, por su parte, sugirieron la combinación de gatifloxacina y cefmenoxima²⁸. Se requerirían estudios *in vitro* locales y un estudio clínico en nuestros casos, para implementar alguna de estas opciones.

10. CONCLUSIONES

- Existe resistencia creciente de las fluoroquinolonas de cuarta generación.
- Incremento de resistencia no solo a las fluoroquinolonas sino también a otro antibiótico como el Imipenem en nuestro medio.
- En caso de identificar bacterias Gram-positivas una opción de tratamiento sería con Imipenem Linezolid y Tigeciclina.
- Como alternativa en caso de Gram – negativos por su baja sensibilidad a los antibióticos presentes se podría evaluar sinergismo entre antibióticos.

11. LIMITACIONES

11.1 Fortalezas:

- Exámenes realizados en una misma institución (FOSCAL- OCULAB)

11.2 Debilidades:

- Presupuesto limitado para adquirir materiales de estudio
- No estandarización de CIM para algunas bacterias presentes en el estudio

12. BIBLIOGRAFÍA

1-Yagupsky P (2006) Selection of antibiotic-resistant pathogens in the community. The Pediatric infectious disease journal 25:974-966.

2- Stratton CW (2003) Dead bugs don't mutate: susceptibility issues in the emergence of bacterial resistance. Emerging infectious diseases 9:10-6.

3- Kowalski RP, Yates KA, Romanowski EG, Karenchak LM, Mah FS, Gordon YJ (2005) An ophthalmologist's guide to understanding antibiotic susceptibility and minimum inhibitory concentration data. Ophthalmology 112:1987-1991.

4-Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. J Antimicrob Chemother. 2001 Jul;48 Suppl 1:5-16. Erratum in: J Antimicrob Chemother 2002 Jun;49(6):1049.

5-Delost MD. Antimicrobial susceptibility testing in Introduction to Diagnostic Microbiology for the Laboratory Sciences. Editor Delost MD. Jone & Barlett Learning, Burlington, USA. 2015. P 99-115.

6-National Committee for Clinical Laboratory Standards Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. (NCCLS) 2014; M100-S24 Vol. 32 No. 1. Disponible en http://ncipd.org/control/images/NCIPD_docs/CLSI_M100-S24.pdf. Consultado el 2 de diciembre de 2015.

7-European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2016. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, valid from 2016-01-01. Disponible en:

http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_6.0_Breakpoint_table.pdf. Consultado el 28 de febrero de 2016.

8-FDA-approved susceptibility test result interpretive criteria for tigecycline. Tomado de Wyeth Pharmaceuticals Inc. 2005. Tygacil package insert. Wyeth Pharmaceuticals Inc., Philadelphia, PA. Disponible en <http://www.drugs.com/pro/tygacil.html>. Consultado el 29 de Noviembre de 2015.

9-Sueke H, Kaye S, Neal T, Murphy C, Hall A, Whittaker D, Tuft S, Parry C. Minimum inhibitory concentrations of standard and novel antimicrobials for isolates from bacterial keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 May;51(5):2519-24.

10-Rodloff AC, Goldstein EJ, Torres A. Two decades of imipenem therapy. *J Antimicrob Chemother*. 2006 Nov;58(5):916-29.

11-Moellering RC. Linezolid: the first oxazolidinone antimicrobial. *Ann Intern Med*. 2003;138:135–142.

12-Gómez-Gener A, Salvador P, Boj M. Linezolid: una nueva alternativa en infecciones por gram positivos. *Farmacia Hospitalaria*. 2002;26:44-48.

13-Curcio DJ, Istúriz RE. Tigeciclina, la primera gliciliciclina. *Rev Panm Infectol* 2006;8(3):35-42.

14-Fernandes M, Vira D, Medikonda R, Kumar N. Extensively and pan-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* keratitis: clinical features, risk factors, and outcome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016 Feb;254(2):315-22.

15-Jain R, Murthy SI, Motukupally SR. Clinical outcomes of corneal graft infections caused by multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Cornea*. 2014 Jan;33(1):22-6.

- 16-Turkyilmaz K, Kurt A, Dilek AR, Sekeryapan B, Erturk A. A case of suture-related bacterial keratitis and its treatment with topical imipenem. *J Ocul Biol Dis Infor.* 2011 Dec;4(4):141-4.
- 17-Galvis V, Tello A, Delgado J, Valencia F, Gómez AJ, Diaz LA. Late bacterial keratitis after intracorneal ring segments (Ferrara ring) insertion for keratoconus. *Cornea.* 2007 Dec;26(10):1282-4.
- 18-Tu EY, Jain S. Topical linezolid 0.2% for the treatment of vancomycin-resistant or vancomycin-intolerant gram-positive bacterial keratitis. *Am J Ophthalmol.* 2013 Jun;155(6):1095-1098.
- 19-Dolz-Marco R, Udaondo P, Gallego-Pinazo R, Millán JM, Díaz-Llopis M. Topical linezolid for refractory bilateral *Mycobacterium chelonae* post-laser-assisted in situ keratomileusis keratitis. *Arch Ophthalmol.* 2012 Nov;130(11):1475-6.
- 20-Akova Budak B, Baykara M, Kıvanç SA, Yılmaz H, Cicek S. Comparing the ocular surface effects of topical vancomycin and linezolid for treating bacterial keratitis. *Cutan Ocul Toxicol.* 2015 Jun 23:1-5. [Epub ahead of print]
- 21-Tas T, Kucukbayrak A, Hakyemez IN, Mengelöglu FZ, Simavli H, Ozyalvacli G, Erdurmus M. Linezolid versus vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* keratitis in rabbits. *Cornea.* 2013 Jul;32(7):1052-7.
- 22-Goktas S, Kurtoglu MG, Sakarya Y, Ugurluoglu C, Ozcimen M, Sakarya R, Alpfidan I, Ivacık IS, Erdogan E, Bukus A. New therapy option for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* keratitis: tigecycline. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2015 Mar;31(2):122-7.
- 23-Romanowski EG, Kowalski TA, O'Connor KE, Yates KA, Mah FS, Shanks RM, Kowalski RP. The In Vitro Evaluation of Tigecycline and the In Vivo Evaluation of RPX-978 (0.5% Tigecycline) as an Ocular Antibiotic. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2016 Mar;32(2):119-26.

- 24-Stringham JD, Miller D, Flynn HW Jr. Coagulase-negative staphylococcus (CoNS) causing endophthalmitis: a decreasing trend of susceptibility among vancomycin and fluoroquinolones. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(7):278.
- 25-Galvis V, Tello A, Guerra A, Acuña MF, Villarreal D. [Antibiotic susceptibility patterns of bacteria isolated from keratitis and intraocular infections at Fundación Oftalmológica de Santander (FOSCAL), Floridablanca, Colombia]. [Article in Spanish]. *Biomedica*. 2014 Apr;34 Suppl 1:23-33.
- 26-Kaye SB, Tuft S, Neal T, et al. Bacterial susceptibility to topical antimicrobials and clinical outcome in bacterial keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:362–398.
- 27-Sueke H, Kaye SB, Neal T, Hall A, Tuft S, Parry CM. An in vitro investigation of synergy or antagonism between antimicrobial combinations against isolates from bacterial keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Aug;51(8):4151-5.
- 28-Suzuki T, Ohashi Y. Combination effect of antibiotics against bacteria isolated from keratitis using fractional inhibitory concentration index. *Cornea*. 2013 Jul;32(7):e156-60.