

Trabajo Fin de Grado
Grado en MEDICINA

Estudio retrospectivo de cultivos microbiológicos en pacientes con queratitis infecciosa no vírica en el Hospital Universitario de Donostia

Autor:
Uxue Astigarraga Urkia
Directora:
Itziar Martínez Soroa

© 2019, Uxue Astigarraga Urkia

Leioa, 15 de abril de 2019

ÍNDICE

Resumen.....	III
1. Introducción	1
1.1. Epidemiología de las queratitis infecciosas no víricas	1
1.2. Queratitis bacteriana	2
1.2.1. Etiología	2
1.2.2. Factores de riesgo	3
1.2.3. Clínica.....	3
1.2.4. Queratitis bacterianas infrecuentes.....	3
1.2.4.1. Queratitis bacteriana por <i>Streptococcus viridans</i>	4
1.2.4.2. Queratitis bacteriana por <i>Mycobacterium chelonae</i>	4
1.3. Queratitis fúngica.....	5
1.3.1. Etiología.....	5
1.3.2. Factores de riesgo	5
1.3.3. Clínica.....	6
1.4. Queratitis por <i>Acanthamoeba</i>	7
1.4.1. Ciclo biológico.....	7
1.4.2. Incidencia y factores de riesgo.....	7
1.4.3. Clínica y diagnóstico	8
1.5. Protocolo de recogida de la muestra	9
1.5.1. Procedimiento para la toma de muestra.....	9
1.6. Tratamiento empírico.....	12
1.6.1. Protocolo de la Sociedad Española de Cirugía Ocular Implanto- Refractiva (SECOIR).....	13
1.6.2. Tratamiento inicial en queratitis fúngicas confirmadas microbiológicamente	14
1.6.3. Tratamiento inicial en queratitis por <i>Acanthamoeba</i> confirmadas microbiológicamente	14
2. Objetivos	16
3. Material y método	17
4. Resultados	19
4.1. Resultados microbiológicos de las muestras corneales	19

4.2. Resultados microbiológicos de las muestra de lentes de contacto.....	19
4.3. Resultados microbiológicos de las muestras de líquido conservador de lentillas	20
4.4. Resultados microbiológicos de muestras complementarias: exudado conjuntival, biopsia corneal y anillo instraestromal	20
4.5. Factores de riesgo	21
4.6. Otros factores: edad y sexo	22
4.7. Tratamiento empírico administrado	22
4.8. Evolución de la enfermedad.....	23
4.9. Resultados de la sensibilidad en los antibiogramas	24
4.9.1. Sensibilidad de las bacterias gram-negativas y gram-positivas.....	24
4.9.2. Sensibilidad fúngica.....	24
4.9.3.Sensibilidad de <i>S. epidermidis</i>	25
5. Discusión.....	26
6. Conclusiones	29
7. Bibliografía	30
8. Anexos ..	I
- Anexo I. Autorización Comité Ético Investigación Clínica (CEIC)HUD.....	I
- Anexo II. Resultados microbiológicos de muestras corneales	II
- Anexo III. Resultados microbiológicos de muestras de lentes de contacto.....	IV
- Anexo IV. Resultados microbiológicos de muestras de líquido de lentillas	V
- Anexo V. Resultados de los antibiogramas	VI

RESUMEN

OBJETIVOS: Analizar los gérmenes más frecuentes implicados en las infecciones corneales no víricas en el Hospital Universitario de Donostia HUD durante 2017, así como la sensibilidad de los microorganismos, la evolución de la infección y los posibles factores de riesgo asociados.

MATERIAL Y MÉTODO: Estudio retrospectivo de pacientes identificados en clínica con queratitis infecciosa con cultivo microbiológico positivo en muestras corneales, lentes de contacto y líquido de conservación de lentes de contacto. Se identificaron factores de riesgo de infección, y tratamientos tópicos y quirúrgicos aplicados.

RESULTADOS: De 99 muestras corneales obtenidas 23 muestras (23.2%) de 23 pacientes tuvieron cultivo positivo (20 bacterias y en 3 hongos). El microorganismos más frecuentemente aislado fue *Staphylococcus epidermidis*. De los 23 pacientes con cultivo corneal positivo, 14 tenían factores de riesgo y el más frecuente fue tener antecedentes de patología de la superficie ocular, seguido de ser usuario de lentes de contacto. La proporción de mujeres y hombres con queratitis infecciosa y cultivo corneal positivo fue de 14:9 y la edad media fue de 58.17 ± 37.25 años. El tratamiento empírico más utilizado fue colirio reforzado de Tobramicina y Ceftazidima (5 casos de 23 pacientes). De los 23 pacientes 18 evolucionaron favorablemente (78.3%), 2 precisaron de queratoplastia y otros 3 evisceración. La evolución de las queratitis por hongos fue peor. Se observaron altos índices de resistencia a amoxicilina/ampicilina y eritromicina y altos valores de sensibilidad a gentamicina y trimetropin-sulfametoxazol en bacterias gram-positivas y gram-negativas.

CONCLUSIÓN: El germen más frecuentemente aislado en cultivos corneales fue *Staphylococcus epidermidis*. Tener antecedentes de patología de la superficie corneal fue el factor de riesgo más frecuente. La mayoría evolucionó bien, pero las infecciones por hongos presentaron peor evolución con necesidad de técnicas más invasivas (queratoplastia y evisceración). Los antibiogramas no incluyeron los antibióticos aplicados en colirios.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS QUERATITIS INFECCIOSAS NO VÍRICAS

La queratitis infecciosa es una infección de la córnea, cuya incidencia ha ido aumentando en los últimos años por varias circunstancias: el aumento de la edad de la población, el número de pacientes con patología de la superficie corneal y el número de usuarios de lentes de contacto (1). Las infecciones corneales se pueden clasificar en bacterianas, víricas, fúngicas y amebas. Las más frecuentes son las bacterianas, sobre todo por *Staphylococcus* y *Streptococcus* (2).

La severidad de la afección corneal depende tanto de las condiciones subyacentes del paciente, como de la patogenicidad del agente infeccioso (3). La córnea tiene ciertos mecanismos de defensa, necesarios a causa de su constante exposición a microbios e influencias ambientales. Estos mecanismos consisten en: el reflejo de cierre de los párpados, el efecto mecánico de lavado de la película lagrimal, las proteínas inmunogénicas de la lágrima (IgA y lisocima), la barrera a la difusión formada por su epitelio hidrofóbico y la capacidad del epitelio corneal de regenerarse rápida y completamente (4).

Existen, por tanto, una serie de factores de riesgo y enfermedades de la superficie ocular que pueden favorecer una infección corneal, como son la queratitis herpética, queratopatía bullosa, ojo seco, blefaritis crónica, triquiasis y entropión, lagofthalmos, enfermedad ocular alérgica grave y anestesia corneal. También incluyen factores de riesgo de inmunosupresión local; la utilización de corticoides tópicos es la causa más frecuente de inmunosupresión localizada. También pueden influir factores de inmunosupresión sistémica, la Diabetes Mellitus y la deficiencia de vitamina A especialmente.

Las queratitis infecciosas son una causa importante de morbilidad ocular en todo el mundo, con potencial riesgo de pérdida de la visión e incluso de la integridad ocular. La incidencia va en aumento, de manera que hay que tener un claro protocolo de actuación a nivel diagnóstico y terapéutico. En el manejo de esta situación, es importante una correcta comunicación entre el Servicio de Oftalmología y Microbiología aportando información de utilidad, como factores de riesgo, hallazgos

clínicos y sospecha diagnóstica, para orientar mejor el estudio microbiológico y la interpretación de los resultados de los cultivos y técnicas moleculares.

1.2. QUERATITIS BACTERIANAS

1.2.1. Etiología

Las queratitis infecciosas bacterianas, son la causa más frecuente de infección corneal en nuestro medio. Suelen desarrollarse cuando se ha afectado el epitelio corneal, aunque algunas bacterias pueden penetrar un epitelio corneal sano, habitualmente asociado a una conjuntivitis grave. Los patógenos pueden ser diferentes dependiendo de los países y de las comunidades, aunque la mayoría suelen ser cocos gram-positivos (50-60%) y componentes de la flora normal. Los más frecuentes son (5):

1. *Staphylococcus aureus*, comensal común gram-positivo coagulasa positivo de conjuntiva, piel y narinas. Suele presentarse con un infiltrado blanco-amarillo focal definido.
2. *Staphylococcus epidermidis*, bacteria comensal gram-positivo coagulasa-negativa, provoca queratitis severas e incapacitantes.
3. *Streptococcus pneumoniae*, es comensal gram-positivo de las vías respiratorias superiores y se ve con más frecuencia en gente mayor. Se relaciona a infección corneal tras cirugía corneal, queratoplastia y queratotomía radial por ejemplo.
4. *Streptococcus pyogenes*, es un comensal gram-positivo común de garganta y vagina. Las infecciones estreptocócicas suelen ser agresivas.
5. *Pseudomona aeruginosa*, bacilo gram-negativo ubicuo. La infección suele ser agresiva y causa más del 60% de las queratitis en usuarios de lentes de contacto.

1.2.2. Factores de riesgo

Hay varios factores de riesgo que pueden favorecer la queratitis bacteriana: traumatismo corneal, ojo seco, enfermedades de la superficie ocular, conjuntivitis cicatrizantes, enfermedades de malposición palpebral y el uso de lentes de contacto.

Llevar lentes de contacto, es uno de los mayores riesgos para el desarrollo de infecciones corneales; el riesgo es menor para las lentes de contacto rígidas. Las bacterias en la película lagrimal habitualmente son incapaces de unirse al epitelio corneal, pero después de una abrasión y en asociación con hipoxia por uso de lentes de contacto, las bacterias pueden unirse y penetrar en el epitelio y causar infección. Las bacterias y protozoos también pueden penetrar en la superficie corneal por mala higiene de las lentes o por el uso de agua del grifo para limpiar las lentes (6).

Como hemos dicho, las lentes de contacto pueden provocar hipoxia, es decir, transmisión insuficiente de oxígeno a través de la lente, especialmente a la noche por el párpado cerrado. Una lente de contacto muy ajustada que no se mueve con el parpadeo altera la circulación de la lágrima bajo la lente. Esta situación se reagudiza con el cierre palpebral si la lente se lleva durante el sueño. La hipoxia produce un metabolismo anaerobio y acidosis láctica, que a su vez inhibe la barrera normal y los mecanismos de funcionamiento del endotelio corneal (6).

1.2.3. Clínica

Los hallazgos clínicos en las queratitis bacterianas son infiltrado, erosión corneal, hiperemia mixta y puede acompañarse de reacción en cámara anterior. Los pacientes refieren dolor moderado o intenso, fotofobia, disminución de la visión y lagrimeo (4). En casos graves puede aparecer quemosis y tumefacción palpebral, además en casos de infección grave por *Pseudomona*, si el adelgazamiento corneal es muy severo puede producir perforación corneal (6).

1.2.4. Queratitis bacterianas de etiología infrecuente

Existen otras causas de queratitis bacterianas especiales como son la queratopatía cristalina (asociada a uso de corticoides tópicos) y queratitis por micobacterias (especialmente tras intervenciones de LASIK).

1.2.4.1. Queratitis bacteriana por *Streptococcus viridans*

El germen *Streptococcus viridans* es una causa habitual de queratopatía cristalina infecciosa. Es una infección infrecuente e indolora que suele asociarse al tratamiento a largo plazo con corticoides tópicos donde se ha producido un defecto epitelial, con mayor frecuencia después de una queratoplastia penetrante. Otras bacterias y hongos también pueden desarrollar esta entidad (6).

A diferencia de otras queratitis infecciosas que tienen una evolución más rápida y agresiva, los microorganismos responsables de la queratitis cristalina tienen la capacidad de producir *biofilm*, lo que les permite aislarse inmunológicamente del huésped. La producción de *biofilm* por estos microorganismos se produce en ciertas circunstancias, como carencia de nutrientes y determinada temperatura ambiental. Los microorganismos que están en esta situación se replican de 5 a 15 veces menos. La pobre respuesta inmunológica debida a la deficiente inmunidad celular de la córnea y el aislamiento inmunológico por el *biofilm*, sumada a la baja replicación de los microorganismos, explicaría la patogenia de esta enfermedad, caracterizada por una pobre respuesta inflamatoria y una lenta evolución (7).

Los signos clínicos son opacidades estromales arborescentes blanco-grisáceas, lentamente progresivas y mínima inflamación con epitelio intacto. El tratamiento se realiza con antibióticos locales. Si se dejan corticoides tópicos sin cobertura antibiótica, puede haber un aumento rápido de la inflamación y supuración (6).

1.2.4.2. Queratitis bacteriana por *Mycobacterium chelonae*

A su vez, las queratitis secundarias a *Mycobacterium chelonae* se caracterizan por tener un curso tórvido, subagudo, de difícil diagnóstico si no se tiene una alta sospecha, y que a pesar de tratamiento antimicrobiano y quirúrgico, tiene un pronóstico reservado (3). Los factores de riesgo incluyen traumatismo corneal, LASIK, cirugías previas (queratoplastia penetrante), prótesis oculares e implantes y cerclaje escleral. Además se asocia al uso de lentes de contacto, corticoides tópicos y a la infección por VIH (8).

Las infecciones micobacterianas atípicas de la córnea pueden presentarse inicialmente con cambios inflamatorios inespecíficos leves y rechazo del injerto en caso de transplante corneal previo. El crecimiento del microorganismo en el medio

de cultivo es lento, y puede producirse un retraso en el diagnóstico (8).

Las úlceras corneales son de color blancogrisáceo, extendiéndose hasta estroma profundo. Generalmente afectan a la porción central de la córnea, variando en tamaño de 1.5 mm hasta todo el diámetro corneal. La forma puede ser diferente, desde pequeños defectos con bordes bien definidos, hasta úlceras grandes con bordes irregulares. Las infecciones corneal por micobacterias inicialmente son indoloras, de crecimiento lento y caracterizadas por periodos de remisión-recurrencia. Las reacciones en cámara anterior van desde inflamación leve a moderada (3).

El diagnóstico diferencial es difícil, ya que pueden tener un aspecto exudativo, lo que hace que en la mayoría de los casos sean inicialmente tratadas como úlceras de origen bacteriano. En ocasiones pueden observarse infiltrados corneales o lesiones satélites adyacentes a la úlcera, lo que dificulta el diagnóstico, pudiendo simular una queratitis micótica (3).

1.3. QUERATITIS FÚNGICAS

1.3.1. Etiología

Los dos principales agentes micóticos que producen queratitis son las levaduras y los hongos filamentosos. Las levaduras, cuyo exponente principal es la *Cándida spp.* Son microorganismos unicelulares ovoides que se reproducen por gemación y causan la mayoría de queratitis fúngicas en climas templados. Se asocian a factores de inmunosupresión local, uso de glucocorticoides y también por la afectación sistémica de la Diabetes Mellitus. Por otro lado, los hongos filamentosos, cuyo exponente principal son el *Fusarium spp.* y *Aspergillus spp.*, son multicelulares y producen proyecciones tubulares conocidas como hifas. Son los patógenos más frecuentes en climas tropicales, pero ambos difieren en los signos clínicos (9). En los países subdesarrollados se asocian a traumatismos oculares y en los industrializados a usuarios de lentes de contacto.

1.3.2. Factores de riesgo

Las queratitis por levaduras suelen darse en casos enfermedad crónica de la superficie ocular. La inmunodepresión sistémica y local, sobre todo por uso

prolongado de corticoides, y Diabetes Mellitus son las causas más frecuentes (9). La queratitis filamentosa puede asociarse a traumatismo corneal por plantas o herramientas de agricultura, por esta razón, son las especies aisladas con mayor frecuencia en los cultivos realizados a pacientes con queratitis fúngicas en las zonas geográficamente cálidas (6). Existe variación geográfica y los condicionantes climatológicos de humedad y calor aumentan la probabilidad de infección (2).

En los últimos años han aumentado las queratitis fúngicas causadas por lentes de contacto, en el período comprendido entre los años 2005-2006 hubo una epidemia mundial de queratitis por *Fusarium* asociada al uso de una solución comercial de lentes de contacto de esterilización inadecuada (9).

1.3.3. Clínica

Habitualmente, las queratitis fúngicas son de inicio insidioso, retrasando el diagnóstico y el inicio del tratamiento. Además son gérmenes de crecimiento lento en los cultivos microbiológicos, retrasando aún más el diagnóstico. Son muy agresivos localmente y los antifúngicos tópicos tienen poca penetrancia corneal, de manera que aumenta el riesgo de necesitar tratamiento quirúrgico (queratoplastia tectónica) para su resolución.

Clínicamente se presenta con dolor progresivo, arenilla, fotofobia, visión borrosa y secreción acuosa o mucopurulenta. En caso de queratitis por levaduras, el infiltrado es blanco-amarillento denso, con bordes definidos y puede verse una morfología en botón de camisa. En caso de queratitis filamentosa, el inicio del cuadro es más insidioso e inespecífico. El infiltrado estromal es gris o blanco-amarillo con bordes plumosos mal definidos. La infiltración es progresiva, a menudo con lesiones satélite y se pueden desarrollarse extensiones en forma de plumas. En ocasiones se produce una rápida progresión con necrosis y adelgazamiento. Puede producirse la penetración en una membrana de Descemet intacta y causar una endoftalmitis sin perforación corneal previa (6).

1.4. QUERATITIS INFECCIOSAS POR ACANTHAMOEBA

1.4.1. Ciclo biológico

La *Acanthamoeba spp.* es protozoos ubicuo, de vida libre y se comporta como patógeno oportunista. Se encuentra habitualmente en el suelo, en agua dulce o salada, así como en vías respiratorias superiores (10).

Su ciclo biológico consta de 2 estadios: una forma activa, con capacidad infecciosa y reproductora, que es el trofozoíto, y la forma latente, que es el quiste. El trofozoíto se alimenta de bacterias, algas, levaduras y partículas orgánicas ambientales por medio de la emisión de pseudópodos y su posterior fagocitosis (en la córnea se piensa que se alimentan de queratocitos). Se mueven gracias a los acantopodios y se reproducen por fisión binaria. La formación del quiste ocurre en condiciones ambientales adversas, como la falta de alimento, desecación o cambios en la temperatura y pH, formando una doble pared que contiene celulosa (11). En estas condiciones, el microorganismo reduce drásticamente su actividad metabólica y así es capaz de sobrevivir a la acción de desinfectantes, antibióticos, cloración y bajas temperaturas, incluso a la congelación, y puede permanecer viable varios años a -20 °C. En condiciones ambientales apropiadas, los quistes se transforman en trofozoítos, que a su vez sintetizan enzimas que favorecen la penetración y destrucción tisular (12).

1.4.2. Incidencia y factores de riesgo

La incidencia de queratitis causada por *Acanthamoeba spp.* ha aumentado considerablemente. El 85% de los casos se produce en portadores de lentes de contacto (10). En los países desarrollados se asocia mayoritariamente al uso de lentes de contacto. En estos casos, la ameba puede alcanzar el estroma a través del microtrauma epitelial corneal secundario a las lentes de contacto (13). Además se ha observado un aumento de riesgo en personas que se duchan con las lentes puestas, sobreuso y deficientes condiciones de higiene en su manejo (uso de agua de grifo fundamentalmente) (14). También a traumatismos en zonas de agricultura, en estos casos la ameba tiene acceso directo al estroma corneal (13).

En un estudio para conocer la incidencia de *Acanthamoeba* y los hábitos de higiene

del cuidado de las lentes, para analizar los posibles factores de riesgo de infección (14), se estudiaron 177 muestras de lentes de contacto de usuarios sanos y de los hábitos estudiados (ducharse con lentes, lavado de manos antes del manejo, sobreuso, no limpiar lentes, no limpiar estuche de lentes de contacto y usar agua de grifo). El hábito con mayor riesgo de infección fue no limpiar los estuches de las lentes.

1.4.3. Clínica y diagnóstico

El diagnóstico de queratitis por *Acanthamoeba* se retrasa con frecuencia porque inicialmente puede haber sido diagnosticado erróneamente como queratitis por herpes simple o queratitis fúngica. Se debe realizar un esfuerzo especial para asegurar un diagnóstico adecuado en los estadios tempranos, puesto que el pronóstico es favorable con un diagnóstico precoz y un tratamiento médico efectivo. Los pacientes con queratitis acantamoébrica son en su mayoría, jóvenes, individuos saludables, y resultan afectados por igual hombres y mujeres. La probabilidad de infección acantamoébrica debe considerarse alta en el diagnóstico diferencial de usuarios de lentes de contacto con una queratitis atípica, y también debería considerarse en el diagnóstico diferencial de cualquier queratitis indolente crónica, puesto que el 10% de los casos ocurren en no portadores de lentes de contacto (13).

La clínica es insidiosa, se presenta con visión borrosa y dolor intenso, desproporcionado respecto a los hallazgos clínicos que se ven en la exploración y fotofobia intensa (10). Generalmente es unilateral, pero en alguna ocasión puede ser bilateral (13). En las fases iniciales se caracteriza por superficie irregular y grisácea, pseudodendritas epiteliales (confundibles con queratitis epitelial por VHS), infiltrados subepiteliales e infiltrados perineurales que aparecen en las semanas 1-4 y son patognomónicos. Los hallazgos más tardíos (más de 2 meses) son la pérdida de epitelio, el infiltrado estromal anular y la uveítis. La limbitis es frecuente tanto en fases tempranas como en las avanzadas. Cuando el proceso se cronifica el infiltrado tiende a localizarse en el centro corneal (10). En la fase final aparece opacificación estromal lentamente progresiva y vascularización (14).

En definitiva, la *Acanthamoeba* provoca serias infecciones en el humano. La ausencia de un diagnóstico y tratamiento precoz y agresivo, puede provocar una afectación extensa, con riesgo de perforación ocular e incluso de enucleación.

1.5. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE LA MUESTRA

Las queratitis corneal es un motivo de consulta común en las consultas de oftalmología con gran morbilidad que suele requerir un protocolo diagnóstico y de actuación terapéutica precoz para su adecuada resolución (5).

El pequeño volumen de la muestra obtenida y la baja o moderada sensibilidad de los cultivos de los exudados oculares, conducen a menudo a establecer un tratamiento empírico. Es importante que el oftalmólogo informe sobre la sospecha etiológica, para orientar al microbiólogo en el estudio de la muestra, ya que en ocasiones, los microorganismos considerados saprofitos pueden ser la causa de infección corneal.

En general, hay consenso en que se debe tomar una muestra para examen microbiológico cuando se amenaza la visión por afectación corneal central, la úlcera es extensa (área superior a $1 \times 1 \text{mm}^2$), la lesión adelgaza la córnea, la inflamación es significativa, el infiltrado se extiende a la profundidad del estroma, hay hipopión o necrosis corneal, la úlcera es crónica, hay sospecha de queratitis fúngica, amebiana o micobacteriana, o el tratamiento empírico fracasa (1).

La muestra se coge mediante raspado corneal mediante aguja o cuchillete. En caso de infiltrado pequeño, sin defecto epitelial y lejos del eje visual puede ser innecesaria la toma de muestra (1). La muestra se debe coger antes del inicio de la antibioterapia. La antibioterapia previa reduce la sensibilidad del cultivo en un 30-40%, y en ese caso hay que notificarlo al microbiólogo (15). Si es necesario, se recomienda descansar 48 horas sin antibiótico para realizar otra nueva toma de muestra para su cultivo.

1.5.1. Procedimiento para la toma de muestras (6)

- Aplicación de anestésico tópico sin conservantes en la superficie ocular; una gota de anestésico doble (Oxibuprocaina y Tetracaína). El anestésico tópico puede alterar el crecimiento en el cultivo y PCR, pero la técnica resulta dolorosa sin anestésico.

- Raspado con hoja de bisturí, aguja hipodérmica o espátula estéril (p.ej. Kimura).
- Durante el raspado es necesario eliminar primero y con cuidado el moco suelto y el tejido necrótico de la superficie de la úlcera.
- Se raspan los bordes (mayor replicación celular) y la base de la lesión.
- Se coloca frotis en uno o dos portaobjetos de vidrio para el microscopio óptico, incluida la tinción gram. Se proporciona una superficie para el marcado con lápiz. Se seca a temperatura ambiente y luego se coloca en un portaobjetos.
- Se vuelve a rascar para cada medio y se colocan las muestras en los medios de cultivo. Los medios de cultivo que se solicitan habitualmente son: agar sangre (crecen la mayoría de bacterias y hongos, excepto *Neisseria*, *Haemophilus* y *Moxarella*); agar chocolate (especialmente para *H. influenzae*, *Neisseria* y *Moxarella*); agar tioglicolato (aerobios, anaerobios y microaerófilos); y agar dextrosa de Sabouraud (Hongos). Ante sospecha de queratitis por *Acanthamoeba*, se solicita agar sin nutrientes sembrado con *E.coli* y en caso de sospecha de infección por micobacterias, Löwenstein-Jensen. Además del cultivo en los diferentes medios, se pueden cultivar también en medios de enriquecimiento que contienen propiedades físicas o químicas que favorecen el crecimiento de gérmenes. Se utiliza para aumentar la sensibilidad de la muestra.

En las queratitis por *Acanthamoeba*, aunque la microscopia confocal ha demostrado una elevada sensibilidad en la detección de estructuras redondeadas, de alto contraste y de 10-25 μm de diámetro como quistes de *Acanthamoeba*, no podemos estar seguros de que sean realmente quistes. El diagnóstico por microscopia confocal es de presunción, y se sigue dependiendo de los cultivos y técnicas moleculares, reacción en cadena de polimerasa (PCR) para el diagnóstico definitivo (13). La detección en muestras clínicas de secuencias del ADN de la subunidad 18S del ribosoma tras amplificación mediante PCR es, según algunos autores, tan sensible como el examen directo y tan específica como el cultivo (10).

- Los estuches de las lentes de contacto, así como los frascos de solución y las propias lentes, deben obtenerse siempre que sea posible y enviarse al laboratorio para cultivo, especialmente útil para la identificación del DNA de *Acanthamoeba*. En las

lentes de contacto, el raspado se realiza en la cara cóncava y el medio de transporte es el suero fisiológico (1).

- La biopsia corneal se indica cuando la queratitis no responde al tratamiento instaurado, el resultado del cultivo ha sido dos veces negativo y es progresivo a pesar del tratamiento (5 días). Se realiza en quirófano y se utiliza un punch dermatológico de 3 mm de diámetro. La cornea se divide en 2 mitades, una mitad se envía en formol para su estudio en Anatomía Patológica y la otra mitad en suero fisiológico para estudio microbiológico. Permite mayor sensibilidad que el cultivo, en el estudio microbiológico de la muestra del exudado corneal.

Figura 1. Código de barras para la identificación del paciente y la muestra.



Figura 2. Espátula estéril y medio de transporte.



Figura 3. Muestra en medio de transporte, correctamente identificado para enviar al laboratorio de microbiología junto a la solicitud.



Figura 6. Hoja para la solicitud para estudio microbiológico con identificación de muestra y paciente. Fecha y hora de la muestra anotadas, así como los datos de la persona que hace la extracción.

 A form titled 'Microbiología' for a microbiology request. The form includes fields for patient information (Historia, C.C., Admisión, Sexo, Edad, etc.), specimen details (Fecha Paciente, Fecha Extracción, etc.), and a section for the extractor's signature and date. A barcode with the number '76.434.009' is visible on the form.

Microbiología	
Osakidetza	Historia: C.C. Admisión: Sexo: Edad: Cama: Cama: Cama:
Unidad Asistencial: Ambulatorio de Día	Unidad: Servicio: CITA/MICROLOGIA (24H)
Fecha Paciente: 04/01/2019 14:04:34	Fecha de Extracción:
Centro Examinación: Día: Mes: Año:	
Diagnóstico: -	
Motivo Prueba: -	
Observaciones:	
MEDICU ZEMAKIAN MATRICULA SIN TUTA FIRMADO	
CCP:	Fecha: 04/01/2019 14:04:34
CCP:	Orta/Pagina: 1 de 1

1.6. TRATAMIENTO EMPÍRICO

La mayoría de las queratitis adquiridas en la comunidad se resuelven con tratamiento empírico sin necesidad de esperar al diagnóstico microbiológico. Los factores de riesgo del paciente así como las características clínicas de la córnea pueden ayudar en la orientación terapéutica.

La base del tratamiento es administrar los antimicrobianos tópicos después de realizar las pruebas preliminares de diagnóstico. La elección se basa en la posible etiología según los factores de riesgo y los hallazgos clínicos, no obstante por el aspecto clínico no es posible definir el agente causal. En general se aplica un tratamiento de amplio espectro, introduciendo los fármacos más selectivos cuando se dispongan de los resultados microbiológicos (6):

1.6.1. Protocolo terapéutico de la Sociedad Española de Cirugía Ocular Implanto-Refractiva (SECOIR) (16), aplicado por el Hospital Universitario de Donostia para infecciones corneales bacterianas:

- El tratamiento se administra en monoterapia cuando la lesión es superficial, no hay afectación del eje visual, extensión limitada superficial y no hay hipopion. En los no usuarios de lentes de contacto colirio comercial (CC) Ofloxacino 0.3% o CC Ciprofloxacino 0.3% o CC Moxifloxacino 0.5%. En los usuarios de lentes de contacto se utiliza Ciprofloxacino 0.3%. Moxifloxacino no está aconsejado en portadores de lentes de contacto, ya que es menos eficaz frente *Pseudomona*.

-Se prefiere la terapia antibiótica combinada con colirios reforzados preparados en farmacia hospitalaria en casos de queratitis graves: cuando hay afectación del eje visual, extensión y propagación importantes de la lesión, hipopion y no responde a la monoterapia. En los pacientes no portadores de lentes de contacto, se emplea Ceftazidima reforzada 5% + Vancomicina reforzada 5%, y en los usuarios de lentes de contacto, Ceftazidima reforzada 5%+ Trobacimicina reforzada 1.6%.

En pacientes predispuestos a queratitis infecciosa por *Staphylococcus* meticilin resistentes (MRS) (cirugía, infección por MRS o inmunosupresión), la terapia empírica combinada con Vancomicina 5% es imprescindible.

Hay dos fases en el tratamiento antibioterápico. Primero, en la fase de esterilización (5 días), se administra el antibiótico cada hora durante las 48 primeras horas y cada 2 horas los próximos tres días. Segundo, en la fase de curación, se administra el antibiótico cada 4-6 horas durante un mes. Esta segunda fase está dirigida a la disminución de la inflamación, sobreinfección y a promover la epitelización. Se puede valorar asociar corticoides tópicos para controlar la inflamación si hay respuesta terapéutica.

Si a las 48 horas existe mejoría clínica de la lesión, no hay que alterar la terapia antibiótica independientemente de lo resultados del cultivo (15). En caso de falta de respuesta al tratamiento empírico en 4 días, debe considerarse suspender el antibiótico 24-48 horas, volver a coger muestras y solicitar pruebas diagnósticas más amplias. Hay que tener en cuenta otras etiologías posibles como hongos y *Acanthamoeba* (11).

Los corticoides tópicos se introducen en la fase de curación. Se pueden administrar cuando se evidencia mejoría por los antibióticos, ya que son útiles en algunos casos para disminuir la inflamación que daña la cornea afectando a la visión (2). Deben utilizarse con precaución, ya que pueden favorecer la replicación de algunos microorganismos, sobre todo VHS y hongos, además de retrasar la reepitelización (6).

La administración sistémica de antibióticos y la valoración de la cirugía (queratoplastia tectónica), se realiza si hay riesgo de perforación o si hay extensión escleral de la infección. En las queratoplastias, a menos que haya evidencia de infección fúngica, la terapia esteroidea debe considerarse precozmente para prevenir un episodio de rechazo (15).

1.6.2. Tratamiento inicial en queratitis fúngicas confirmadas microbiológicamente

En caso de confirmación microbiológica de queratitis fúngica el tratamiento inicial es Natamicina 5% colirio. Asociado a Anfotericina B tópica si hay sospecha de infección por *Cándida* y en caso de sospecha de infección por hifas, se asocia Voriconazol 1% tópico a la Natamicina. La administración sistémica se dará en caso de queratitis grave, endoftalmitis o infección escleral. La pauta antifúngica es 1 gota cada hora durante las primeras 48 horas e ir reduciendo dosis semanalmente según la evolución. Hay que mantener el tratamiento durante 4-6 semanas como mínimo. A veces hay que considerar el desbridamiento epitelial para facilitar la penetración del colirio antifúngico. En estos casos, los corticoides tópicos se pueden utilizar si hay gran inflamación pero al menos tras 15 días de tratamiento antifúngico intensivo y evidencia de control de la infección. No deben utilizarse sin cobertura antifúngica (15).

1.6.3. Tratamiento inicial en queratitis por *Acanthamoeba* confirmadas microbiológicamente

En el caso de queratitis por *Acanthamoeba*, se debería empezar el tratamiento con confirmación diagnóstica. El tratamiento se basa en agentes amebicidas,

administrando por vía tópica una Diamidina y una Biguanida. Entre las Diamidinas disponibles se encuentran la Propamidina al 0.1% y la Hexamidina al 0.1%. Las Biguanidas más utilizadas son la Polihexametileno biguanida (PHMB) 0.02% y la Corhedixina 0.02%. Se administra cada hora los 5 primeros días y cada dos horas hasta cumplir el mes. A partir del primer mes se administra cada 6 horas hasta cumplir los 6 meses. El tratamiento es muy largo, por el riesgo de que persistan los quistes pudiendo reactivarse la enfermedad. Los corticoides, en caso de necesitarlos, se administran una vez completadas 2-3 semanas de tratamiento antiamebiano (15).

2. OBJETIVOS

1. El objetivo primario de este estudio es analizar los resultados microbiológicos en las infecciones corneales no víricas del Hospital Universitario de Donostia (HUD) en el año 2017, para conocer los gérmenes más frecuentes implicados en las mismas.

Los objetivos secundarios son los siguientes:

2. Analizar el número de cultivos que fueron positivos en relación a todas las muestras obtenidas.
3. Estudiar los hongos más frecuentemente aislados en los cultivos.
4. Observar los factores de riesgo asociados a la infección corneal.
5. Analizar la evolución de la infección tras la aplicación de los tratamientos oftalmológicos más empleados en el HUD.
6. Localizar y analizar los casos que necesitaron intervenciones más invasivas.
7. Estudiar la incidencia de gérmenes en usuarios de lentes de contacto y no usuarios de lentes de contacto.
8. Estudiar la sensibilidad y la resistencia de los gérmenes encontrados mediante antibiogramas, con el fin de servir de guía en el manejo clínico empírico local.

3. MATERIAL Y MÉTODO

Se ha realizado un estudio retrospectivo observacional de cultivos microbiológicos recogidos de un total de 83 pacientes, que han sido tratados como queratitis infecciosa no vírica en el Hospital Universitario de Donostia (HUD) durante el año 2017. Los pacientes han sido identificados con el número de historia clínica.

El Servicio de Microbiología del HUD proporcionó los resultados sobre las muestras (corneales, lentes de contacto y líquido conservador de lentillas) y el tipo de cultivo realizado durante 2017 de los pacientes con queratitis infecciosa no vírica. Se analizaron 99 muestras corneales, 14 muestras de lentes de contacto y 8 muestras de líquido conservador de lentillas. Para la recopilación de los datos se ha desarrollado una hoja de datos utilizando Microsoft® Excel® 2011 Versión 14.3.9, que sirvió de base para el estudio. Se analizó el porcentaje de los cultivos positivos por gérmenes y la etiología infecciosa más frecuente. Posteriormente se comprobó la existencia o no del mismo agente causal en las diferentes muestras, así como los resultados de los antibiogramas y antifungigramas.

Se realizó una revisión de las historias clínicas de los pacientes con resultado de cultivo corneal y/o líquido conservador de lentillas y/o lentes de contacto positivos en el programa informático de historias clínicas de Osakidetza (Osabide Global). Previamente se solicitó autorización al Comité Ético Investigación Clínica (CEIC) de HUD (**Anexo I**). Los datos de interés a estudiar fueron: edad y género del paciente, factores de riesgo de infección corneal (usuario de lentes de contacto, antecedentes de patología de superficie corneal e intervenciones oculares previas), resultado del antibiograma, tratamiento tópico, realización o no de biopsia corneal, evolución de la enfermedad y si se aplicó tratamiento quirúrgico asociado: queratoplastia y/o evisceración.

Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica para conocer la etiología, clínica y factores de riesgo de las queratitis infecciosas no víricas más frecuentes según la literatura científica. La búsqueda de artículos de revisión sobre infecciones corneales se hizo en Pubmed (las palabras clave utilizadas fueron: *Infectious keratitis*, *Microbiological profile infectious keratitis*, *Acanthamoeba spp.* and *Contact Lenses*,

Mycobacterium chelonae and corneal graft, cultures, corneal scrapes), revistas especializadas en oftalmología como, "Archivos de la sociedad española de oftalmología"¹⁷ y la revista científica "Superficie Ocular y Córnea". También se consultó publicaciones oficiales de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) y libros especializados en la materia. Así mismo, se han revisado los protocolos de actuación diagnóstica y terapéutica de la Sociedad Española de Cirugía Ocular Implanto-Refractiva (SECOIR), que se aplican en el HUD. Todas las fuentes han sido registradas según las normas bibliográficas de Vancouver.

4. RESULTADOS

4.1. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE LAS MUESTRAS CORNEALES

En el año 2017 se obtuvieron 99 muestras corneales de 83 pacientes, 23 muestras de 23 pacientes tuvieron resultado de cultivo corneal positivo (23.2%). En 20 cultivos (86.9%) de los 23 cultivos corneales positivos se aislaron bacterias y 3 cultivos (13%) fueron positivos para hongos (**Anexo II**).

La bacteria más frecuente aislada en los cultivos corneales fue el *Staphylococcus epidermidis* (26.1% de los cultivos corneales positivos), seguido de *Staphylococcus aureus* (8.7%), *Moraxella lacunata* (8.7%) y *Serratia marcescens* (8.7%). Otros gérmenes aislados fueron en menor medida: *Streptococcus oralis*, *Corynebacterium macginleyi*, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus hominis*. En 2 cultivos (8.7%) las infecciones bacterianas fueron polimicrobianas (*Corynebacterium macginleyi*, *S. epidermidis* y *S. oralis*; y *M. lacunata* y *S. hominis*). En 3 cultivos (13%) positivos se aislaron hongos: *Candida albicans*, *Fusarium proliferatum* y un hongo filamentoso sin filiar.

4.2. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE LAS MUESTRAS DE LENTES DE CONTACTO (LC)

Se analizaron 14 muestras de lentes de contacto de 13 pacientes, 6 muestras obtuvieron resultados de cultivo positivo (42.8%). En estas 6 muestras los microorganismos más frecuentemente aislados fueron los hongos: *Candida parapsilosis*, *Candida albicans*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Yarrowia lipolytica* y un hongo filamentoso sin filiar. También se aislaron las bacterias *S. epidermidis* y un bacilo gram-negativo sin filiar, así como una ameba (*Acanthamoeba*). En 3 cultivos positivos el crecimiento fue polimicrobiano para bacterias y hongos, hallándose: Bacilo gram-negativo y hongo filamentoso; crecimiento bacteriano mixto, *Candida parapsilosis* y *Yarrowia lipolytica*; y *Candida albicans* y *Fusarium oxysporum* (**Anexo III**).

De las 6 muestras de lentes de contacto con cultivo positivo, en una se aisló el mismo microorganismo que en el cultivo de la muestra corneal, *S. epidermidis*. No se observó lo mismo en los 5 cultivos positivos restantes, en ellos los cultivos corneales fueron negativos. En 3 pacientes con cultivo corneal positivo no se evidenció crecimiento en las muestras de lentes de contacto.

4.3. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO CONSERVADOR DE LENTILLAS

Se obtuvieron 9 muestras de líquido de lentillas de 6 pacientes, siendo 2 muestras positivas (22.2%). En una muestra se halló un hongo filamentoso sin filiar y en la otra muestra *S. epidermidis* y *Propionibacterium acnes* (**Anexo IV**).

En estas 2 muestras, se aislaron los mismos microorganismos que en el cultivo de la muestra corneal.

4.4. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE OTRAS MUESTRAS: EXUDADO CONJUNTIVAL, BIOPSIA CORNEAL Y ANILLO INTRAESTROMAL

En 3 pacientes de los 23 con cultivo corneal positivo se obtuvieron muestras complementarias. En uno de ellos se realizó toma de muestra de exudado conjuntival y biopsia corneal por mala evolución de la enfermedad y cultivos corneales negativos repetidos. Tanto en el cultivo del exudado conjuntival como en la biopsia corneal se aisló el mismo agente patógeno, *C. albicans*, que posteriormente se aisló en el cultivo de otra muestra de cultivo corneal. En otro caso se obtuvo muestra del exudado conjuntival simultáneamente a la toma de la muestra corneal, aislándose el mismo microorganismo en ambos casos, *Serratia marcescens*. En un tercer paciente con antecedente de cirugía ocular previa y con anillo intraestromal, se realizó toma de muestra para cultivo del anillo simultáneamente a la toma de muestra corneal. En el cultivo del anillo se aisló *S. oralis* y en el cultivo corneal se aisló *S. epidermidis*.

4.5. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA INFECCIÓN CORNEAL

De los 23 pacientes con cultivo corneal positivo, 14 tenían factores de riesgo por infección corneal (60.9%), en el resto de pacientes no se identificaron factores de riesgo. De los 14 pacientes, 3 tenían múltiples factor de riesgo y 11 solamente un factor. El factor de riesgo más frecuente observado fue presentar patología de la superficie corneal (véase **Tabla 1**), seguido de ser portador de lentes de contacto. Otros factores encontrados fueron las cirugías oculares previas (vitrectomía, intervención corneal con anillo y cirugía de cataratas) y dentro de las enfermedades sistémicas la Diabetes Mellitus (**Tabla 2**).

Tabla 1. Frecuencia de los factores de riesgo que presentaban los 14 pacientes.

Factor de riesgo	Nº(%)
Patología de superficie corneal	8 (57.1)
- Glaucoma crónico en tratamiento médico con colirios	2 (14.3)
- Queratopatía en banda	1 (7.1)
- Queratouveítis herpética	1 (7.1)
- Traumatismo con perforación corneal	1 (7.1)
- Inmunosupresión local por corticoides tópicos	1 (7.1)
- Triquiasis	1 (7.1)
- Blefaritis	1 (7.1)
Usuario de lentes de contacto	6 (42.9)
Cirugía ocular previa	3 (21.4)
- Vitrectomía	1
- Cirugía de catarata	1
- Intervención con anillo intracorneal	1
Otros	
- Diabetes Mellitus	1 (7.1)

Tabla 2. Asociación de los factores de riesgo y microorganismos aislados en muestras de cultivo corneal positivo.

Microorganismo	Factores de riesgo
S. epidermidis	Lentes de contacto Blefaritis Perforación corneal previa Queratouvitís herpética Intervención corneal Cirugía de cataratas (postoperatorio) Vitrectomía (postoperatorio)
S. aureus	Queratopatía en banda y glaucoma en tratamiento con colirios
Serratia marcescens	Diabetes Mellitus y glaucoma
Hongo Filamentoso sin filiar	Lentes de contacto
C. albicans	Triquiasis e inmunosupresión local por corticoides tópicos

4.6. OTROS FACTORES: EDAD Y SEXO

La proporción de mujeres y hombres entre los 23 pacientes con queratitis infecciosa corneal y cultivo corneal positivo fue de 14:9. Por otro lado, la edad media de presentación fue 58.17 ± 37.25 años.

4.7. TRATAMIENTO EMPÍRICO ADMINISTRADO

La antibioterapia empírica tópica más utilizada fue la combinación de colirios reforzados de Tobramicina y Ceftazidima tópicos en 5 casos de los 23 pacientes tratados (21.7%) con queratitis y cultivo corneal positivo. La combinación de Vancomicina y Tobramicina reforzada fue empleada en 3 casos (13%), así como colirios de Moxifloxacino comercial en 3 casos (13%). Otras asociaciones empleadas se describen en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Tratamientos empíricos tópicos utilizados en los pacientes con queratitis corneal y cultivo corneal positivo.

Tratamiento empírico	Nº (%) empleado
Tobramicina CR + Ceftazidima CR	5 (21.7)
Vancomicina CR +Tobramicina CR	3 (13)
Moxifloxacino	3 (13)
Vancomicina CR +Tobramicina CR + Voriconazol CR	2 (8.7)
Tobramicina CR + Ceftazidima CR +Moxifloxacino	1 (4.3)
Vancomicina CR + Ceftazidima CR	1 (4.3)
Vancomicina CR + Ceftazidima CR +Moxifloxacino	1 (4.3)
Moxifloxacino CR +Tobramicina CR +Azitromicina	1 (4.3)
Vancomicina CR + Tobramicina CR +Ceftazidima CR + Ciprofloxacino	1 (4.3)
Tobramicina CR +Vancomicina CR + Ceftazidima CR	1 (4.3)
Moxifloxacino+ Tetraciclinas	1 (4.3)
PHMB+isotonato dibrompropaminide	1 (4.3)
Ciprofloxacino	1 (4.3)
Gentamicina	1 (4.3)
Oxitetraciclina	1 (4.3)
Cloranfenicol	1 (4.3)

CR: colirio reforzado

De los 23 pacientes tratados inicialmente con tratamiento empírico, 13 pacientes precisaron cambio del tratamiento: 5 casos tras estudio de sensibilidad mediante antibiograma, 2 casos tras cultivos positivos a hongos (los antimicóticos que se utilizaron fueron la Anfotericina B y Natamicina en colirio) y 6 casos por mala respuesta al tratamiento inicial.

4.8. EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

De los 23 pacientes con queratitis infecciosa y cultivo corneal positivo, 18 pacientes (78.3%) evolucionaron favorablemente con resolución del cuadro infeccioso con tratamiento antibiótico. De los 5 pacientes restantes con mala evolución, a 2 pacientes se les realizó queratoplastia penetrante (8.7%), en estas circunstancias los microorganismos implicado fue *S. epidermidis*; y a los otros 3 pacientes se les realizó evisceración (13%). Las infecciones corneales que precisaron evisceración fueron positivas para *C.albicans*, *Fusarium proliferatum* y *S. epidermidis*.

4.9. RESULTADOS DE LOS ANTIBIOGRAMAS

Se realizó antibiograma y antifungigrama en 19 de 23 muestras con cultivo corneal positivo (82.6%). En un mismo cultivo se aislaron 2 colonias diferentes de *S. epidermidis* y se realizó en ambos casos el antibiograma.

De un total de 3 microorganismos aislados en los líquidos conservantes de lentillas (33.3%) se realizó antibiograma en 2 de ellos (*S.epidermidis* y *Propionibacterium acnes*). Así como de 1 germen aislado en anillo corneal postquirúrgico (*S.oralis*) y otro aislado en exudado conjuntival (*C.albicans*).

4.9.1. Sensibilidad de las bacterias gram-negativas y gram-positivas

Analizando los antibiogramas de todas las bacterias tanto gram-positivas como gram-negativas (aislados en córnea, líquido conservador de lentillas e implante corneal) los antibióticos que presentaron mayor tasa de resistencias fueron amoxicilina/ampicilina y eritromicina. Por otro lado, gentamicina, trimetoprim-sulfametoxazol, cloxacilina y clindamicina fueron los antibióticos más sensibles.

Se estudiaron las bacterias gram-negativas y gram-positivas por separado. En el grupo de los gram-negativos, los 3 antibióticos más sensibles fueron trimetropin-sulfametoxazol, gentamicina y ciprofloxacino. A su vez amoxicilina/ampicilina, amoxicilina-clavulánico y cefuroxima fueron los más resistentes. En cuanto a las gram-positivas, gentamicina, trimetropin-sulfametoxazol, amoxicilin-clavulánico y clindamicina obtuvieron las mayores tasas de sensibilidad. Por otro lado, amoxicilina/ampicilina, eritromicina y clindamicina fueron las más resistentes (**Anexo V**).

4.9.2. Sensibilidad fúngica

No se observaron resistencias a los antimicóticos estudiados para *C. albicans*. Por otra parte, micafungina, caspofungina, 5-fluorcitosina, anfotericina B y voriconazol presentaron la misma tasa de sensibilidad en los dos tipos de muestras (corneal y conjuntival). El fluconazol presentó sensibilidad intermedia en la muestra conjuntival y corneal (**Anexo V**). No se realizó antibiograma en los cultivos donde se aisló hongo filamentoso.

4.9.3. Sensibilidad de *S. epidermidis*

Al analizar la resistencia y sensibilidad de la especie bacteriana más frecuente se observó que *S. epidermidis*, presentó niveles de resistencia altos para eritromicina y altos valores de sensibilidad a gentamicina y trimetropin-sulfametoxazol (**Anexo V**).

5. DISCUSIÓN

Este trabajo analiza los resultados microbiológicos en las infecciones corneales no víricas del Hospital Universitario de Donostia (HUD) en el año 2017. Al ser un estudio retrospectivo se desconoce si se tomaron muestras corneales en todos los posibles casos de queratitis infecciosas. Solamente en el 23.2% de las 99 muestras corneales obtenidas se aislaron microorganismos, no obstante muchos pacientes habían recibido tratamiento empírico previo antes de ser estudiados en el HUD, dificultando el crecimiento de gérmenes en los cultivos de las muestras. Según la literatura científica revisada se han observado diferencias en las proporciones respecto a la obtención de cultivos corneales positivos, siendo en algunos casos del 34% (18), 45.8% (19) y en otros del 65-70% (16).

Los gérmenes más frecuentes aislados en las muestras corneales de infecciones fueron las bacterias. El *Staphylococcus epidermidis* fue la bacteria más frecuentemente aislada, coincidiendo con los resultados observados en la literatura científica consultada (5). Tanto en los usuarios de lentes de contacto como en los no usuarios *S. epidermidis* fue el germen más frecuente. Sin embargo, en la literatura científica se observó que el microorganismo más frecuente en los usuarios de lentes de contacto fue *Pseudomona aeruginosa* aislándose en un 44.7% de los usuarios de lentes de contacto. En nuestra revisión no se aisló este germen en ningún paciente con queratitis infecciosa con cultivo corneal positivo.

Inicialmente se aisló *S. epidermidis* en 13 cultivos. Sin embargo, 7 cultivos fueron positivos en cultivos de enriquecidos, teniendo un dudoso valor clínico. Debido a esta situación solamente consideramos cultivos positivos los que crecieron en los medios con inoculación directa de las muestras. Esta circunstancia se debe a que esta bacteria es comensal, resultando difícil diferenciar cuando se trata del agente causal de la infección y cuando de la flora normal. Muestra de esto fue lo observado en el cultivo corneal de un paciente, donde se aislaron dos colonias de *S. epidermidis* con diferentes sensibilidades en el antibiograma, siendo una de las colonias comensal y la otra patógena.

Los hongos más frecuentemente aislados fueron los hongos filamentosos (8.7% de los 23 cultivos corneales positivos), concretamente *Fusarium proliferatum* y otro

hongo filamentoso sin filiar y en segundo lugar *Candida albicans* (4.4 % de los 23 cultivos corneales positivos). Además, analizando los factores de riesgo que presentaban los pacientes con queratitis fúngica se observó que *C. albicans* estuvo relacionado con antecedentes de inmunosupresión local y los hongos filamentosos con el uso de lentes de contacto, coincidiendo con la literatura científica consultada (9).

En dos ocasiones por mala respuesta al tratamiento y cultivos corneales inicialmente negativos repetidos se realizó toma de muestra del exudado conjuntival. En ambos casos se aislaron los microorganismos que resultaron positivos con posterioridad en otros cultivos corneales. Por tanto, podría ser de ayuda además de la toma de la muestra corneal, tomar muestras de diferentes zonas oculares simultáneamente para aumentar la sensibilidad de los cultivos microbiológicos y facilitar así la decisión terapéutica. En los usuarios de lentes de contacto, también ha demostrado utilidad el estudio del líquido conservador de lentillas, ya que se observó que en dos casos se aislaron los mismos microorganismos en los cultivos de las muestras del líquido conservador y de las muestras corneales.

El factor de riesgo más frecuente asociado a infección corneal en nuestro estudio fue presentar patología de la superficie corneal. El segundo factor de riesgo más frecuente fue ser usuario de lentes de contacto, aunque en otras revisiones científicas fue el factor de riesgo más frecuente en un 33-65% (20). En la presente revisión se han incluido diferentes alteraciones dentro de la patología de la superficie ocular que han podido aumentar el porcentaje de resultados asociados a este factor de riesgo. Según los estudios científicos los usuarios de lentes de contacto suelen tener habitualmente infección por bacterias gram-negativas, no obstante en nuestro estudio, las bacterias asociadas más frecuentemente en estos pacientes fueron las bacterias gram-positivas. Este hallazgo es interesante ya que habitualmente los protocolos empíricos difieren entre usuarios de lentes de contacto y no usuarios de lentes de contacto.

Los resultados de los cultivos de líquidos de conservación de lentillas fueron más coincidentes con los resultados de las muestras corneales que los cultivos de las lentes de contacto. Las lentes de contacto presentaron crecimiento de gérmenes

polimicrobianos en un 42.8%, no congruentes con los cultivos corneales. Según la literatura científica las lentes de contacto están contaminadas en un 50% (21). Los gérmenes aislados eran de la flora saprofita. El hallazgo de gérmenes no habituales como los hongos o *Acanthamoeba*, podrían ayudar en el diagnóstico etiológico de las queratitis infecciosas.

En nuestra serie, la mayoría de pacientes evolucionaron favorablemente con tratamiento antibiótico, concretamente 18 pacientes de los 23 pacientes con queratitis infecciosa y cultivo corneal positivo (78.3%). En los casos de mala evolución que requirieron queratoplastia penetrante y/o evisceración, los microorganismos más frecuentes implicados fueron los hongos, *C.albicans* y *Fusarium proliferatum*, y en menor frecuencia las bacterias, *S. epidermidis*. En definitiva, los hongos fueron poco frecuentes en nuestro entorno pero tuvieron peor evolución que las bacterias.

En el análisis de los antibiogramas el antibiótico con mayor tasa de sensibilidad fue gentamicina teniendo en cuenta las bacterias gram-positivas y gram-negativas. Por otra parte, se observaron varias circunstancias en dicho análisis, por un lado la mayoría de los antibióticos estudiados no eran los aplicados en la práctica clínica ya que o bien no existen estos antibióticos en forma de colirios, o no estaban incluidos como tratamiento empírico en los protocolos en el Servicio de Oftalmología. Se evidenció que los antibióticos estudiados en los antibiogramas fueron diferentes en cada cultivo microbiológico y que no se realizó antibiograma en todos los microorganismos aislados. Sería interesante por tanto crear unos criterios unificados por el Servicio de Oftalmología y Servicio de Microbiología en los antibióticos y antifúngicos utilizados en los diferentes antibiogramas y antifungigramas para mejorar la efectividad y sensibilidad en los tratamientos protocolizados.

6. CONCLUSIONES

1. El germen más frecuente aislado en los cultivos corneales de pacientes con infección corneal fue *Staphylococcus epidermidis*
2. El 23.2% de las 99 muestras corneales, el 42.8% de 14 muestras de lentes de contacto, y el 22.2% de 9 muestras de líquido de conservación de lentes de contacto tuvieron cultivo positivo.
3. En un 13% de los cultivos corneales se aislaron hongos, en la misma frecuencia: *Candida albicans*, un hongo filamentoso sin filiar y *Fusarium proliferatum*.
4. El 60.9% de los 23 pacientes con cultivo corneal positivo tenían factores de riesgo para desarrollar infección corneal. El factor de riesgo más frecuente fue tener antecedentes de patología de la superficie corneal, seguido de ser usuario de lentes de contacto y cirugía ocular previa.
5. El 78.3% de los pacientes evolucionaron favorablemente con tratamiento antibiótico empírico en colirios.
6. Las infecciones corneales por hongos evolucionaron peor y precisaron tratamientos más invasivos (queratoplastia y evisceración).
7. Los antibióticos más sensibles a los gérmenes corneales fueron gentamicina y trimetropin-sulfametoxazol.
8. Revisión de modificar y actualizar los protocolos empíricos de antibióticos aplicados en pacientes usuarios de lentes de contacto.
9. Es necesario unificar criterios microbiológicos y oftalmológicos para incluir en los antibiogramas los antibióticos en colirios empíricos utilizados en Oftalmología.

7. BIBLIOGRAFÍA

- (1) López-Cerero L., Etxebarria J. y Mensa J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones oculares. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2009[Citado 22 Oct 2018]; 27(9): 493-557. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28>
- (2) Weiner G. *Confronting Corneal Ulcers*. *Eyenet* [Internet]. 2012 [Citado 22 Oct 2018]: 46-52. Disponible en: <https://www.aao.org/eyenet/article/confronting-corneal-ulcers>
- (3) Carmona-Hernández J., Ruiz-Quintero N. Queratitis secundaria a *Mycobacterium chelonae* posterior a queratoplastía penetrante. Reporte de un caso y revisión de la literatura. *Rev Mex Oftalmol* [Internet]. 2013[Citado 10 Dic 2018]; 87(3):137-189. Disponible en: <http://www.elsevier.es/en-revista-revista-mexicana-oftalmologia-321-articulo-queratitis-secundaria-mycobacterium-chelonae-posterior-X0187451913266227>
- (4) Gerhard K. Lang. *Oftalmología texto y atlas en color*. 2ª ed. Barcelona: Masson; 2006.
- (5) Mediero S., Boto de los Bueis A., Spiess K., Díaz-Almirón M., del Hierro Zarzuelo A., Villalaín Rodes I., et al. *Clinical and microbiological profile of infectious keratitis in area of Madrid, Spain*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2018 [Citado 22 Oct 2018]; 36(7): 409-416. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-clinical-microbiological-profile-infectious-keratitis-S0213005X17302215>
- (6) Kanski J.J. y Bowling B. *Oftalmología clínica*. 7ª ed. Barcelona: Elsevier; 2012.
- (7) J. Galperín G., Boscaro G., Tau J., Berra M. Queratopatía cristalina: diagnóstico clínico y microbiológico de una infección corneal infrecuente causada por el grupo *Streptococcus mitis*. *Rev. argent. microbiol* [Internet]. 2011[Citado 10 Dic 2018];43(3). Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032575412011000300008

- (8) Raees Chowdhury H., Comyn O., Jones G., Nanavaty A. *Mycobacterium chelonae in a tectonic corneal graft*. Oman J Ophthalmol [Internet]. 2016 [Consultado 10 Dic 2018];9(3): 177-178. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5084504/>
- (9) Álvarez De Toledo Elizalde J. y De la Paz Dalisay M. Queratitis fúngica. Superf Ocul córnea [Internet]. 2014 [Citado 25 Oct 2018]; (14): 5-13. Disponible en: http://www.lasuperficieocular.com//var/revista/revista-pdf-17-Lubristil_14_superficie%20ocular.pdf
- (10) Pérez-Pomata T., Pérez-Álvarez M^aJ., Rodríguez-Zurita M^aE., Moreno-López M^a. Queratitis en portador de lentes de contacto. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2006[Citado 29 Oct 2018];24(4):219-293. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-queratitis-portador-lentes-contacto-13087301>
- (11) Robert C. Arffa. *Grayson. Enfermedades de la córnea*. 4^a ed. Madrid: Harcourt Brace; 1999.
- (12) Pérez-Irezábal J., Martínez I., Isasa P., Barrón J. Queratitis por *Acanthamoeba*. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2006[Citado 10 Dic 2018];24(S1):1-57. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-queratitis-por-acanthamoeba-13094278>
- (13) Dos Santos Gomes T., Magnet A., Izquierdo F., Vaccaro L., Redondo F., Bueno S., et al. *Acanthamoeba spp. in Contact Lenses from Healthy Individuals from Madrid, Spain*. PLOS one [Internet]. 2016 [Citado 29 Oct 2018]; 11(4):1-12. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4841564/pdf/pone.0154246.pdf>
- (14) Pérez-Santoja J.J. Actualización en el diagnóstico y tratamiento de las queratitis por *Acanthamoeba*. Superf Ocul Córnea [Internet]. 2010 [Citado 26 Dic 2018];(6):5-
- (16) Disponible en: https://www.angelini.es/superficie-ocular-y-cornea-pdf/Superficie_ocular_y_cornea_6.pdf
- (15) Martín Nalda S. y Larrosa Escartín N. Queratitis infecciosa protocolo diagnóstico terapéutico [PowerPoint Internet]. Barcelona, Hospital Universitario de

Vall d'Hebron; 2011 [Citado 25 Oct 2018]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/ofthalmovh/queratitis-infecciosas-protocolo-diagnostico-terapeutico>

(16) Pérez-Santoja J.J., Hervás Hernandis J.M., Celis Sánchez J. Actualización en infecciones de la córnea, métodos de Diagnóstico y Tratamiento. Sociedad Española de Cirugía Ocular Implanto-Refractiva; 2018.

(17) Gavil V., Parra M.M., Tello A., Castellanos Y.A., Camacho P.A., Villarreal D., et al. Perfil de resistencia antibiótica en infecciones oculares en un centro de referencia en Floriblanca, Colombia. Arch Soc Esp Oftalmol. 2019;94(1):4-11.

(18) Das S., Sheorey H., Taylor H., Vajpayee R. Arch Ophthalmol [Internet] 2019 [Consultado el 25 de Marzo]; 125(9):1182-1185. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jamaophthalmology/fullarticle/419785>

(19) Hernández J., Bautista de Lucio V., Chirinos-Saldaña P., Navas A., Ramírez A., Climent A., et al. Queratitis infecciosas: tendencias microbiológicas y sensibilidad a antibióticos. Segundo reporte anual del grupo de estudio de microbiología ocular del Instituto de Oftalmología "Conde de Valencia". Rev. Mex. Oftalmol. [Internet] 2019 [Consultado el 25 de Marzo]; 87(2):71-136. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-mexicana-oftalmologia-321-articulo-queratitis-infecciosas-tendencias-microbiologicas-sensibilidad-X0187451913026244>

(20) Manuel A Gorrochotegui R., Maria C Rojas V., Horacio Serrano , Myriam C., Gorrochotegui R. Lentes de contacto: Historia, Tipos y Complicaciones de su uso. INFORMED [Internet] 2009 [Consultado el 7 de Abril]; 11(2):79-101. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/images/pdf/intranet/Dir%20operaciones/ARTÍCULO%20DE%20LENTES%20DE%20CONTACTO,%20HISTORIA,%20TIPOS,%20Y%20COMPLICACIONES%20DE%20USO.pdf>

(21) Wu Yt., Willcox M., Zhu H., Stapleton F. *Contact lens hygiene compliance and lens case contamination: A review*. Cont lens Anterior eye [Internet] 2015 [Consultado 11 de Abril]; 38(5):307-16. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25980811>

Anexo II. Resultados microbiológicos de muestras corneales.

Tabla 1. Microorganismos aislados en muestras corneales de pacientes con queratitis infecciosa no vírica.

Microorganismo aislado en muestra corneal	Nº (%)
Coco gram-positivo	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6 (26.1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (8.7)
<i>Staphylococcus hominis</i>	1 (4.4)
<i>Streptococcus oralis</i>	1 (4.4)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 (4.4)
Cocobacilo gram-negativo	
<i>Moraxella lacunata</i>	2 (8.7)
Bacilo gram-positivo	
<i>Corynebacterium macginleyi</i>	1 (4.4)
Bacilo gram-negativo	
<i>Serratia marcescens</i>	2 (8.7)
Hongos	
<i>Candida albicans</i>	1 (4.4)
Hongo filamentoso sin filiar	1 (4.4)
<i>Fusarium proliferatum</i>	1 (4.4)

Tabla 2. Infecciones polibacterianas aisladas en muestras corneales de pacientes con queratitis infecciosa no vírica.

Infecciones polibacterianas	Nº (%)
<i>Corynebacterium</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Streptococo oralis</i>	1 (4.4)
<i>Moraxella lacunata</i> + <i>Staphylococcus hominis</i>	1 (4.4)

Anexo III. Resultados microbiológicos de las muestras de lentes de contacto

Tabla 1. Microorganismos aislados en los cultivos de lentes de contacto de pacientes con queratitis infecciosa no vírica.

Microorganismo en muestra de lente de contacto	Nº(%)
Hongos	
<i>Cándida</i>	2 (22.2)
<i>Candida albicans</i>	1 (11.1)
<i>Candida parapsilosis</i>	1 (11.1)
<i>Fusarium</i>	2 (22.2)
<i>Fusarium solani</i>	1 (11.1)
<i>Fusarium oxysparum</i>	1 (11.1)
<i>Yarrowia lipolytica</i>	1 (11.1)
Hongo filamentoso sin filiar	1 (11.1)
Bacterias	
<i>S. epidermidis</i>	1 (11.1)
Bacilo gram negativo sin filiar	1 (11.1)
Amebas	
<i>Acanthamoeba</i>	1 (11.1)
Microorganismos aislados en total	9 (100)

Tabla 2. Asociaciones polimicrobianas aisladas en los cultivos de lentes de contacto de pacientes con queratitis infecciosa no vírica.

Asociaciones polimicrobianas	Nº
Bacilo gram-negativo y hongo filamentoso	1
Crecimiento bacteriano mixto sin filiar, <i>Candida parapsilosis</i> y <i>Yarrowia lipolytica</i>	1
<i>Candida albicans</i> y <i>Fusarium oxysparum</i>	1

Anexo IV. Resultados microbiológicos de las muestras de líquido de conservación de lentes de contacto.**Tabla 1. Microorganismos aislados en muestras de líquido conservador de lentes de contacto de pacientes con queratitis infecciosa.**

Microorganismos aislados	Muestras
<i>S. epidermidis</i> y <i>Propionibacterium acnes</i>	1
Hongo filamentoso sin filiar	1

Anexo V. Resultados de los antibiogramas

Tabla 7. Perfil de sensibilidad de bacterias gram-negativas.

	Amoxicilina/ ampicilina	Amoxicilin clavulánico	Gentamicina	Trimetoptin- sulfametoxazol	Ciprofloxacino	Cefotaxima/ Ceftriaxona	Cefazolina	Cefuroxima- axetil	Ác.nalidíxico	Tobramicina	Piperacilina
Sensibilidad											
Sensible	2(66.7%)	2(66.7%)	3 (100%)	3 (100%)	3(100%)	2(100%)	1(100%)		2(100%)	1(100%)	1(100%)
Intermedio								1(50%)			
Resistente	1(33.3%)	1(33.3%)						1(50%)			
Total	3	3	3	3	3	2	1	2	2	1	1

Número y porcentaje de cultivos positivos para bacterias gram-negativas, dentro de cada grupo indicado, sensibilidad a cada antibiótico

Tabla 8. Perfil de sensibilidad de bacterias gram-positivas.

	Amoxicilina/ ampicilina	Amoxiciclin -clavulánico	Cloxacilina	Penicilina G	Cefazolina	Mupirocina	Piperacilina- tazobactam	Gentamicina	Eritromicina	Tetraciclina
Sensibilidad										
Sensible	6(30%)	14(82.4%)	13(81.3%)	4(50%)	3(100%)		1(100%)	16(100%)	6(30%)	7(87.5%)
Intermedio									1(5%)	
Resistente	14(70%)	3(17.6%)	3(18.8)	4(50%)		1(100%)			13(65%)	1(12.5)
Total	20	17	16	8	3	1	1	16	20	8
	Clindamicina	Trimetrop- sulfametoza zol	Vancomicina	Rifampicina	Levofloxa cino	Ciprofloxacino	Ác.fusídico	Linezolid	Linezolid	
Sensibilidad										
Sensible	14(66.7%)	16(100%)	9(90%)	2(100%)	5(62.5%)	2(66.7%)	1(100%)	2(100%)	2(100%)	
Intermedio	1(4.8%)		1(10%)							
Resistente	6(28.6%)				3(37.5%)	1(33.3%)				
Total	21	16	10	2	8	3	1	2	2	

Número y porcentaje de cultivos positivos para bacterias gram-positivas, dentro de cada grupo indicado, sensibilidad a cada antibiótico y el total de cultivos positivos que fue empleado en cada caso.

Tabla 9. Perfil de sensibilidad fúngica para cada antimicótico

	Amoxicilina/ ampicilina	Amoxiciclin- clavulánico	Cloxacilina	Penicilina G	Cefazolina	Mupirocina
Sensibilidad						
Sensible		10(76.9%)	10(76.9%)		2(100%)	
Intermedio						
Resistente	12(100%)	3(23.1%)	3(23.1%)	3(100%)		1(100%)
Total	12	13	13	3	2	1
	Micafungina	Caspofungina	Fluconazol	5-fluorcitosina	Anfotericina B	Voriconazol
Sensibilidad						
Sensible	2 (100%)	2 (100%)	1(50%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)
Intermedio			1(50%)			
Resistente						
Total	2	2	2	2	2	2

Número y porcentaje de cultivos positivos para hongos, dentro de cada grupo indicado, sensibles, sensibilidad intermedia o resistentes a cada antimicótico y el total de cultivos positivos que fue empleado en cada caso.

Tabla 10. Perfil de sensibilidad de la bacteria más frecuente aislada en los cultivos, *S.epidermidis*.

	Gentamicina	Eritromicina	Tetraciclinas	Clindamicina	Trimetrop-sulfametoxazol
Sensibilidad					
Sensible	13(100%)	2(15.4%)	3(100%)	9(69.2%)	13(100%)
Intermedio		1(7.7%)		1(7.7%)	
Resistente		10(76.9%)		3(23.1%)	
Total	13	13	3	13	13
	Levofloxacino	Ciprofloxacino	Ác.fusídico	Linezolid	Vancomicina
Sensibilidad					
Sensible	4(57.1%)	1(50%)	1(100%)	2(100%)	7(87.5%)
Intermedio					1(12.5%)
Resistente	3(42.9%)	1(50%)			
Total	7	2	1	2	8

Número y porcentaje de cultivos positivos para *S.epidermidis*, dentro de cada grupo indicado, sensibles, sensibilidad intermedia o resistentes a cada antibiótico y el total de cultivos positivos que fue empleado en cada caso.