

Endoftalmitis. En busca del eslabón perdido

PELLEGRINO F

Es realmente un inmenso honor poder participar en «Archivos de la Sociedad Canaria de Oftalmología» mi fiel compañera de tantas noches de insomnio preparando ponencias.

Cuando «los papers en ingles se abarrotan» ahí están los archivos canarios aportando un soplo de aire fresco esclarecedor, sin tantas pompas ni flores, pero directo y contundente con el inmenso valor agregado de leerla en castellano. Parafraseando a Roberto Gallego-Pinazo «Amigos, en las próximas líneas no esperen encontrar grandes gráficas con complejos cálculos físicos, sino disponer de estas páginas para ordenar algunas ideas y pensamientos ajenos seleccionados grandes investigadores algunos casi desconocidos».

Gracias a mis queridísimos compañeros canarios.

Comenzaremos citando algunos conceptos tomados de una conferencia magistral dictada por la Dra. Carmen Isabel Álvarez Lorenzo (Profesora Titular de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela) en el marco del 2.º Congreso de la Sociedad Gallega de Heridas en mayo de 2015. Allí Carmen nos habla de *biofilm*, *bacterias sésiles*, *plantónicas*, *quorum sensing* y demás aspectos interesantísimos en relación al comportamiento microbiano. En la profilaxis e incluso en el tratamiento de las endoftalmitis sabemos muchas cosas, pero podríamos saber muchas más y estamos muy lejos de donde creemos estar.

Hace más de trescientos años que el holandés Anton Van Leeuwenhoek (1632-1723) se asomó por vez primera a un mundo nuevo y misterioso poblado por millares de diferentes especies diminutas, fue el inicio de la era microscópica. Robert Koch (1843-1910) continuó la revolución aislando y tipificando microorganismos aislados, refiriéndonos cuando decimos aislados a plantónicos y ponemos énfasis en el este término «plantónicos o aislados» ya que esa no es la forma en la que los microorganismos viven en la naturaleza, al igual que los humanos podemos estudiarlos en forma aislada pero no es así como en general viven.

La inmensa mayoría de los gérmenes entre ellos los que producen las endoftalmitis «no están solos» sino en comunidades y los denominamos «sésiles», estas comunidades se hallan protegidas y estructuradas por biopelículas, verdaderos magmas polisacáridos de defensa.

No fue sino hasta mediados de los setenta que se comenzó a utilizar el término «biofilm/biopelículas». Desconocer el biofilm es en síntesis desconocer al enemigo involucrado en las endoftalmitis. Estas comunidades envueltas en biopelículas poseen un comportamiento de resistencia y ataque muchísimo más sofisticado y eficiente que las formas aisladas o plantónicas inmensamente estudiadas a lo largo de los últimos tres siglos.

En febrero de 2019 en el marco del congreso de Facoeche asistimos a un extenso debate en el cual hemos visto que, a pesar de los muchos estudios realizados hasta la fecha, que difícil es conciliar la mejor forma de prevenir las endoftalmitis (1).

Mas allá de la enfática recomendación de la ESCRS, para que se utilice cefuroxima intracameraral al final de la cirugía como profilaxis antibiótica, medida ampliamente difundida en algunos países europeos y casi ignorada en América, tomaremos como disparador de esta editorial

las casi 500 endoftalmitis reportadas en Francia bajo el paraguas profiláctico de cefuroxima intracamerar (2-3). Podríamos tomar otras tantas endoftalmitis reportadas aún bajo la cobertura con moxifloxacino intracamerar, sin embargo, no es el objetivo de esta editorial discutir acerca de la eficacia de estas medidas, sino plantear que tal vez el conocimiento más profundo de factores en parte marginales como el biofilm puedan aportar una pista en la ruta quimérica de endoftalmitis cero (4).

La definición más ortodoxa de biofilm habla de comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o a tejidos vivos. En palabras más simples los gérmenes productores de biofilm generan una malla de protección, un verdadero escudo, una campana o envoltorio constituido por exopolisacáridos, lipopolisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos que actúan como barrera física al prevenir la entrada de antibióticos y mantener a las bacterias alejadas de las defensas del huésped (5).

Si bien Whitchurch en 2002 ya había identificado ácidos nucleicos, específicamente ADN, en el «matrix o biofilm», hoy sabemos que su presencia, robustece el matrix, favorece la adherencia bacteriana y aumentan su resistencia antibiótica por mecanismos directos (escudo eléctrico secundario al secuestro de cationes divalentes), e indirectos al desencadenar la expresión de genes de resistencia a los antibióticos (6-7).

Enemigos más peligrosos de lo que creíamos

De lo expuesto se desprende que las bacterias existen bajo dos formas o estados: a) bacterias planctónicas, de libre flotación, y b) bacterias protegidas por biofilm, agrupadas en colonias que se denominan sésiles. Probablemente, casi todos nuestros conocimientos sobre el universo bacteriano recaen sobre los gérmenes planctónicos, y este enfoque reduccionista limita nuestra comprensión de los fenómenos involucrados en la aparición de las endoftalmitis (8-13).

Las bacterias formadoras de biofilm son diferentes a las planctónicas y, sin embargo, la terapia de la mayoría de las infecciones humanas continúa aún basada en el estudio de las bacterias planctónicas.

Es importante reparar en las cepas productoras de biofilm ya que se ha demostrado la capacidad de supervivencia de las mismas para persistir en concentraciones de antibióticos y biocidas entre 100 y 1.000 veces superiores a las que inhiben a las bacterias planctónicas (14-15).

Probables respuestas a preguntas incómodas

Hace casi 20 años un poster presentado en ARVO en 2002 «Genotypic Markers of Staphylococcus epidermidis Virulence Among Strains Isolated From Postoperative Endophthalmitis» por S Rossetti y L D'Alessandro, abría un camino insospechado sugiriendo que la mayoría de las endoftalmitis postquirúrgicas no eran producidas por las bacterias planctónicas que tan profundamente estudia el mundo desde hace más de 50 años, sino por las bacterias sésiles o dicho de otra manera por las bacterias productoras de «matrix-biofilm», una subpoblación pero con comportamiento y resistencias muy diferentes a los «habituales».

Tal vez comenzaba a caer uno de los tantos misterios relacionados con la etiopatogenia de las endoftalmitis, pues cada vez resulta más pesada la duda en relación al «Staphylococcus epidermidis». ¿Como es posible que un germen tan «benigno» fuese el máximo productor de endoftalmitis aquí y en todas partes del mundo? (16-17). La subpoblación de S. epidermidis denominada «Operon Ica A e Ica D positivos» forman biofilm, y pese a que fenotípicamente pueden impresionar de benignos, esta propiedad relacionada con los 2 operones descriptos lo transforma en un lobo con piel de cordero. Mientras el mundo oftalmológico sigue diseñando esquemas profilácticos antibióticos cada vez más potentes aplicándolos por vías cada más invasivas, los gérmenes productores envueltos y protegidos en lo más profundo del matrix jamás se enterarán de nuestros esfuerzos (18-19).

Al momento de operar de catarata a un paciente y si el mismo es portador en su flora ocular al «Staphylococcus productor de biofilm también llamado Operon Ica A e Ica D positivos», podría darse la situación que nuestra profilaxis sea ineficaz, pues su escudo les otorga resistencias inusitadas a los antibióticos. Más claro si tiene escudo «no lo tocamos» con nuestra profilaxis habitual, el germen ingresa al ojo se pega a la LIO y provoca la tan temible endoftalmitis (4).

¿Hay estudios en este sentido?

Si, son esos trabajos difíciles de encontrar, pero de la misma dupla autoral (D'Alessandro-Rossetti) que desde hace más de 20 años estudia profundamente el tema podemos encontrar muy oculto en la deep web este trabajo premiado del 2004, surgido de la Fundación Oftalmológica Argentina Jorge Malbrán. En el mismo se analizaron cepas de *S. epidermidis* tomadas de endoftalmitis postquirúrgicas, a las que se le revisaron los patrones genéticos para intentar contestar la pregunta madre de todas las batallas, ¿Cuáles son realmente los *S. epidermidis* productores de endoftalmitis post quirúrgicos agudas? Los resultados no deben haber sido sorprendentes para Rossetti y D'Alessandro, pero si para el resto de la comunidad oftalmológica, pues resulta que los *S. epidermidis* productores de endoftalmitis fueron en más del 75% productores de biofilm, es decir operón Ica A y D positivos (13).

¿Hasta acá los antecedentes históricos, como transformar estos datos en conductas que tengan algún tipo de relevancia practica?

Hoy sabemos que la producción de biofilm no solo compete a prácticamente todo el universo bacteriano, sino también a las formas fúngicas. Diversos estudios ya han demostrado su presencia en la superficie ocular sana e infectada en distintas partes del mundo (26-31), y más recientemente ocultos en las profundidades de las incisiones corneales durante el periodo de cicatrización (32); para aquellos familiarizados con las endoftalmitis esta podría ser una explicación a los tiempos de aparición más tardíos que observamos en los últimos años (33-34), y que se extienden más allá de los 3 a 7 días del promedio histórico, descritos en la literatura (35-36).

Uno de los primeros reportes relacionados con terapia antibiofilm en profilaxis antimicrobiana y endoftalmitis data del año 1996 y se relaciona con su agente etiológico más frecuente el *S. epidermidis*. Considerando que el ácido salicílico y otros antiinflamatorios no esteroideos reducen la producción de biofilm se demostró que el agregado de ácido salicílico 0,1% tópico mejora la actividad antimicrobiana de los antibióticos tópicos en el tratamiento profiláctico prequirúrgico ocular. Además, se pudo comprobar que el ácido salicílico disminuye la adherencia del *S. epidermidis* a la LIO (20). Si bien han sido descritas más 30 sustancias con acción antibiofilm, muchas de ellas en evaluación por la FDA, pocas tienen uso rutinario en oftalmología.

Sin embargo, dos sustancias si se utilizan en forma habitual en la práctica oftalmológica y han demostrado al menos in vitro acción antibiofilm: nos referimos al cloruro de benzalkonio y al Ketorolaco. Resta dilucidar algunas preguntas en cuanto a la mejor formulación y posología más adecuada para favorecer el tiempo de contacto de estas sustancias y el matrix protector de bacterias (22-25). A modo de resumen, debilitar el biofilm se traduce en menos bacterias en el campo quirúrgico y las que quedan tienen menos capacidad de adherirse a las prótesis. La terapéutica antibiofilm en oftalmología está en pleno desarrollo y apenas ha sido utilizada para inhibir la adherencia bacteriana a los lentes de contacto. La exploración de esta terapia probablemente constituya uno de los desafíos más significativos en la profilaxis e incluso en el tratamiento de las endoftalmitis en los próximos años (37).

BIBLIOGRAFÍA

1. Ferro Montiu J. Endoftalmitis Post Cirugía de Catarata: Prevención y Tratamiento. Arch Soc Esp Oftalmol vol. 78 no. 8 ago. 2003.
2. Creuzot-Garcher C, Benzenine E, Mariet AS, et al. Incidence of acute postoperative endophthalmitis after cataract surgery: a nationwide study in France from 2005 to 2014. Ophthalmology. 2016.
3. Daien V, Papinaud L, Gillies MC, et al. Effectiveness and safety of an intracameral injection of cefuroxime for the prevention of endophthalmitis after cataract surgery with or without perioperative capsular rupture. JAMA Ophthalmol. 2016.

4. HariPriya A, Chang DF, Ravindran RD. Endophthalmitis Reduction with Intracameral Moxifloxacin Prophylaxis: Analysis of 600 000 Surgeries. *Ophthalmology*. 2017.
5. Flemming HC, Wingender J. Review The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*. 2010.
6. Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, y col, Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science* 2002.
7. Okshevsky M, Meyer RL. The role of extracellular DNA in the establishment, maintenance and perpetuation of bacterial biofilms. *Crit Rev Microbiol*. 2015.
8. Pichi F, Nucci P, Baynes K, Carrai P, Srivastava SK, Lowder CY. Acute and chronic Staphylococcus epidermidis post-operative endophthalmitis: The importance of biofilm production. *Int Ophthalmol*. 2014.
9. Kıvanç SA, Kıvanç M, Bayramlar H. Microbiology of corneal wounds after cataract surgery: biofilm formation and antibiotic resistance patterns. *J Wound. Care*. 2016.
10. Ranjith K, Arunasri K, Reddy GS, Adicherla H, Sharma S, Shivaji S. Global gene expression in Escherichia coli, isolated from the diseased ocular surface of the human eye with a potential to form biofilm. *Gut Pathog*. 2017.
11. Mazoterias P, Quiles MG, Martins Bispo PJ, Höfling-Lima AL, Pignatari AC, Casaroli-Marano RP. Analysis of Intraocular Lens Biofilms and Fluids After Long-Term Uncomplicated Cataract Surgery. *Am J Ophthalmol*. 2016.
12. S Prasad, N Nayak, G Satpathy, TC Nag, P Venkatesh. Biofilm: the haven for Staphylococcus epidermidis in post-operative endophthalmitis *J Clin Exp Ophthalmol*, 2014.
13. Rossetti S, D'Alessandro L. Genotypic Markers of Staphylococcus epidermidis Virulence Among Strains Isolated From Postoperative Endophthalmitis. *ARVO Annual Meeting Abstracts. Investigative Ophthalmology & Visual Science* December 2002.
14. El-Azizi, M., Rao, S., Kanchanapoom, T. y Khardori, N. In vitro activity of vancomycin, quinupristin/dalfopristin, and linezolid against intact and disrupted biofilms of staphylococci. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2005.
15. Anderson, G.G. y O'Toole, G.A. Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms. *Curr Top Microbiol Immunology* 2008.
16. Moloney TP, Park J. Microbiological isolates and antibiotic sensitivities in culture-proven endophthalmitis: a 15-year review. *Br J Ophthalmol*. 2014.
17. Liu C, Ji J, Li S, et al. Microbiological isolates and antibiotic susceptibilities: a 10-year review of culture-proven endophthalmitis cases. *Curr Eye Res*. 2017.
18. Choi JA, Chung SK. Safety of intracameral injection of gatifloxacin, levofloxacin on corneal endothelial structure and viability. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2009.
19. Evans RC, Holmes CJ. Effect of vancomycin hydrochloride on Staphylococcus epidermidis biofilm associated with silicone elastomer. *Antimicrob Agents Chemother* 1987.
20. D'Alessandro LP, Rossetti SB. Terapia antibiofilm en la profilaxis antimicrobiana prequirúrgica. *Arch Oftal de Bs As* 1997.
21. Rossetti SB, D'Alessandro LP. Antibiotic resistance of Staphylococcus spp according to the source of ocular samples. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997.
22. Kodjikian L, Burillon C, Lina G, y col. Biofilm formation on intraocular lenses by a clinical strain encoding the ica locus: a scanning electron microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003.
23. Pinna A, Sechi LA, Zanetti S, et al. Adherence of ocular isolates of Staphylococcus epidermidis to Acrisof intraocular lenses. *Ophthalmology* 2000.
24. Rossetti SB, D'Alessandro L, The effect of ketorolac on biofilm of Staphylococcus epidermidis isolated from post-cataract endophthalmitis *J Ophthalmic Inflamm Infect*. 2012.
25. Houari A, Di MP. Effect of chlorhexidine and benzalkonium chloride on bacterial biofilm formation. *Lett Appl Microbiol*. 2007.
26. Duggirala A, Kenchappa P, Sharma S y col. High-resolution genome profiling differentiated Staphylococcus epidermidis isolated from patients with ocular infections and normal individuals. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007.
27. Wenbo Hou W, Sun X, Wang Z. Biofilm-forming capacity of staphylococcus epidermidis, staphylococcus aureus, and pseudomonas aeruginosa from ocular infections. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012.
28. Wiley L, Bridge DR, Wiley LA. Bacterial biofilm diversity in contact-lens related disease: Emerging roles of Achromobacter, Stenotrophomonas, and Delpha. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012.
29. Juárez-Verdayes MA, Ramón-Peréz ML, Flores-Páez LA, y col. Staphylococcus epidermidis with the icaA-/icaD-/IS256- genotype and protein or protein/extracellular-DNA biofilm is frequent in ocular infections. *J Med Microbiol*. 2013.
30. Suzuki T, Kawamura Y, Uno T, y col. Prevalence of Staphylococcus epidermidis strains with biofilm-forming ability in isolates from conjunctiva and facial skin. *Am J Ophthalmol*. 2005.

31. Makki AR, Sharma S, Duggirala A, y col. Phenotypic and genotypic characterization of coagulase negative staphylococci (CoNS) other than *Staphylococcus epidermidis* isolated from ocular infections. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011.
32. Kıvanç SA, Kıvanç M, Bayramlar H. Microbiology of corneal wounds after cataract surgery: biofilm formation and antibiotic resistance patterns. *J Wound Care*. 2016.
33. Pellegrino FA. Report by Cornut et al. *Retina*. 2013.
34. Matsuura K, Miyoshi T, Suto C, Akura J, Inoue Y. Efficacy and safety of prophylactic intracameral moxifloxacin injection in Japan. *J Cataract Refract Surg*. 2013.
35. Lalwani GA, Flynn HW Jr, Scott IU, y col. Acute-onset endophthalmitis after clear corneal cataract surgery (1996-2005). Clinical features, causative organisms, and visual acuity outcomes. *Ophthalmology*. 2008.
36. Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group. *Arch Ophthalmol*. 1995.
37. D'Alessandro LP, Rossetti SB. Terapia antibiofilm en la profilaxis antimicrobiana prequirúrgica. *Arch Oftal de Bs As* 1997.