

Nota Científica

El ecosistema microbiano conjuntival: Condiciones ambientales del trópico y tolerancia de las lentes de contacto

The conjunctival microbial ecosystem: Tropical environmental conditions and contact lens tolerance

<https://doi.org/10.52808/bmsa.7e6.623.027>

Lina Neri Espinosa Pire ^{1,*}

<https://orcid.org/0000-0001-6498-473X>

María Isabel Fong Betancourt ¹

<https://orcid.org/0000-0001-7087-5679>

Lenín Carlos Gabriel Flores ¹

<https://orcid.org/0000-0003-1481-4833>

María de los Ángeles Galarza Pazmiño ¹

<https://orcid.org/0000-0003-4001-3458>

Recibido: 07/02/2022

Aprobado: 26/03/2022

RESUMEN

Los defectos refractivos son considerados la segunda causa de discapacidad visual a nivel mundial. Los trastornos de la visión como la miopía se pueden corregir mediante cirugía refractiva, anteojos o lentes de contacto. Se plantea que los cambios en el microbioma ocular provocados por el uso de lentes de contacto están relacionados con el desarrollo de complicaciones e infecciones. La microbiota ocular puede variar según las condiciones estacionales, la temperatura, la edad, sexo y la exposición ambiental. Se expone el presente estudio para evaluar si la microbiota de los usuarios de lentes de contacto difería de la de quienes no los usaban, según diversos factores. Se realizó un estudio descriptivo, no experimental, transversal, en Ambato, Ecuador. La población de estudio estuvo conformada por participantes con edades entre 18 y 59 años. Se cuantificó la diversidad bacteriana por medio de la amplificación del genoma completo, del cual se secuenció la región V3 del gen 16S rRNA de 40 muestras en la plataforma secuenciadora. Se descubrió que el microbioma conjuntival de los usuarios de lentes de contacto no era significativamente diferente del de los NULC y no detectó un aumento significativo de microorganismos patógenos. Los principales taxones bacterianos fueron similares entre los grupos, aunque la abundancia de cada taxón varió dentro de cada grupo. Este tipo de estudios es fundamental para el éxito de la terapia ocular y el manejo de los microorganismos diana de la terapia antimicrobiana.

Palabras clave: microbioma, ecosistema, ocular, conjuntival, infección.

ABSTRACT

Refractive errors are considered the second cause of visual impairment worldwide. Vision disorders such as nearsightedness can be corrected by refractive surgery, glasses, or contact lenses. It is proposed that the changes in the ocular microbiome caused by the use of contact lenses are related to the development of complications and infections. The ocular microbiota can vary according to seasonal conditions, temperature, age, gender and environmental exposure. The present study is set out to assess whether the microbiota of contact lens wearers differed from that of non-wearers, based on various factors. A descriptive, non-experimental, cross-sectional study was carried out from November 2021 to March 2022 in Ambato, Ecuador. The study population consisted of participants aged between 18 and 59 years. Bacterial diversity was quantified by amplification of the complete genome, from which the V3 region of the 16S rRNA gene of 40 samples was sequenced on the sequencing platform. The conjunctival microbiome of contact lens wearers was found to be not significantly different from the ones of NULCs and did not detect a significant increase in pathogenic microorganisms. The main bacterial taxa were similar between groups although the abundance of each taxon varied within each group. This type of study is essential for the success of ocular therapy and the management of the target microorganisms of antimicrobial therapy.

Keywords: microbiome, ecosystem, ocular, conjunctival, infection.

¹ Universidad Regional Autónoma de los Andes (UNIANDES)

*Autor de Correspondencia: ua.lina.espinosa@uniandes.edu.ec

Introducción

La Microbiota es la comunidad de microorganismos residentes en un órgano o nicho, el que prosperen en diversos órganos depende de ciertos factores fisiológicos como la humedad, temperatura y nutrientes. Asimismo, la cantidad de microorganismos que la conforman o microbioma no es igual en todas las personas, varía en cada uno y la colonización se hace durante toda la vida, así la flora de un recién nacido es diferente a la de un adulto y anciano e influyen los hábitos, dieta, vida sexual, niveles hormonales, etc. Por otra parte, hay enfermedades que son el resultado del desbalance del microbioma y otras como las enfermedades autoinmunes, la diabetes, alergias, gastrointestinales, artritis y posiblemente el cáncer se puedan afectar por el microbioma (Uzcátegui, O. (2016). Microbioma humano. Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela, 76(1), 1-3. Disponible en: <http://ve.scielo.org/og/v76n1/art01.pdf> Acceso febrero 2022).



Estas comunidades microbianas pueden clasificarse en dos grupos: El primero denominado microbiota residente, la cual se constituye por una población permanente de microorganismos no invasores que desempeñan una función determinante según la región donde se localice, evitando la colonización por patógenos y posibles enfermedades con el fin de conservar la salud. Y un segundo grupo constituido por el microbiota transitorio que incluye microorganismos no patógenos derivados del ambiente que habitan la piel o las membranas mucosas durante horas, días o semanas (Jaimes Niño, W. V. & Martín Rodríguez Álvarez, L. V. (2016). Identificación de la microbiota conjuntival en adultos escolares saludables, mediante el sistema automatizado VITEK y la susceptibilidad antimicrobiana, Universidad de La Salle).

La microbiota en los ojos se encuentra fundamentalmente en la conjuntiva y párpados, la córnea es prácticamente estéril, a causa de su ubicación y al incesante barrido que se realiza con el parpadeo, consiste principalmente en bacterias aeróbicas. Normalmente como lo citan diversos autores entre ellos Tavera *et al.*, (2015) y Rodríguez Álvarez *et al.*, (2017) incluyen estafilococos coagulasa negativos (SCN, siendo principalmente *Staphylococcus epidermidis*), *Corynebacterium* sp, *Micrococcus* sp y *Bacillus* sp. No obstante, en condiciones de cultivo adecuadas, se pueden identificar bacterias anaerobias, en particular *Propionibacterium* sp y algunas *Candida* sp. En general en la conjuntiva ocular, las bacterias Gram positivas son las más comunes como *Staphylococcus*, *Diphtheroides*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* y *Peptococcus*, son las principales representantes de la masa microbiana. Y las bacterias Gram negativas: *Pseudomona*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Neisseria* y *Citrobacter* (Tavera, M., Acosta, L., & Álvarez, M. F. R. (2015). Bacterias oportunistas involucradas en infecciones oculares. Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular, 13(2), 73-84. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/330609137_Bacterias_oporunistas_involucradas_en_infecciones_oculares Acceso febrero 2022; Rodríguez Álvarez, M. F., Martín Algarra, V., & Jaimes Niño, V. (2017). Caracterización de la microbiota conjuntival transitoria y residente de adultos jóvenes. Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular, 15(1), 37-45. <https://doi.org/10.19052/sv.3994>).

Los análisis previos del microbiota de la superficie ocular, realizados mediante técnicas de cultivo microbiológico, informaron de un perfil significativamente diferente y menos diverso que el que se ha descubierto más recientemente mediante técnicas moleculares. Utilizando técnicas de cultivo para la caracterización de la microbiota de la superficie ocular se creía que esta estaba dominada por especies Gram positivas especialmente *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*. Además, se cultivaron algunas especies Gram negativas, como *Haemophilus* y *Neisseria*, así como aislados fúngicos de la superficie ocular de sujetos humanos sanos (Caro, I., Bécares, G., Fuentes, L., García-Armesto, M. R., Rúa, J., Castro, J. M., & Mateo, J. (2015). Evaluation of three PCR primers based on the 16S rRNA gene for the identification of lactic acid bacteria from dairy origin. CyTA-Journal of Food, 13(2), 181-187. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.934297>).

De allí que, con el desarrollado varios métodos moleculares basados en ADN para analizar la diversidad microbiana, fundamentado en la amplificación, secuenciación de última generación y análisis bioinformática de la región V3 del gen 16 rRNA ribosomal; gen que al estar presente en todas las bacterias y sufrir pocas variaciones a través del tiempo es considerado el cronómetro evolutivo ideal para describir, bajo un enfoque filogenético, la composición de la microbiota bacteriana a nivel de género. Esta técnica se basa en la cantidad de similitud de secuencias entre diferentes individuos y es demostrativa de la variación de sus genomas, para fines prácticos de rutina si dos organismos presentan un rRNA 16S identidad de secuencia génica inferior al 97%, están poco relacionados a nivel genómico y, por lo tanto, pertenecen a especies diferentes, mientras que si los valores de identidad son superiores al 97 %, se pueden considerar estrechamente relacionados y, por lo tanto, pertenecientes a la misma especie (Cuadra Granados, A. A. (2018). Estudio de la microbiota bacteriana del tracto digestivo de una muestra de campo y dos cepas de laboratorio: una susceptible y una resistente a deltametrina, de adultos hembra *Anopheles albimanus*-vector de malaria en Guatemala-mediante el análisis bioinformático de la región hipervariable V3-V4 del gen 16S rRNA ribosomal. Doctoral dissertation, Universidad del Valle de Guatemala. Disponible en: <http://repositorio.uvg.edu.gt/xmlui/123456789/3183> Acceso febrero 2022).

La primera encuesta basada en la secuenciación de genes de las especies bacterianas que se encuentran en la superficie ocular, utilizando 16S rRNA PCR, fue realizada en 2011 por investigadores del Bascom Palmer Eye Institute. La secuenciación profunda del ADN conjuntival reveló un promedio de 221 especies de bacterias por sujeto. En esta investigación, las bacterias se clasificaron en cinco filos y 59 géneros distintos, con doce géneros ubicuos entre todos los sujetos de la cohorte analizada. De los cinco filos bacterianos, Proteobacteria, Actinobacteria y Firmicutes representaron más del 87 por ciento de todas las secuencias; los dos filos restantes, Cyanobacteria y Bacteroides, estaban presentes en cantidades de nivel de contaminación y se excluyeron de análisis posteriores. Los doce géneros comunes (*Pseudomonas*, *Propionibacterium*, *Bradyrhizobium*, *Corynebacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Staphylococcus*, *Aquabacterium*, *Sphingomonas*, *Streptococcus*, *Streptophyta* y *Methylobacterium*) comprenden más del 96 por ciento del microbioma clasificado. En su estudio Tavera *et al.*, (2015) señalan cinco géneros más abundantes de los doce géneros ubicuos identificados fueron *Pseudomonas*, *Bradyrhizobium*, *Propionibacterium*, *Acinetobacter* y *Corynebacterium*, seguidos de *Brevundimonas*, *Staphylococcus*, *Aquabacterium*, *Sphingomonas* y *Streptococcus*. Como estos doce géneros representaron más del 96% del total de secuencias de ADN bacteriano clasificadas, los datos sugieren que la conjuntiva sana está colonizada por una microbiota homeostática residente. Hasta la fecha, los resultados de este estudio siguen siendo la caracterización basada en secuenciación de ADN más completa de la diversidad bacteriana en la superficie ocular.

Estudios recientes han aplicado el método 16S rRNA PCR para analizar la microbiota de la superficie ocular en individuos sanos, usuarios de lentes de contacto y pacientes con enfermedad tracomatosa. De igual modo, aquí aplicamos la secuenciación del gen 16S rRNA para caracterizar la diversidad del microbioma en la conjuntiva de los usuarios de lentes de contacto y determinar los efectos de este último sobre la microbiota normal de la conjuntiva. Al caracterizar más completamente la diversidad de ecosistemas microbianos conjuntivales entre individuos que usan o no los lentes de contacto, aclaramos el papel de dicha variabilidad como factores de riesgo de infección de la superficie ocular (Zhang, H., Zhao, F., Hutchinson, D. S., Sun, W., Ajami, N. J., Lai, S., Wong, M. C., Petrosino, J. F., Fang, J., Jiang, J., Chen, W., Reinach, P. S., Qu, J., Zeng, C., Zhang, D. & Zhou, X. (2017). Conjunctival Microbiome Changes Associated With Soft Contact Lens and Orthokeratology Lens Wearing. *Investigative ophthalmology & visual science*. 58(1): 128–136. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-20231>; Souza, M.S.D. (2018). Prevalência microbiana das infecções oculares em pacientes atendidos no Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL-UFRN) (Tesis de licenciatura, Universidade Federal do Rio Grande do Norte). Disponible en: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/43187> Acceso febrero 2022).

Para Castrillon Suárez *et al.*, (2021) la microbiota a nivel ocular está totalmente estable, gracias a que el ojo tiene consigo mecanismos que le permiten estar en contacto con bacterias y no verse afectado. Tales mecanismos se llevan a cabo mediante la lágrima, la cual tiene proteínas como lisozima, lactoferrina y lipocalina, que tienen propiedades antibacterianas, y que actúan junto con la IgA, que es producida por las células plasmáticas de la glándula lagrimal, y que por medio de su mecanismo de acción impide la adherencia de células bacterianas a las células huésped (Castrillon Suarez, K. J., Gutiérrez Chica, C., Reyes Clavijo, L. & Vásquez Melo, E. (2021). Influencia del uso de lentes de contacto en la microbiota bacteriana ocular humana. Universidad Antonio Nariño. Medellín. Disponible en: <http://repositorio.uan.edu.co/bitstream/123456789/4563/1/2021KarenJulietCastrillonSuarez.pdf> Acceso febrero 2022).

La microbiota ocular se encuentra principalmente en la conjuntiva y está constituida por bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *Neisseria* spp., *Moraxella* spp. y *Streptococcus* spp. (Sullivan *et al.*, 2006). Esta diversidad puede variar según las condiciones estacionales: la temperatura, humedad relativa, etc.; la edad, sexo, hábitos personales como el uso de lentes de contacto; estados de enfermedad (es decir, síndrome del ojo seco, conjuntivitis, diabetes, enfermedades autoinmunes e infecciones) y antibioterapia (Sullivan, B. D., Evans, J. E., Dana, M. R. & Sullivan, D. A. (2006). Influence of aging on the polar and neutral lipid profiles in human meibomian gland secretions. *Archives of ophthalmology*, 124(9), 1286–1292. <https://doi.org/10.1001/archophth.124.9.1286>).

Según la localización, las condiciones climáticas y la actividad, así como la temperatura, la humedad relativa y exposición constante a los contaminantes del aire provoca cambios en la película lagrimal, resultando en cambios del microbiota conjuntival. De esta manera, factores ambientales tales como la falta de humedad y aumento del viento, tareas prolongadas (lectura o uso de computadora), y los sistemas de ventilación y acondicionamiento del ambiente, como son el aire acondicionado, los ventiladores de techo y los sistemas de calefacción, pueden disminuir la humedad ambiental interior y/o acelerar la evaporación lagrimal (Sullivan *et al.*, 2006; Rodríguez Álvarez *et al.*, 2017). No hay mucha variación en los organismos comensales con regiones geográficas. Aunque las tasas difieren entre individuos y poblaciones, *S. epidermidis*, *S. aureus* y *Corynebacterium* sp son la microbiota conjuntival predominante, independientemente de la ubicación geográfica (Szczołka-Flynn, L. B., Pearlman, E. & Ghannoum, M. (2010). Microbial contamination of contact lenses, lens care solutions, and their accessories: a literature review. *Eye & contact lens*, 36(2), 116–129. <https://doi.org/10.1097/ICL.0b013e3181d20cae>).

La microbiota ocular normal sufre cambios mínimos durante las dos primeras décadas de la vida, donde los estreptococos y los neumococos son más frecuentes y *S. epidermidis*, *S. aureus* y *Corynebacterium* sp siguen siendo las bacterias predominantes en la conjuntiva y los párpados. Sin embargo, con el aumento de la edad, existe una tendencia hacia la presencia de más bacterias Gram. En el recién nacidos: Al nacer predominan en el ojo del individuo *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Diphtheroides*, *Streptococcus viridans*, *Bacillus haemophilus*, *Bacteroides*, *Propionibacterium* y *Lactobacillus*, similar a la microbiota del cérvix; dos días después del nacimiento *S. epidermidis*, *S. aureus* y *E. coli* son más comúnmente aislados. Y niños y adultos: Son más frecuentes los *Staphylococcus* coagulasa negativos, *Diphtheroides*, *Propionibacterium* y *Streptococcus*; estos últimos se presentan con mayor regularidad en los niños.

Tabla 1. Bacterias oportunistas que hacen parte de la microbiota ocular frecuentemente aisladas de conjuntiva y párpados de acuerdo a la edad

Microorganismo	Conjuntiva		Párpados		
	Porcentaje	Individuos	Microorganismo	Porcentaje	Individuos
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	36.4%	Bebés sanos menores de 5 meses	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4%	Individuos jóvenes con ojos sanos
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	29-60%	Adultos jóvenes Individuos con ojos sanos	<i>Moraxellacatharrhalis</i>	-----	
<i>Pseudomonas</i>	7-10%	Adultos con ojos sanos	<i>Propionibacterium</i> sp	20%	
<i>Actinomyces</i>	6.5%				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	51-69%	Adultos mayores con diagnóstico de catarata	<i>Corynebacterium</i> sp	15%	
<i>Corynebacterium</i> sp.	21.5%				
<i>Propionibacterium</i> sp.	10-35%	Adultos con ojos sanos	<i>Acinetobacter</i>	12%	
<i>Micrococcus</i> sp.	12%				

Fuente: Tavera *et al.*, (2015).

Entre las bacterias oportunistas más frecuentes en conjuntiva se encuentra *S. epidermidis*, predominando en diferentes condiciones en la conjuntiva; una de estas condiciones es la edad presentando variación desde el nacimiento hasta la mayoría de edad, al igual que las otras bacterias que se encuentran presentes en la conjuntiva. En los párpados la bacteria que se encuentra con mayor frecuencia es *Propionibacterium* sp., en individuos jóvenes principalmente (Tabla 1) (Tavera *et al.*, 2015).

En otro orden de ideas, diferentes investigaciones han concluido que existe un elevado grado de incumplimiento por parte de los usuarios de lentes de contacto. Aun no siendo mayoría, un porcentaje significativo no realizan correctamente los procesos de uso, mantenimiento y cuidado tanto de las lentes de contacto como de sus accesorios, concretamente las normas de higiene y reemplazo de los estuches de almacenamiento, lo cual se relaciona directamente con el riesgo de inflamación e infección corneal (Yela Paradas, S. (2021). Análisis bibliográfica y trabajo de campo sobre la limpieza y recambio del portales en usuarios de lentes de contacto. Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/handle/2117/356670> Acceso febrero 2022).

Castrillon Suárez *et al.* (2021) realizaron una revisión bibliográfica para determinar la influencia del uso de lentes de contacto en la microbiota bacteriana ocular humana y durante este estudio pudieron encontrar que la higiene, el cuidado de los lentes y el desgaste del material del lente afectan el flujo lagrimal normal y el metabolismo de la córnea, disminuyendo los procesos de protección bacteriana de lágrima y epitelio, alterando el equilibrio de la microbiota y favoreciendo la acción de patógenos oportunistas lo cual incrementa el riesgo de infecciones a nivel ocular; al desgastarse el lente, puede acumular depósitos y ser una superficie ideal para la proliferación bacteriana (Castrillon Suarez, K. J., Gutiérrez Chica, C., Reyes Clavijo, L. & Vásquez Melo, E. (2021). Influencia del uso de lentes de contacto en la microbiota bacteriana ocular humana. Universidad Antonio Nariño. Medellín. Disponible en: <http://repositorio.uan.edu.co/bitstream/123456789/4563/1/2021KarenJulietCastrillonSuarez.pdf> Acceso febrero 2022).

Diversas razones por las cuales se pueden producir afecciones oculares (Priego Esquinas, 2017) entre ellas: 1) Adherencia de agentes patógenos a la superficie de la lente de contacto. Esto hace que se forme un reservorio de microorganismos que pueden atravesar el epitelio dañado. Esto se ve más acentuado en usuarios que hacen un mal uso en la limpieza de las lentes (aproximadamente, el 46% de los usuarios no realizan un cuidado adecuado de sus lentes). 2) Falta de reemplazo y limpieza en los estuches de las lentes de contacto. Aproximadamente, un 83% de los estuches pueden estar contaminados por microorganismos que posteriormente entran en contacto con el ojo una vez puesta la lentilla. 3) La hipoxia corneal que se crea por no respetar las horas de porte de lentes puede provocar edema epitelial y/o estromal lo que favorece la migración de agentes patógenos. 4) Uso de líquidos de limpieza y mantenimiento contaminados una vez abiertos (aproximadamente el 13%) y 5) La fragilidad epitelial provocada por el estrés metabólico y mecánico inducido por las LC que impide su función de defensa y favorecen la infección patógena (Priego Esquinas, C. L. (2017). Afectaciones oculares causadas por microorganismos asociados al uso de lentes de contacto. Trabajo Fin de Grado, Universidad de Sevilla. Disponible en: <https://idus.us.es/handle/11441/64666> Acceso febrero 2022).

Al utilizar lentes de contacto es necesario seguir protocolos adecuados para su correcto uso y conservación, ya que el incumplimiento de los mismos puede dar paso a la presencia de microorganismos que causan infecciones a nivel ocular produciendo conjuntivitis, queratitis o úlceras (Alegre Sacristán, Á. (2021). Úlceras corneales asociadas al uso de lentes de contacto. Trabajo de fin de grado, Universidad de Santiago de Compostela. Disponible en: https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/27730/2021_tfg_medicina_alegre_sacristan_ulceras.pdf?sequence=1&isAllowed=y Acceso febrero 2022).

Un alcance más claro del problema se muestra por la incidencia de queratitis microbiana (MK), la complicación más grave que amenaza la vista asociada con el uso inadecuado de lentes de contacto. La incidencia anual estimada de MK para usuarios de lentes de contacto es de 1,2 a 25,4 por 10 000, según el tipo de lente y el programa de uso, del cual se estima en 0,04% en los portadores de lentes de uso diario y en 0,21% en los de uso prolongado. El riesgo aumenta unas diez veces (aproximadamente) si se duerme con los lentes de contacto puestos y también se correlaciona con el número de días consecutivos que se usa el lente de contacto sin quitarlo. Los factores de riesgo de MK en usuarios de UCLS incluyen ojo seco, hipoxia corneal, hinchazón y/o adelgazamiento, erosión, depósitos de lágrimas en UCLS, reacciones alérgicas, soluciones para el cuidado de lentes y estuches de lentes contaminados con microbios, y malos hábitos de higiene (Aguiar Gaita, JV (2014). Memorias seminario internacional de investigación e innovación en ciencias de la visión: temática lentes de contacto y superficie ocular. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/optometria/232> Acceso febrero 2022; Gutierrez Sánchez, S. V., Mesa Pinzón, A. F. & Valero Díaz, L. A. (2021). Frecuencia de microorganismos de lentes de contacto blandos. Enfoque, 20, 20. Disponible en: <https://visionyoptica.com/frecuencia-de-microorganismos-de-lentes-de-contacto-blandos/> Acceso febrero 2022).

Evaluación del ecosistema microbiano conjuntival en condiciones ambientales del trópico y la tolerancia de los lentes de contacto

Se propone una metodología no experimental descriptiva y transversal. Se fundamenta en el análisis filogenético de la secuenciación de extremos emparejados de la región V3 del gen 16S ARNr para caracterizar las comunidades bacterianas en las superficies conjuntivales de los usuarios y no usuarios de lentes de contacto (Zhang *et al.*, 2017) (Figura 1), adicionalmente se asocia con condiciones ambientales de acuerdo a lo postulado por Sullivan *et al.*, (2006).

Para el análisis de las secuencias, se utiliza el algoritmo UPARSE-OTU construye un conjunto de secuencias representativas de OTU a partir de lecturas de amplicón NGS (Edgar, 2013) este software utiliza las secuencias de ARNr 16S (o ADNr 16S) para el análisis filogenético; agrupando por el Clustering codicioso en taxones (Edgar, R.C. (2013). UPARSE: Secuencias OTU de alta precisión de lecturas de amplicón microbiano. *Nat Methods*, 10, 996–998. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2604>).

Para la inclusión de participantes, se consideraron los factores que afectan al microbiota conjuntival citados por Sullivan *et al.*, (2006). Por lo tanto, se estableció como criterios de inclusión (1) no tener enfermedades oculares o sistémicas, traumatismos oculares, trasplantes o cirugía láser; (2) no había tomado tratamiento con antibióticos y/o esteroides recientemente (dentro de los 2 meses anteriores); y (3) no tenía alergias a medicamentos, polen, etc.

Previo a la incorporación, se les solicitó el consentimiento informado por escrito de todos los sujetos después de la explicación del estudio, se incluyeron 60 personas que asistieron a una clínica de oftalmología en Ambato, Ecuador. A las cuales se les aplicó el cuestionario y seguidamente la toma de muestra como lo contempla el algoritmo de la Figura 1, en ambas fases. Es estudio preliminar se realizó entre noviembre de 2021 a marzo de 2022 en Ambato, Ecuador.

En el procesamiento y análisis de la secuenciación del gen 16S ARNr, para estudiar la ecología microbiana, las secuencias fusionadas se agruparon en unidades taxonómicas operativas (OTU) con un valor límite de similitud del 97 % mediante el algoritmo UPARSE (Figura 1). Se aplicó una tasa de error esperada de 0,5 para el filtrado de calidad. En cuanto al análisis estadístico de datos PERMANOVA, Mann-Whitney U y Kruskal-Wallis fueron las pruebas utilizadas para caracterizar y demostrar diferencias significativas en la composición del ecosistema bacteriano entre grupos.

Estudio descriptivo, no experimental, transversal

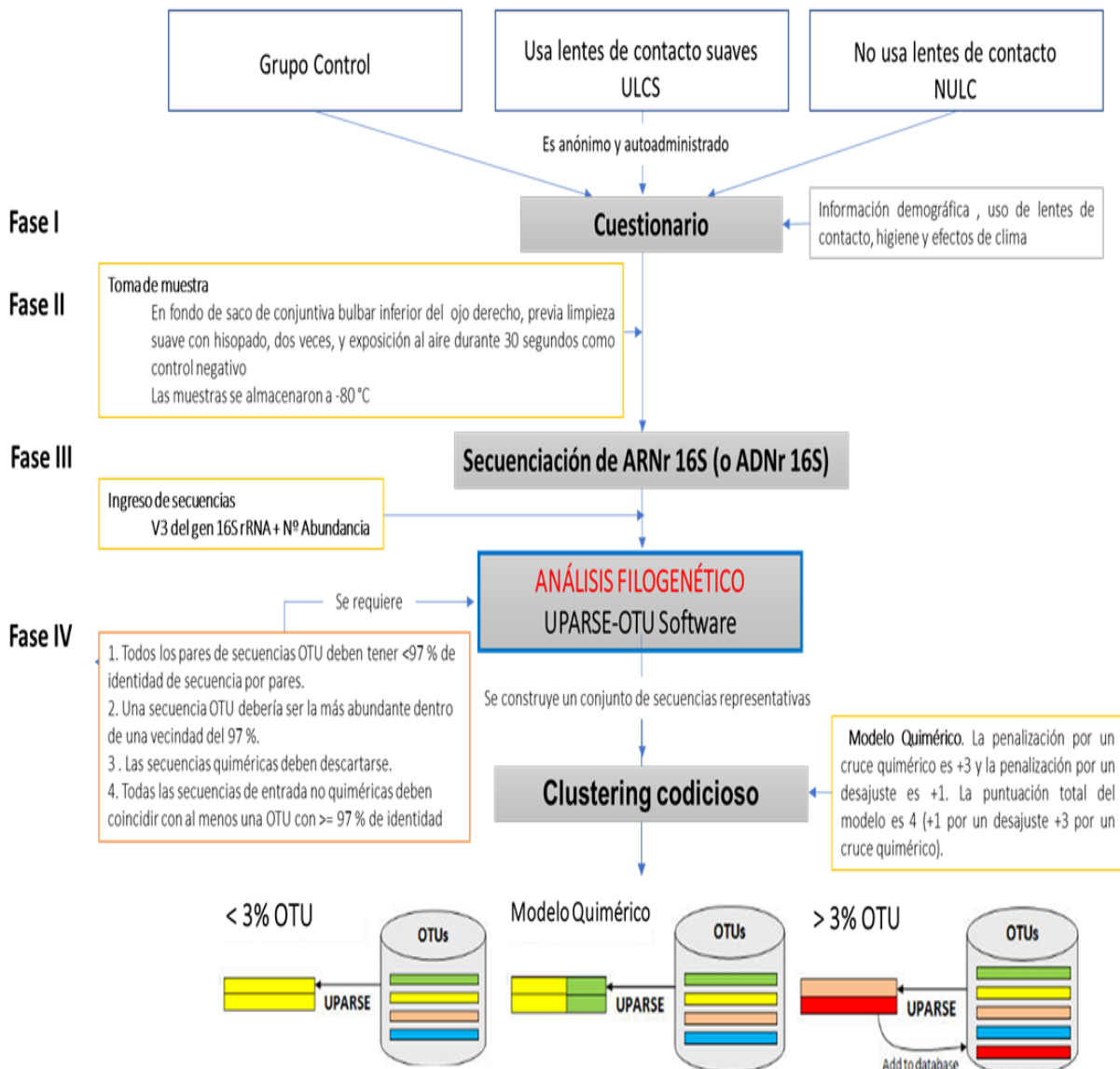


Figura 1. Evaluación del ecosistema microbiano conjuntival

Caracterización de la diversidad bacteriana conjuntival: Hallazgos preliminares

En general, los principales taxones bacterianos fueron similares entre los grupos, representados por 5 phylum como Actinobacteria, Pseudomonadota, Firmicutes, Proteobacteria y Bacteroidota fueron las más prevalentes en todas las muestras, fueron identificadas como bacterias conjuntivales comunes en la mayoría de los sujetos, independientemente del uso de lentes de contacto (Tabla 2). En contraparte, a nivel de género, la diversidad del ecosistema bacteriano, se cuantificó la diversidad en 60 muestra (28 UCLS y 32 NULC), las OTU observadas no fueron significativamente diferentes ($P = 0,84$). Además, mediante el análisis de PERMANOVA ($P = 0,356$), aun cuando la proximidad filogenética es $>97\%$, las OTU observadas en cada muestra fueron menores que las estimadas, lo que indica la poca robustez del análisis estadístico, debido al tamaño muestral, pero con indicios técnico de que la metodología es fiable y congruente, pudiendo aportar datos acordes con la realidad biológica.

Tabla 2. Caracterización de la diversidad bacteriana conjuntival

Phylum	% abundancia	Genero	Secuencias ARNr 16S			
			UCLS		NULC	
			#	%	#	%
Actinobacteria	14,55	<i>Actinomyces</i>	5	6,94	2	3,57
		<i>Rothia</i>	3	4,17	3	5,36
		<i>Massilia</i>	5	6,94	2	3,57
Pseudomonadota	23,64	<i>Betaproteobacteria</i>	8	11,11	4	7,14
Firmicutes	7,27	<i>Bacillus</i>	4	5,56	2	3,57
		<i>Arcobacter</i>	5	6,94	7	12,50
		<i>Shewanella</i>	6	8,33	1	1,79
Proteobacteria	36,36	<i>Acinetobacter</i>	7	9,72	9	16,07
Bacteroidota	21,82	<i>Elizabethkingia</i>	18	25,00	12	21,43
No identificado			11	15,28	14	25,00
			72	100,00	56	100,00

La abundancia de cada taxón varió dentro de cada grupo. Se observó una mayor abundancia de *Elizabethkingia* en usuarios de UCLS en comparación con NULC ($P < 0,03$, U de Mann-Whitney).

En general, el microbioma conjuntival de NULC mostraron diferencias de género, y los usuarios de lentes de contacto no mostraron una agrupación distinta causada por el género o las variables del historial de uso. Aunque las UTO observadas en hombres y mujeres en NULC los grupos fueron similares (prueba U de Mann-Whitney, $P = 0,09$), las pruebas PERMANOVA demostraron diferencias en la composición del ecosistema entre los diferentes sexos ($P = 0,003$). En el otro grupo, las UTO observadas fueron casi las mismas en hombres y mujeres. Aunque el tamaño de la muestra fue limitado para esta comparación.

En esta primera fase de la aplicación metodológica, no se asociaron los OTU con factores como prácticas de higiene; y las condiciones climáticas como la temperatura, la humedad relativa y exposición constante a los contaminantes del aire, provoca cambios en la película lagrimal, resultando en cambios del microbiota conjuntival. No obstante, se observó cualitativamente mayor abundancia, aunque igual diversidad en individuos que antes de la toma de muestra tuvieron exposición a condiciones adversas del clima. De esto último, nos indica la necesidad de correlacionar los cambios microbióticos con los factores ambientales como temperatura, humedad relativa y exposición a polvo.

Variaciones en la composición ecológica bacteriana conjuntival provocadas por el uso de lentes de contacto

La microbiota de la superficie ocular puede verse alterada por factores del hospedador, agresiones ambientales y estados patológicos, que pueden causar desbalances por la alteración de la superficie ocular puede vulnerar al sistema inmunitario innato en los epitelios de la córnea y la conjuntiva y permitir que los ligandos microbianos desencadenen la inflamación ocular (Torracchi Carrasco, A.M., Arcos, M., Ochoa Zamora, S. P., Mora Verdugo, M. A., Radas, J. F., Palacios Quesada, M. V., & Salgado Castillo, C. M. (2017). Revisión Bibliográfica: El Microbioma Humano. Revista Médica HJCA, 9(3), 275-279. <http://dx.doi.org/10.14410/2017.9.3.rb.50>). Por esto, las alteraciones en la microbiota de la superficie ocular se han asociado a condiciones como el síndrome del ojo seco, uso de lentes de contacto, queratoprótesis, antibióticos e infección Paula, C.C.D., Bittencourt, W.S. & Leite, D.P. (2019). Lentes de contacto provocando conjuntivite por *Ralstonia Pichettii*. Revista Brasileira de Oftalmología, 78, 49-51. <https://doi.org/10.5935/0034-7280.20190011>).

Otro aspecto a considerar, es la película lagrimal, que lubrica el epitelio de la superficie ocular, contiene compuestos antimicrobianos como lisozima, lactoferrina, inmunoglobulina A (IgA), lipocalina y complemento. Dado el papel inmunológico de las lágrimas en la defensa contra posibles patógenos, es razonable conjeturar que ciertas situaciones que afectan la película lagrimal, como el síndrome del ojo seco y el uso de lentes de contacto, pueden alterar la microbiota de la superficie ocular (Saltos Ibarra, S. (2001). Comportamiento de la flora bacteriana ocular, utilizando lentes de contacto de uso programado por un tiempo mayor al determinado por el fabricante, en la ciudad de ambato (Tesis de licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ambato). <http://repositorio.pucesa.edu.ec/handle/123456789/141>).

Estudios recientes han investigado el vínculo entre las alteraciones en la microbiota de la superficie ocular y la enfermedad oftálmica. Sankaridurg *et al.*, (2000) realizaron un estudio que exploraba la colonización microbiana de lentes de contacto blandas como un factor de riesgo asociado con eventos de infiltración corneal (CIE) y encontraron que la colonización de lentes con bacterias patógenas, especialmente bacterias Gram-negativas como *Serratia marcescens* y *Haemophilus influenzae*, era significativamente asociado con la CIE (Sankaridurg, P. R., Sharma, S., Willcox, M., Naduvilath, T. J., Sweeney, D. F., Holden, B. A. & Rao, G. N. (2000). Bacterial colonization of disposable soft contact lenses is greater during corneal infiltrative events than during asymptomatic extended lens wear. *Journal of clinical microbiology*. 38(12): 4420–4424. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.12.4420-4424.2000>).

De acuerdo con los hallazgos, la composición de género de la microbiota varía en diferentes capas en otras áreas del cuerpo, como la epidermis humana, la microbiota de la superficie ocular parece tener una estratificación vertical de la composición de especie. Frotar la superficie ocular con una ligera presión produjo secuencias de especies oportunistas y ambientales, como *Rothia*, *Herbaspirillum*, *Leptothrichia* y *Rhizobium*. Estas bacterias de la capa superficial probablemente representan especies transitorias en la superficie ocular. Por el contrario, el uso de un hisopo, en el que se aplicó algodón seco con mayor presión, produjo una gran cantidad de especies de estafilococos, corneobacterias y proteobacterias, que se localizan en la capa mucosa y el epitelio conjuntival. Por lo tanto, es necesario un hisopado profundo para obtener una caracterización precisa y completa de la diversidad de la microbiota de la superficie ocular (Lu, L. J. & Liu, J. (2016). Human Microbiota and Ophthalmic Disease. *The Yale journal of biology and medicine*, 89(3), 325–330. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27698616/> Acceso febrero 2022).

Este estudio evaluó si la microbiota de los usuarios de lentes de contacto difería de la de quienes no los usaban. Se descubrió que el microbioma conjuntival de los usuarios de lentes de contacto no era significativamente diferente del de los NULC y no detectó un aumento significativo de microorganismos patógenos (*Pseudomonas*, *Staphylococcus*). Una posible explicación para esta falta de diferencia es que cada individuo tiene patrones bacterianos conjuntivales únicos. También Larkin, (1991) examinó la colonización microbiana de la conjuntiva en usuarios de lentes de contacto y los comparó con sujetos de control. Sus resultados incluyeron el hallazgo de que la superficie ocular de los usuarios de lentes de contacto produjo recuentos bacterianos más altos que los de los sujetos de control. Sin embargo, los autores no encontraron ninguna variación cualitativa en las especies de bacterias identificadas entre los grupos de control y los que usaban lentes. (Larkin, D. F., & Leeming, J. P. (1991). Quantitative alterations of the commensal eye bacteria in contact lens wear. *Eye (London, England)*, 5 (Pt 1), 70–74. <https://doi.org/10.1038/eye.1991.14>; Udomwech, L., Karnjana, K., Jewboonchu, J., Rattanatham, P., Narkkul, U., Juhong, J. & Mordmuang, A. (2022). Bacterial microbiota of the contact lens surface and associated care behaviours. *Heliyon*, 8(3), e09038. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09038>)

En este estudio, los principales taxones bacterianos fueron similares entre los grupos. Nuestros resultados son equivalentes a los encontrados por Zhang *et al.*, (2017). Estos investigadores también encontraron que las comunidades de bacterias se identificaron como comunes en la mayoría de los sujetos, independientemente del uso de lentes de contacto. Estos resultados son consistentes con los encontrados por otros autores, entre ellos, de Souza *et al.*, (2020) quienes hallaron que entre las bacterias Gram negativas, las más prevalentes fueron las especies de *Pseudomonas*, que se encuentran en el 44,8% de las infecciones bacterianas. Entre los hongos, el más prevalente fue *Fusarium* spp., presente en el 90,5% de las infecciones fúngicas. Hubo una asociación significativa entre la infección por el género *Fusarium* y el grupo de edad entre 25 y 49 años. Entre las bacterias Gram positivas, la más prevalente fue *Staphylococcus aureus*, presente en el 17,2% de las infecciones bacterianas. La muestra clínica con mayor positividad en los cultivos fue el raspado corneal, representando el 70% de los casos. En cuanto al perfil de sensibilidad a los antimicrobianos, la mayoría de las bacterias aisladas demostraron ser sensibles a los fármacos utilizados en la práctica oftalmológica, sin embargo, algunas de ellas como *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus coagulans* negativa, *Acinetobacter* spp. y *Enterobacter* spp. demostrando ser resistente (de Souza, M. S., Júnior, A. C. V., de Oliveira, D. C., da Silva Guedes, D. R., de Macedo, C. A., Araújo, G. M., & Andrade, V. S. (2020). Perfil microbiano de infecções oculares em pacientes atendidos no hospital universitário do estado do Rio Grande Do Norte. *Brazilian Journal of Development*, 6(4), 19758-19775 <https://doi.org/10.34117/bjdv6n4-226>).

En este estudio, la abundancia de cada taxón varió dentro de cada grupo. Esto se debe a que la adherencia de los microorganismos oportunistas depende en gran parte de las condiciones de salubridad e higiene del individuo, así como del contacto con personas o animales portadores de MO, favoreciendo el intercambio de agentes infecciosos entre las especies (Schaefer, F., Bruttin, O., Zografos, L., & Guex-Crosier, Y. (2001). Bacterial keratitis: a prospective clinical and microbiological study. *The British journal of ophthalmology*, 85(7), 842–847. <https://doi.org/10.1136/bjo.85.7.842>). Así, la evolución y dinámica de la virulencia de estos microorganismos oportunistas, seleccionan la expresión de los factores de virulencia dependiendo de las condiciones del medio y de su interacción con otras poblaciones. De la misma forma, la patogénesis de las infecciones oculares se da por la virulencia intrínseca del germen, la inmunidad y la estructura anatómica, fisiológica y bioquímica del ojo (O'Brien, T. P. & Hazlett, L. D. (2000). Patogénesis de la Infección Ocular. *Inmunología Ocular*, 200-214; Baim, A. D., Movahedan, A., Farooq, A. V., & Skondra, D. (2019). The microbiome and ophthalmic disease. *Experimental biology and medicine* (Maywood, N.J.), 244(6), 419–429. <https://doi.org/10.1177/1535370218813616>).

Consideraciones finales

La epidemiología de las contaminaciones oculares vinculadas a la utilización de lentes de contacto es más frecuentemente un asunto de considerable tendencia en el campo de la salud ocular puesto que el empleo de variados tipos de lentes de contacto se relaciona con un mayor peligro de lesiones, complicaciones e infecciones. Se sugiere que las modificaciones en el microbioma ocular como consecuencia del uso de lentes de contacto están asociadas con el incremento de la infección.

Se realizó una comparación, a modo de monitoreo, del ecosistema microbiano conjuntival en pacientes que usan y no usan lentes de contacto. Este tipo de estudios es fundamental para el éxito de la terapia ocular y el manejo de los microorganismos diana de la terapia antimicrobiana, además de prevenir la resistencia bacteriana y el uso inadecuado o excesivo de medicamentos oculares.

Conflicto de intereses

Los autores manifestamos no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

A nuestra Alma Mater Universidad Regional Autónoma de los Andes (UNIANDES)