

**Bacterial Flora in Ranibizumab Injection Needles at  
Fundación Oftalmológica Nacional**

# Flora Bacteriana en Agujas de Inyección de Ranibizumab en la Fundación Oftalmológica Nacional

<sup>1</sup>Juliana Tirado-Angel MD

<sup>2</sup>Francisco José Rodríguez MD

<sup>3</sup>Mariana Cabrera MD

<sup>4</sup>Charlotte Brieke MD3

<sup>5</sup>Margaret Ordóñez MSc

Recibido: 12/18/13

Aceptado: 07/15/14

## Resumen

**Objetivo:** Describir la prevalencia de contaminación bacteriana de agujas utilizadas en inyecciones intravítreas en pacientes tratados con Ranibizumab, analizar la flora normal conjuntival, identificar el germen más común en cultivos de agujas utilizadas y establecer la eficacia de profilaxis antibiótica preoperatoria en la reducción de la flora normal conjuntival presente en el procedimiento.

**Métodos:** Estudio observacional descriptivo tipo serie de casos. Se incluyen pacientes de la Fundación Oftalmológica Nacional sometidos

<sup>1</sup>Oftalmólogo Supra-Especialista en Córnea y Enfermedades Externas, Fundación Oftalmológica Nacional, Bogotá Colombia

<sup>2</sup>Oftalmólogo Supra-Especialista en Retina y Vítreo, Fundación Oftalmológica Nacional, Bogotá Colombia

<sup>3</sup>Residente de Oftalmología, Fundación Oftalmológica Nacional – Universidad del Rosario, Bogotá Colombia

<sup>4</sup>Residente de Oftalmología, Fundación Oftalmológica Nacional – Universidad del Rosario, Bogotá Colombia

<sup>5</sup>Instituto de Microbiología, Dirección Científica, Bogotá Colombia

a inyección intravítrea de Ranibizumab desde Abril 6 a Septiembre 28 del 2010. Edades entre 44 - 91 años. Se tomó frotis conjuntival del fondo de saco inferior para cultivo de flora normal al momento de la inyección y de la aguja utilizada y no utilizada. Se siembran muestras en tres medios de cultivo a 37°C/ 5 días.

**Resultados:** Se realizaron 150 cultivos, 50 ojos de 50 pacientes. 44 pacientes (88%) fueron consistentes y se incluyeron en el análisis. 6 (12%) fueron no consistentes. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Difteroides* y *Staphylococcus haemolyticus*. El *Staphylococcus aureus* fue la bacteria causal más frecuente contaminante de la aguja utilizada (10%), *Difteroides* (4%) y *Bacillus subtilis* (4%). *Difteroides*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* fueron los contaminantes de las agujas no utilizadas. El *Staphylococcus haemolyticus*, *aureus*, *epidermidis* y *Difteroides* fueron cultivados en la flora normal conjuntival de pacientes con cultivo de aguja negativo. El 61.4% de los cultivos no presentaron crecimiento bacteriano.

**Conclusión:** El *Staphylococcus aureus* fue la bacteria causal más frecuente de contaminación de las agujas utilizadas siendo el *Bacillus subtilis* el principal contaminante de agujas no utilizadas. El uso de profilaxis antibiótica previa al procedimiento reduce significativamente el inóculo bacteriano. Se requieren futuros estudios con ampliación de la muestra para controlar posibles fallas técnicas.

**Palabras clave:** flora normal, S.aureus, inyección intravítrea, aguja utilizada, bacteria contaminante, profilaxis.

## Abstract

**Purpose:** To evaluate the prevalence of bacterial contamination in needles used for intravitreal injections of Ranibizumab, analyze conjunctival flora, identify the most common microorganism present in used needles and evaluate the efficacy of antibiotic prophylaxis in reducing conjunctival flora at the time of the procedure.

**Methods:** A case series study. Patients of the Fundación Oftalmológica Nacional, who underwent intravitreal injections of Ranibizumab between April 6 and September 28, 2010. Ages 44 to 91 years. The used needle, an unused control needle and a conjunctival scraping from the inferior fornix were inoculated in tryptone soy broth at 37°C for 5 days.

**Results:** 150 cultures were obtained from 50 patients. 44 patients had consistent results (negative control needle) and were included in the analysis. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Difteroides*, y *Staphylococcus haemolyticus* were identified. *Staphylococcus aureus* was the most frequent contaminant of the used needles (10%), followed by *Difteroides* (4%) and *Bacillus subtilis* (4%). *Difteroides*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* were found in unused needles. *Staphylococcus haemolyticus*, *aureus*, *epidermidis* and *Difteroides* were found in the conjunctival samples. 61.4% had negative cultures.

**Conclusion:** *Staphylococcus aureus* was the most frequent contaminant of used needles and *Bacillus subtilis* of control needles. The use of antibiotic prophylaxis previous to the procedure,

significantly reduces the bacterial inoculums. Futures studies are required to increase sample size and control technical errors.

**Key Words:** normal flora, S.aureus, Intravitreal injection, used needle, contaminant bacteria, profilaxis.

## Introducción

La Degeneración Macular Relacionada con la Edad (DMRE) es la principal causa de pérdida severa e irreversible de la visión en población mayor de 55 años en los países desarrollados<sup>(1-3)</sup>. Según la OMS la DMRE es la tercera causa de ceguera y la segunda causa de ceguera irreversible en el mundo. Se estima que el 8.7 % de la ceguera a nivel mundial es debido a DMRE<sup>(4)</sup>.

Debido al incremento en la longevidad en los países subdesarrollados tales como Colombia, se espera que esta enfermedad cobre una gran importancia en cuanto a la pérdida visual de nuestra población en un futuro próximo.

Con la pérdida de la calidad y cantidad de visión central los pacientes experimentan gran dificultad para realizar tareas básicas tales como leer, conducir, reconocer caras, lo cual deteriora de manera importante su calidad de vida<sup>(5)</sup>.

El Ranibizumab es el único medicamento que ha demostrado que mejora la pérdida moderada de agudeza visual en el manejo de la degeneración macular relacionada con la edad y está aprobado por el FDA y por el INVIMA en Colombia para su uso intravítreo<sup>(6,10)</sup>, siendo su uso es cada vez más común. Ha mostrado en múltiples estudios su efectividad en el tratamiento de la DMRE neovascular<sup>(6,7)</sup>.

La complicación más grave de la inyección intravítrea descrita en la literatura es la endoftalmitis infecciosa. La prevalencia de esta complicación es de 0.2%<sup>(8)</sup> y la hipótesis causal más aceptada es la entrada de los gérmenes al espacio intraocular por inoculación directa del germen de la flora conjuntival del paciente. Cerca del 2% de las agujas de inyecciones intravítreas se han encontrado contaminadas con bacterias, generalmente estreptococos coagulasa negativos<sup>(9)</sup>. Sin embargo, informes previos en la literatura mundial han mostrado una prevalencia entre 0.36 a 11%<sup>(7,10)</sup>.

Jager y colaboradores realizaron una revisión sistemática de la literatura entre los años 1966 y 2004 con el fin de identificar los estudios en los cuales se evaluara la seguridad de las inyecciones intravítreas. Encontraron que la prevalencia total de endoftalmitis incluyendo no-infecciosa o pseudoendofalmitis fué de 0.9% por ojo y 0.3% por inyección. Excluyendo las endoftalmitis no infecciosas y las pseudoendofalmitis la prevalencia fué de 0.2%. Otros efectos adversos reportados fueron hemorragia vítrea 6.0% por ojo y 1.3 por inyección, desprendimiento de retina 3.9% por ojo y 0.9% por inyección, iritis/uveítis 28.5% por ojo y 6.3% por inyección, hipertensión ocular o glaucoma 38.3% por ojo y 36.6% por inyección. En esta revisión se incluyeron las inyecciones intravítreas de todos los medicamentos (antiangiogénicos, esteroides, antivirales y otros) y se incluyeron todas las indicaciones como son el edema macular diabético, retinitis y corioretinitis infecciosas, degeneración macular relacionada con la edad y otras membranas neovasculares<sup>(8)</sup>.

En un estudio multicéntrico realizado por Fintak y colaboradores en Missouri, Illinois, Boston y Ontario en 14322 inyecciones

intravítreas de 0.5mg de Ranibizumab, se encontró una prevalencia de endoftalmitis del 0.02% (95% CI: 0.00–0.06%). Uno de los tres pacientes con endoftalmitis tuvo un cultivo positivo para *S. mitis* y los otros dos resultaron negativos<sup>(13)</sup>.

Un estudio más reciente realizado por Diago y colaboradores en 3875 inyecciones intravítreas de antiangiogénicos bevacizumab, ranibizumab y pegaptanib, en pacientes con Degeneración Macular Relacionada con la Edad, mostró una prevalencia de endoftalmitis postoperatoria de 0.077%. De los tres pacientes que presentaron endoftalmitis postoperatoria, dos cultivos fueron positivos para *Staphylococcus coagulasa* negativo y el tercero fué negativo. Dos de estos tres casos fueron luego de inyección intravítrea de ranibizumab<sup>(5)</sup>.

Existen estudios previos sobre contaminación bacteriana de agujas en inyecciones intravítreas en la literatura mundial. El primero se realizó en el departamento de oftalmología de la Universidad de Standford, California y de la universidad Ludwig Maximilian, Munich Alemania por De Caro y colaboradores entre octubre de 2004 y abril de 2005 en 114 agujas de inyección intravítrea. Obtuvieron cultivos positivos en 2 (2%) de las agujas, ambos por *Staphylococcus coagulasa* negativos<sup>(9)</sup>. El segundo fué realizado por Nentwich y colaboradores en el departamento de oftalmología de la Universidad Ludwig Maximilian en 550 agujas de inyecciones intravítreas, encontrando una contaminación bacteriana en 2 agujas, una por *S. epidermidis* y la otra por *Corynebacterium sp.*<sup>(10)</sup>. En ambos estudios se tomaron las agujas de todas las inyecciones intravítreas (ranibizumab, bevacizumab y triamcinolona) para todas las indicaciones: degeneración macular relacionada con la edad, edema

macular diabético, edema macular cistoide y otras. Steward y colaboradores en San Francisco también realizaron un estudio en 7 centros con 101 agujas de inyecciones de Ranibizumab y Bevacizumab, encontrando cultivos positivos en 18% de las agujas. El microorganismo más frecuentemente encontrado fué el *P. Acnes* y el *Staphylococcus*. 4% de las agujas control tuvieron cultivos positivos<sup>(11)</sup>.

Otro estudio no publicado realizado por Carnevale en Bayville, NY, en 178 agujas de inyecciones intravítreas de Ranibizumab y Bevacizumab encontró una prevalencia de contaminación bacteriana del 6.74%<sup>(12)</sup>. En la literatura colombiana no encontramos otros estudios hasta la fecha en que se realizó el presente estudio.

Con el fin de prevenir la endoftalmitis en pacientes sometidos a inyecciones intravítreas, se llevan a cabo en la práctica clínica diferentes métodos de profilaxis antibiótica y medidas de asepsia durante el acto quirúrgico.

## Materiales y Métodos

La realización de este estudio fué aprobada por el Comité de Ética e Investigación de la Fundación Oftalmológica Nacional y fué financiado por recursos de la Institución destinados a investigación. No se realizó una intervención adicional al procedimiento estándar de inyección intravítrea por lo tanto, no representó ningún riesgo para los participantes. Todos ellos firmaron consentimiento informado y el estudio siguió los lineamientos de la Declaración de Helsinki. No existió ningún interés comercial ni particular de ninguno de los investigadores por ninguno de los productos mencionados.

Vision

# Carmelub<sup>®</sup> Tearsgel

Carboximetilcelulosa Sódica al 1%

# Carmelub<sup>®</sup> Tears

Carboximetilcelulosa Sódica al 0,5%



Tecnóquimicas

**Estudio Poblacional** Se realizó un estudio observacional descriptivo tipo serie de casos que incluyó 50 ojos de 50 pacientes de la consulta de retina de la Fundación Oftalmológica Nacional con diagnóstico Degeneración Macular relacionada con la Edad, quienes fueron sometidos a inyección intravítrea de Ranibizumab entre Abril 6 y Septiembre 28 del 2010. El rango de edad en la muestra obtenida en 50 ojos de de 50 pacientes fué de 44 - 91 años, con un promedio de 67.5 años. 27 pacientes (54 %) eran mujeres y 23 pacientes (46%) eran hombres. 4 pacientes (8%) eran diabéticos y 17 pacientes (34%) había tenido cirugías oftalmológicas previas. Solo 2 pacientes (4%) habían tenido inyección previa en el ojo contralateral y 18 pacientes (36%) en el mismo ojo.

**Procedimientos** El procedimiento quirúrgico y el procesamiento de las muestras en el laboratorio de Microbiología fueron realizados siempre por los mismos investigadores. Todos los pacientes recibieron ciprofloxacina en colirio cada 4 horas desde 4 días antes al procedimiento. El día del procedimiento se realizó un lavado exhaustivo del ojo y la piel periocular con yodopovidona espuma y posteriormente con yodopovidona solución y enjuague con agua estéril. Después de lo anterior, a todos los pacientes se les realizó el siguiente procedimiento:

- I. Colocación de campos quirúrgicos estériles en cara y cuerpo
- II. Colocación de blefarostato
- III. Colocación de anestesia tópica (2-3 gotas de Proparacaína)
- IV. Marcación del sitio de punción con un compás estéril (cuadrante inferotemporal, a 2.8 mm del limbo)
- V. Desplazamiento de la conjuntiva hacia temporal con un aplicador e inyección del medicamento en el sitio marcado
- VI. Retiro de la jeringa e inoculación inmediata de la aguja utilizada y de una aguja no utilizada en Caldo de Tryptona Soya por el cirujano e instrumentadora respectivamente.
- VII. Desplazamiento de la conjuntiva sobre la herida con un aplicador húmedo con proparacaína.
- VIII. Toma de frotis de fondo de saco conjuntival inferior para cultivo de flora normal conjuntival e inoculación de éste en el caldo de tryptona de soya.
- IX. Aplicación de 1 gota de ciprofloxacina 0.03% tópica en el ojo intervenido.

Los tres medios de cultivo fueron incubados a 37°C por cinco días. La presencia de turbidez en los caldos dentro de los 5 días subsiguientes fué considerada como positiva. La ausencia de turbidez como negativa para gérmenes. Los caldos que mostraron turbidez durante los primeros 5 días de incubación fueron repicados en agar sangre, agar chocolate con 5% de dióxido de Carbono y agar McConkey para favorecer el crecimiento de bacterias aeróbicas y microaerofílicas, en agar de Sabouraud sin cicloheximida, en agar chocolate y en agar de McConkey para aislar las bacterias. Estos agares fueron incubados inmediatamente a 37°C. Se realizaron tinciones de Gram de las colonias obtenidas y de acuerdo a ésta información se procedió a identificarlas mediante técnicas estándar.

Todos los pacientes fueron incluidos en una base de datos donde se codificaron por números consecutivos, con lo cual se identificaron los cultivos para su análisis estadístico.

## Resultados

Se analizaron 150 cultivos de 50 ojos de 50 pacientes sometidos a inyección intravítrea de Ranibizumab. De los 50 pacientes estudiados, 44 pacientes (88%) fueron interpretados como consistentes y 6 (12%), como no consistentes. Los pacientes consistentes tuvieron: a) los tres cultivos negativos, b) un mismo germen aislado en el cultivo de la flora normal conjuntival y en el de la aguja utilizada, o c) dos gérmenes diferentes propios de la flora normal conjuntival aislados en el cultivo de la flora normal y en el de la aguja utilizada (Diagrama 1). Para estos dos últimos grupos el cultivo de la aguja control fué negativo. En los pacientes inconsistentes se demostraron inconvenientes técnicos inherentes a la toma y transporte de las muestras y fueron excluidos del análisis.

Hubo crecimiento de cinco bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Difteroides* y *Staphylococcus haemolyticus*. Los resultados se muestran en la Figura 1.

Se aislaron microorganismos en 9 agujas utilizadas. La bacteria causal más frecuente de contaminación de la aguja utilizada presente en la flora normal conjuntival fué *Staphylococcus aureus* (n=5), seguida de *Difteroides* (n=2) y de *Bacillus subtilis* (n=2) para un 20.4% de crecimiento bacteriano en agujas utilizadas.

*Staphylococcus aureus*, *Difteroides*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis* fueron contaminantes de agujas no utilizadas (Tabla 3). El principal contaminante de agujas no utilizadas fué el *Bacillus subtilis*.

*Staphylococcus haemolyticus*, *aureus*, *epidermidis* y *Difteroides* fueron cultivados en la flora normal conjuntival de pacientes en que el cultivo de la aguja utilizada fué negativo (Tabla 4).

En 61.4% de los cultivos de la aguja utilizada (n=27) no hubo ningún crecimiento bacteriano. En el 18.2% de los cultivos de aguja no utilizada (n=8), creció un germen propio de la flora conjuntival normal. El uso de profilaxis antibiótica previa al procedimiento redujo el inóculo bacteriano de las agujas utilizadas en 79.5% en los pacientes estudiados (Tabla 5).

## Discusión

La prevalencia de contaminación bacteriana de agujas utilizadas en inyecciones intravítreas en este estudio fué del 20.4%, mayor a lo reportado en la literatura en el estudio de prevalencia de Netwch y cols<sup>(10)</sup> y similar al de Steward y cols<sup>(11)</sup>. Las bacterias encontradas en la flora normal conjuntival son representativas de ésta, predominando el *S. aureus*. En los cultivos de agujas utilizadas también encontramos que el germen causal más frecuente fué el *S.aureus*, a diferencia de estudios previos que encontraron *S.epidermidis* como el principal contaminante<sup>(9,10)</sup>. Es indispensable realizar protocolos de asepsia y antisepsia habituales en estos pacientes ya que observamos una reducción del inóculo bacteriano en 79.5% de los pacientes estudiados y se hace necesario un estudio dirigido a evaluar la eficacia de la profilaxis antibiótica preoperatoria en la reducción de la flora normal conjuntival presente en el acto quirúrgico.

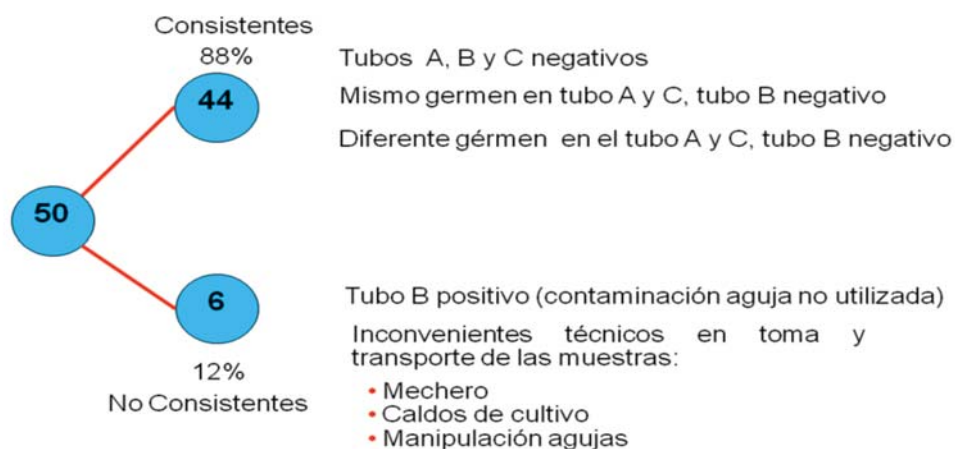
## Conclusiones

*Staphylococcus aureus* fué la bacteria causal más frecuente de contaminación de

la aguja utilizada y *Bacillus subtilis* fué el principal contaminante de agujas no utilizadas. Gérmenes de la flora normal y bacterias contaminantes de aguja utilizada pueden ser eventos independientes. El uso de profilaxis

antibiótica previa al procedimiento, reduce significativamente el inóculo bacteriano. Se requieren nuevos objetos de estudio futuros con muestras más grandes y controlando las fallas técnicas.

## Diagramas



**Diagrama 1.** Distribución de la muestra en pacientes Consistentes y No Consistentes. Los resultados correspondientes a los pacientes no consistentes se relacionaron con inconvenientes inherentes al manejo de las muestras que ocasionaron contaminación de la aguja no utilizada.

## Tablas

CRECIMIENTO DE 5 BACTERIAS DE LA FLORA NORMAL
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Difteroides</i>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>

**Tabla 1.** Se presentó crecimiento de 5 bacterias de la flora normal en agujas utilizadas.



CRECIMIENTO BACTERIANO EN AGUJAS UTILIZADAS	
BACTERIA	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	10% (5)
<i>Bacillus Subtilis</i>	4% (2)
<i>Difteroides</i>	4% (2)
<b>Total</b>	<b>18% (9)</b>

**Tabla 2.** La tasa de crecimiento bacteriano en agujas utilizadas fué del 18%.

BACTERIAS CONTAMINANTES AGUJAS NO UTILIZADAS	
BACTERIA	FRECUENCIA
<i>Staphylococcus aureus</i>	(1)
<i>Difteroides</i>	(1)
<i>Bacillus subtilis</i>	(3)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(1)

**Tabla 3.** El principal contaminante de agujas no utilizadas fué el *Bacillus subtilis*.

CRECIMIENTO BACTERIANO DE FLORA NORMAL CON CULTIVO NEGATIVO DE AGUJA UTILIZADA	
TUBO A	TUBO C
(Negativo)	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (n=1)
(Negativo)	<i>Staphylococcus aureus</i> (n=5)
(Negativo)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=1)
(Negativo)	<i>Difteroides</i> (n=1)

**Tabla 4.** Gérmenes de la flora normal y bacterias contaminantes de aguja utilizada pueden ser eventos independientes.

PROFILAXIS ANTIBIOTICA	REDUCCION INÓCULO BACTERIANO
Ciprofloxacina 0.3%	54 % (27) negativo 16 % (8) germen de la flora normal, aguja negativa
<b>Total</b>	<b>79.5% (35)</b>

**Tabla 5.** El uso de profilaxis antibiótica previa al procedimiento redujo el inóculo bacteriano de las agujas utilizadas en 79.5% en los pacientes estudiados.

## Figuras

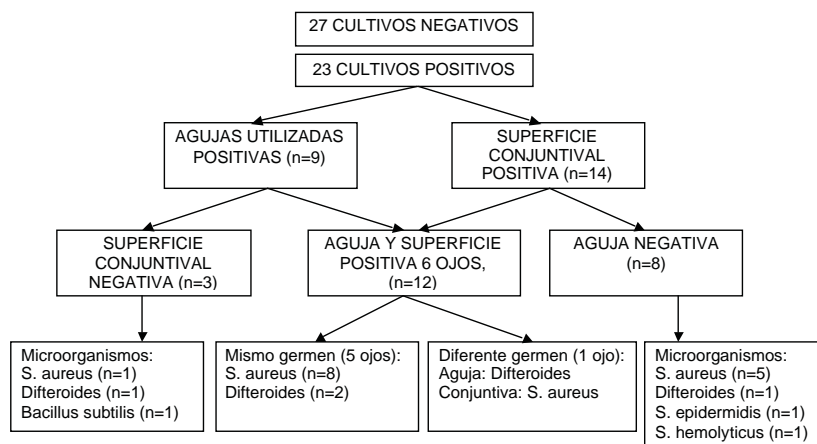


Figura 1.

## Bibliografía

- Congdon N, O'Colmain B, Klaver CCW, Klein R, Muñoz B, Friedman DS, et al. Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. *Arch. Ophthalmol.* abril de 2004;122(4):477-85.
- Klein BE, Klein R. Cataracts and macular degeneration in older Americans. *Arch. Ophthalmol.* abril de 1982;100(4):571-3.
- Ghafour IM, Allan D, Foulds WS. Common causes of blindness and visual handicap in the west of Scotland. *Br J Ophthalmol.* abril de 1983;67(4):209-13.
- Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, Kocur I, Pararajasegaram R, Pokharel GP, et al. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull. World Health Organ.* noviembre de 2004;82(11):844-51.
- Diago T, McCannel CA, Bakri SJ, Pulido JS, Edwards AO, Pach JM. Infectious endophthalmitis after intravitreal injection of antiangiogenic agents. *Retina (Philadelphia, Pa.).* mayo de 2009;29(5):601-5.
- Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N. Engl. J. Med.* 5 de octubre de 2006;355(14):1419-31.
- Kaiser PK, Brown DM, Zhang K, Hudson HL, Holz FG, Shapiro H, et al. Ranibizumab for predominantly classic neovascular age-related macular degeneration: subgroup analysis of first-year ANCHOR results. *Am. J. Ophthalmol.* diciembre de 2007;144(6):850-7.
- Jager RD, Aiello LP, Patel SC, Cunningham ET Jr. Risks of intravitreal injection: a comprehensive review. *Retina (Philadelphia, Pa.).* octubre de 2004;24(5):676-98.
- De Caro JJ, Ta CN, Ho H-KV, Cabael L, Hu N, Sanislo SR, et al. Bacterial contamination of ocular surface and needles in patients undergoing intravitreal injections. *Retina (Philadelphia, Pa.).* junio de 2008;28(6):877-83.
- Nentwich M, Yactayo-Miranda Y, Weimann S, Froehlich S, Wolf A, Kampik A, et al. Bacterial contamination of needle points after intravitreal injection. *Eur J Ophthalmol.* abril de 2009;19(2):268-72.
- Stewart JM, Srivastava SK, Fung AE, Mahmoud TH, Telander DG, Hariprasad SM, et al. Bacterial contamination of needles used for intravitreal injections: a prospective, multicenter study. *Ocul. Immunol. Inflamm.* febrero de 2011;19(1):32-8.
- Carnevale K SG. Prospective Investigation of Intravitreal Injection Needles Cultured Immediately Following Injection of Avastin and Lucentis. *Retina Congress.* 2009;(New York).
- Fintak DR et al: Incidence of endophthalmitis related to intravitreal injection of Bevacizumab and Ranibizumab. *Retina - Journal of Retinal and Vitreous Diseases.* 2008 Dec 28,10: 1395-99