

1-1-2017

Actividad antimicrobiana de extractos de plantas colombianas frente a bacterias aisladas de pacientes con conjuntivitis bacteriana y blefarconjuntivitis

Granados Flórez
Universidad de La Salle

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/optometria>

Citación recomendada

Granados Flórez. (2017). Actividad antimicrobiana de extractos de plantas colombianas frente a bacterias aisladas de pacientes con conjuntivitis bacteriana y blefarconjuntivitis. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/optometria/250>

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias de la Salud at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Optometría by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE PLANTAS
COLOMBIANAS FRENTE A BACTERIAS AISLADAS DE PACIENTES CON
CONJUNTIVITIS BACTERIANA Y BLEFAROCONJUNTIVITIS**

JULIANA GRANADOS FLÓREZ

Cod: 50132014

AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN

DIRECTORA

MARTHA FABIOLA RODRÍGUEZ ÁLVAREZ

BACTERIOLOGA, MSc

MODALIDAD DE GRADO: PARTICIPACIÓN EN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

***ETNOMEDICINA UNA ALTERNATIVA EN LA SELECCIÓN DE PLANTAS
COLOMBIANAS Y SU RELACION CON LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL *in vitro****

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VISION

BOGOTÁ, 2017

Nota de aceptación:

Jurado 1:

Jurado 2:

Bogotá, octubre 19/17

DEDICATORIA

Este proyecto va dedicado a mis amados padres, por su acompañamiento, paciencia y colaboración incondicional, por su apoyo económico y laboral. Los amo.

AGRADECIMIENTOS

Primero que todo gracias a Dios por permitirme culminar este proyecto, por ponerme las oportunidades para resolver mis dudas y problemas en este proceso cuando más lo necesitaba; a mi directora de grado por la paciencia, la escucha, la entrega, los consejos y por siempre estar dispuesta a colaborarme a pesar de las circunstancias.

Gracias a mis padres y a mi novio, porque sin ellos esto no habría sido posible, gracias por respaldarme, llenarme de apoyo cuando más difícil veía la situación, por guiarme, escucharme y aconsejarme durante este proceso.

Gracias infinitas.

TABLA DE CONTENIDIO

	Pág.
NOTA DE ACEPTACIÓN.....	1
DEDICATORIA.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS.....	5
LISTA DE FIGURAS.....	5
RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
MARCO TEÓRICO.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN.....	21
CONCLUSIONES.....	23
REFERENCIAS	
BIBLIOGRÁFICAS.....	24
ANEXOS.....	27

LISTA DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. Microorganismos aislados.....	18
TABLA 2. Actividad antimicrobiana de ocho extractos de plantas frente a catorce cepas bacterianas aisladas.....	19
TABLA 3. Dos extractos etanólicos y su actividad antimicrobiana frente a cinco especies de bacterias aisladas.....	20

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana de las cepas de <i>Staphylococcus</i>	18
Figura 2: Porcentaje de resistencia antimicrobiana de las cepas de <i>Staphylococcus</i>	19

RESUMEN:

Las bacterias causantes de la conjuntivitis, blefaritis y blefaroconjuntivitis, como *S. aureus*, en *S. epidermidis* han presentado resistencia significativa a la meticilina, fluoroquinolonas y aminoglucocidos después de exposiciones repetidas al medicamento, por lo cual en la actualidad se buscan alternativas naturales para el tratamiento para las infecciones bacterianas del segmento. **OBJETIVO:** Determinar la actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas frente a bacterias aisladas de pacientes con conjuntivitis y blefaroconjuntivitis bacteriana, como anterior. **METODOLOGÍA:** Se tomaron muestras de secreción y o escamas, de 15 pacientes con conjuntivitis y blefaritis. Se cultivaron en agar sangre y chocolate durante 24 horas a 37°C. Se identificaron las colonias con coloración de Gram y se realizó repique de la colonia en agar tripticasa de soya. Las colonias aisladas se identificaron por el sistema automatizado VITEK. Se realizó antibiograma y las pruebas de actividad antimicrobiana con los extractos de plantas. Se utilizaron 8 extractos de: Albahaca, sauco, belladona, caléndula, Achiote (aéreo), poleo, laurel y fruto achiote, **RESULTADOS:** Las bacterias más frecuentes aisladas fueron *S. epidermidis*; El 100% de las cepas fueron resistentes a Ampicilina y la mayor susceptibilidad fue frente a la Ciprofloxacina, De todos los extractos de plantas analizados, la albahaca y el laurel presentaron 100% de actividad antimicrobiana frente a las cepas aisladas. **CONCLUSIONES:** Los extractos etanólicos de Albahaca y laurel pueden servir como alternativa de tratamiento tópico de las infecciones del segmento anterior gracias a la gran actividad antimicrobiana demostrada en el presente estudio, se requiere ampliar el número de bacterias para corroborar los presentes resultados.

PALABRAS CLAVE: Conjuntivitis, *S. aureus*, *S. epidermidis*, extracto de plantas, antimicrobiano

INTRODUCCIÓN

La resistencia antibiótica puede ser natural o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. La resistencia adquirida generalmente se da por mecanismo de recombinación, y conlleva al fracaso terapéutico cuando se utiliza un antibiótico activo sobre el germen que produce la infección.¹

El reporte del grupo de Monitoreo de la Resistencia Antimicrobiana de los Microorganismos aislados de infecciones Oculares (ARMOR) en USA “Results from the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular microorganisms” mostró que un gran porcentaje de cepas de *S. aureus* (46,5%) y *Staphylococcus coagulasa* negativa (58,3%) aislados de infecciones oculares son resistentes a la oxacilina, azitromicina, o fluoroquinolonas.² La resistencia a los antibióticos se debe, en gran parte a que en los tejidos oculares, no se realiza cultivos microbiológicos para identificación de los microorganismos causantes de las infecciones ni el antibiograma respectivo, suelen variar con el tiempo y el área geográfica debido al cambio de los patrones de prescripción, a la disponibilidad de antibióticos en cada área y al desarrollo de mecanismos de adaptación que se traduce finalmente en resistencia antibiótica.³

También la venta inadecuada de los antibióticos, el mal uso y manejo incrementa los problemas de resistencia; otras investigaciones también han reportado un alto porcentaje de cepas de *S.aureus* resistentes a metilina, azitromicina y ciprofloxacina principalmente.⁴ Además de los patógenos oportunistas, más del 50% de *Staphylococcus coagulasa* negativos fueron metilino resistentes y más del 60% de estas bacterias también tienen resistencia a azitromicina y ciprofloxacina^{4,5,6}

El incremento de *S. aureus* metilino resistentes se ha reportado en un 12.1% del año 2000 al 2005.⁷ El comportamiento del *S. epidermidis* muestra que los ojos

tratados presentan en un 71% resistencia a 5 o más antibióticos en comparación con el 48% de los *Staphylococcus* de los ojos no tratados ^{8,9}

Las bacterias Gram negativas presentan una resistencia a distintos antibióticos, entre estos se destacan la moxifloxacina con un 8,3%, la ciprofloxacina con un 18,2% y la tobramicina con un 27,3%; Los *Staphylococcus* coagulasa negativo presentan resistencia frente a la gatifloxacina en un 76% identificados en procedimientos aislados y en administraciones directas con posteriores cultivos se evidencia un 38%. ^{10,11,12}

La resistencia que se presenta con los antibióticos, ha llevado a que se busquen alternativas de tratamiento, principalmente para infecciones autolimitadas y de tratamiento tópico; Las plantas medicinales, se han utilizado ampliamente de manera empírica para alivio de síntomas y cura de enfermedades infecciosas; es una alternativa muy buena, con baja toxicidad y bajos efectos secundarios, sin embargo hace falta investigaciones que se centren en alternativas de medicina natural con valoraciones científicas, por esto es importante que los estudios se expandan. ¹³

Por otro lado, en el ámbito no científico las tribus y aldeas a nivel mundial destacan plantas como la cola de caballo, el tabaco y la hoja santa las cuales presentan ayuda de tipo medicinal tanto para humanos como animales, ya sea antiinflamatorio, antiinfeccioso, diurético, entre otros; o simplemente utilizados para repeler plagas. ¹³ Con esto se puede dar camino abierto para valorar las plantas que se pueden usar como medicamentos naturales y sus funciones como una alternativa sana y poco tóxica. ^{13,14}

En Colombia el “Vademécum de Plantas Medicinales”, recopila la información de las plantas originarias del país, como guaba, ají, achote, apio, ajo, albahaca, cola de caballo, entre otras; el libro describe sus propiedades medicinales y farmacológicas, las partes de las plantas que se toman y sus usos populares; es un documento avalado por el Ministerio de la Protección Social de Colombia en el año 2008, resultado de un proceso que se inició en el año 2004. ¹⁵

En el Vademécum de plantas de Colombia se obtiene información sobre 95 especies vegetales incluidas en el “Listado de Plantas Medicinales Aprobadas con Fines Terapéuticos” del Instituto Nacional de Vigilancia de Alimentos y Medicamentos, INVIMA.; de igual manera se encuentran 24 especies vegetales que destacan para usos medicinales e industriales con lo cual fue posible su aprobación por parte del citado Instituto.¹⁵

La resistencia a los antibióticos y el mal uso de los mismos es un problema que afecta a toda la población, por esto el propósito de este proyecto fue evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas frente a bacterias aisladas de pacientes con conjuntivitis y blefaroconjuntivitis bacteriana que pueda en un futuro ser utilizadas como alternativas en el tratamiento topico de las infecciones del segmento anterior del ojo.

MARCO TEÓRICO

La conjuntivitis bacteriana es un proceso infeccioso a nivel ocular y constituye el 10% de las conjuntivitis, en esta patología se debe sospechar y tener en cuenta si los pacientes presentan una inflamación conjuntival marcada y secreción purulenta, si presenta una progresión rápida (menos de 24 horas), quemosis, edema palpebral y formación de membranas.¹⁶

Suele cursar con queratitis en un 15% a un 40% de los casos, la cual se caracteriza por defectos epiteliales, úlceras corneales periféricas con progresión, afecta a la conjuntiva inferior y produce infiltrados corneales; se inicia de forma unilateral con irritación, lagrimeo y secreción mucopurulenta, se vuelve bilateral en un lapso de 24 a 48 horas.^{16,17}

Los agentes etiológicos más frecuentes de las conjuntivitis bacterianas son *Staphylococcus aureus* en un rango de 7% a 36% de causalidad y este puede progresar en blefaroconjuntivitis; el *Streptococcus pneumoniae* del 5% a 31%;

Haemophilus influenzae es la causa de aproximadamente el 45% de las conjuntivitis más severas; *Staphylococcus epidermidis* es el patógeno oportunista de la flora normal del ojo que más frecuentemente (48% a 50%), causa infecciones externas cuando el tejido involucrado sufre un cambio en su estructura, su fisiología o su bioquímica.^{18,19,20}

De igual manera se ha evidenciado especies atípicas que generan patologías oculares oportunistas, entre estas especies: *S. hominis*, *S. alloiococcus otitis* y *S. warneri* pertenecientes a la flora de la piel y mucosas de los humanos^{18,19,20}

Las complicaciones de la conjuntivitis bacteriana desencadenan la blefaritis y la blefaroconjuntivitis; se presenta con párpados inflamados, acúmulo de escamas en el borde anterior del párpado las cuales tienen aspecto duro; en los casos crónicos hay presencia de ulceración, madarosis y triquiasis; hipertrofia papilar y folicular en conjuntiva que se caracteriza por ser leve a moderada, esto puede ocasionar daños sobre toda la superficie ocular gracias a su principal causante el *Staphylococcus*^{21,22}

La resistencia antimicrobiana es el fenómeno o mecanismo por el cual un microorganismo deja de ser afectado por un antimicrobiano al cual era sensible anteriormente, por eso esto se presenta la capacidad que tienen los microorganismos (virus, hongos, bacterias o parásitos) para contrarrestar el efecto de los medicamentos, como lo son los antibióticos.²²

La resistencia se da porque el microorganismo muta o adquiere el gen de resistencia mediante el material genético volviéndolas así farmacorresistentes; con esto se caracterizan los patógenos que muestran resistencia a los antibióticos con el fin de guiar y promover la investigación y el desarrollo de nuevos antibióticos u otras alternativas terapéuticas para combatir el gran problema de la resistencia a los antimicrobianos.²²

Los patógenos clasificados en categoría elevada son: *Staphylococcus aureus*, resistente a la meticilina, con sensibilidad intermedia y resistente a la vancomicina; *Helicobacter Pylori*, resistente a la claritromicina; *Salmonellae*, resistente a las

fluoroquinolonas; *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a las fluoroquinolonas y cefalosporinas.²²

Estos son datos proporcionados por la OMS en el presente año, donde se destaca la gran preocupación y necesidad de apresurar la solución a este problema para luchar contra la resistencia, teniendo en cuenta una mejor prevención de las infecciones y una terapéutica apropiada con los antibióticos, junto con el uso de cualquier antibiótico nuevo que se pueda presentar en el futuro.²²

Una alternativa para combatir las infecciones son las plantas medicinales, se encuentran propiedades antimicrobianas por parte de los frutos, las hojas o tallos, generando efectos benéficos y con poca gravedad a los humanos.²³

Los compuestos que presentan actividad antimicrobiana es decir, son utilizados como antibióticos, son los sulfurados los cuales se encuentran en la cebolla, el ajo o el rábano y los cumarínicos presentes en la avena²³

Cada principio activo presenta en su mayoría propiedades antiinflamatorias, antipiréticas, desintoxicantes, bactericidas, cicatrizantes, entre otras; llevando a que las irritaciones mucosas sean las mayormente tratadas.²³

En un estudio realizado en el 2012 por Corzo, se evaluó la actividad antimicrobiana de los diferentes órganos de la especie *Cestrum buxifolium* Kunt, frente a *Escherichia coli*, *Pseudomelia aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, por la técnica de difusión en disco; el extracto etanólico de los frutos y hojas de *C. buxifolium* inhiben el crecimiento de *E. coli* en concentraciones de 30 mg/ml.²⁴

Los extractos etanólicos de frutos y tallos inhiben el crecimiento frente a *Pseudomona aeruginosa*, en la misma concentración, con respecto al control positivo; ninguno de los extractos evaluados presentó inhibición frente *Staphylococcus aureus*.²⁴

El estudio titulado “Evidencia del uso de plantas medicinales en infecciones oculares” que se basó en una revisión bibliográfica encontró que las utilidades de

las plantas medicinales farmacoterapéuticas oculares son comúnmente el aloe vera, el ajo, el sándalo, entre otras; las cuales muestran efectividad en el manejo de la conjuntivitis y blefaritis producidas por *Staphylococcus aureus*, el ojo seco, queratitis y prurito. ²⁵

Se ha propuesto el uso de especies vegetales presentes en el ecosistema como desinfectantes en las úlceras y otras enfermedades epidérmicas, sin embargo hasta el momento no se tiene suficiente soporte científico que valide su uso, por lo tanto es importante seguir realizando investigaciones al respecto como en el estudio realizado por Ramírez, J en el 2015 donde investigó sobre el sauco y encontró que a nivel ocular tiene algunos efectos positivos como el manejo de conjuntivitis, pero no presenta resultados contundentes. ²⁶

Los tallos, los frutos, las hojas o las raíces de las plantas presentan principios activos los cuales alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistema humano y animal donde se destacan los aceites esenciales, los alcaloides o los glucósidos o gomas; de igual manera hay presencia de vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos y fibras que realizan la modificación o actividades antimicrobianas, dependiendo de cada planta. ²⁷

Se realizan 16 encuestas a vendedores de plantas medicinales en el estudio realizado por Giraldo, S. Bernal, M et al en el año 2015, donde hubo evidencia de la venta en mayor medida de caléndula, manzanilla y albahaca pero con ausencia de conocimiento por parte de los vendedores frente a los efectos secundarios que estas presentan junto con su preparación, pero sí de sus propiedades medicinales y erradicación de patógenos y alivio de síntomas. ²⁸

En este estudio se incluyeron las siguientes plantas, seleccionadas previamente en una encuesta etnomedicinal (publicación en proceso) (tabla 1)

Tabla 1. Plantas que crecen y se utilizan popularmente en Colombia para el tratamiento de enfermedades infecciosas

Nombre científico	Nombre común	Propiedades
<i>Sambucus</i>	Sauco	Contiene ácidos orgánicos, alcaloides, azúcar, abundante vitamina C. Tiene efectos positivos frente a gripe, alergias. Se debe tener cuidado ya que si no se manipulan las partes exactas puede presentarse toxicidad. ²⁷
<i>Calendula officinalis, L</i>	Caléndula	Posee propiedades para desinflamar, desinfectar y mejorar el tiempo de cicatrización de las heridas, se utilizan las flores como parte medicinal y si se almacena por más de un año pierde propiedades medicinales. ²⁷
<i>Atropa Belladonna</i>	Belladona	Se utiliza a nivel ocular como midriático, antiespasmódico y antialérgico. Se debe tener en cuenta que la mala manipulación de esta puede provocar toxicidad severa. ²⁷
<i>Bixa Orellana</i>	Achiote	Sirve como antibiótico, antioxidante, antiinflamatorio, cicatrizante. Se pueden utilizar las hojas y las ramas para realizar los preparados medicinales. ²⁷
<i>Mentha Pulegium</i>	Poleo	Posee propiedades antibacterianas, cicatrización, antipiréticas, calma el prurito. Se utilizan las hojas y los tallos para elaborar los preparados medicinales. ²⁷
<i>Laurus nobilis</i>	Laurel	Tiene propiedades antiespasmódicas, antiinflamatorias y en algunos casos es utilizada como antibiótica, se utilizan sus hojas para preparados medicinales. ²⁷
<i>Ocimum basilicum</i>	Albahaca	Tiene propiedades antisépticas, analgésicas, cicatrizantes, activa el sistema inmunitario. Se utilizan las hojas para preparados medicinales. ²⁷

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: ensayo in vitro para determinar actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas frente a las bacterias aisladas e identificadas. Se realizó un estudio piloto El presente trabajo hace parte del proyecto ***Etnomedicina una alternativa en la selección de plantas colombianas y su relación con la actividad antibacterial in vitro, aprobado y avalado por el CISVI y la VRIT.*** Se realizó un estudio piloto para obtener, el aislamiento de las cepas de pacientes con conjuntivitis y blefaroconjuntivitis.

Población: Adultos hombres y mujeres con impresión diagnóstica de infección bacteriana de la superficie ocular (conjuntivitis, blefaroconjuntivitis) proporcionada por el optómetra u oftalmólogo a cargo en el turno que asistieron a la clínica de la Universidad de la Salle de Bogotá, Chapinero.

Muestra: Se evaluaron 15 pacientes a conveniencia adultos hombres y mujeres con impresión diagnóstica de infección bacteriana de la superficie ocular (conjuntivitis, blefaritis, blefaroconjuntivitis).

Criterios de inclusión:

- Pacientes con manifestaciones clínicas de blefaritis y conjuntivitis bacterianas.
- Pacientes con secreción mucopurulenta.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con tratamiento con antibiótico en el momento de la toma de muestra, o que lo haya suspendido en un tiempo inferior a tres días.

Aspectos éticos y recolección de información

Todos los pacientes que se incluyeron en la investigación firmaron un consentimiento aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de la Salle con

el acta de evaluación N° 027 del 16 de noviembre de 2016 donde dan fe de su participación de manera libre y voluntaria, con previa explicación detallada del procedimiento que se realizó y riesgo que esto pudo causar (Anexo N°1).

Extractos de Plantas: Se utilizaron 8 extractos de: Sauco, Caléndula, Belladona, Fruto Achiote, Poleo, Laurel, Albahaca y Achiote previamente evaluados y caracterizados en el proyecto macro como se indica a continuación.

De acuerdo al análisis cuantitativo de la información etnomedicinal se seleccionaron las 4 partes de las plantas que tienen mayor factor de consenso entre informantes, valor de uso y nivel de fidelidad, 500 g de la parte de las plantas seleccionadas se molieron y se secaron en cuarto cerrado a temperatura ambiente. Posteriormente el material se sometió a maceración en frío con etanol al 96% por 8 días y a infusión con agua durante media hora. Las soluciones se concentraron por destilación a presión reducida para obtener los extractos crudos etanólicos y se liofilizaron para obtener los extractos acuosos. Los rendimientos de extracción se calcularon teniendo en cuenta la masa del extracto crudo y el material de partida. Este proceso se realizó por los estudiantes de biología, de acuerdo a los protocolos empleados en el Departamento de Ciencias Básicas de la Universidad de La Salle.

Antibióticos: Se utilizaron 10 antibióticos: eritromicina, oxacilina, cefalotina, gentamicina, tetraciclina, ampicilina, ciprofloxacina, vancomicina, fosfomicina, tobramicina, estreptomina; de acuerdo a la especie identificada para el antibiograma.

Técnicas:

Aislamiento e identificación de género y especie de bacterias:

Se tomaron las muestras con COPAN Venturi Transystem® (Innovation, Italia) (hisopo estéril y medio de transporte Stuart), humedecido con solución salina fisiológica estéril de

la conjuntiva tarsal inferior. Las muestras se transportaron en medio estéril al laboratorio. Allí se cultivaron en agar sangre y chocolate durante 24 horas a 37°C. Se identificaron las colonias con coloración de Gram y se procedió a realizar repique de la colonia en agar tripticasa de soya. Las colonias aisladas se llevaron a una concentración de 1.5×10^8 bacterias/ml (tubo 0.5 Macfarlán) para su identificación por el sistema automatizado VITEK. Se escogieron los dos géneros más frecuentes para realizar el antibiograma y las pruebas de actividad antimicrobiana.

Antibiograma:

Se utilizó el método de Kirby Bauer. Se preparó el agar Mueller - Hinton a partir del reactivo comercial deshidratado y de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Inmediatamente después de autoclavar se dejó enfriar, se vertió el preparado fresco y tibio en cajas de Petri de vidrio, de fondo plano en un nivel, superficie horizontal para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm. El medio de agar se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se guardó en refrigerador (2 - 8° C) y se realizó la prueba de esterilidad.

Se tomaron de 3 a 5 colonias aisladas de los dos géneros escogidos, con ayuda de un escobillón estéril y se re suspendieron en solución salina (0,85%) estéril hasta alcanzar la concentración del tubo 0,5 de la escala de Mac Farland, correspondiente a $1,5 \times 10^8$ UFC/ml, con el densiCHECK plus (BioMerieux). Posteriormente se adicionó 100 ul de la dilución de las bacterias a una caja de agar Mueller Hinton y se sembró de manera masiva. Por caja se colocaron cinco sensidiscos con los respectivos antibióticos (Oxoid), acorde con lo recomendado según el género. Las cajas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, se midieron los halos de inhibición alrededor de los discos y se clasificaron así ²⁹:

- Sensible: Implica que la bacteria puede ser apropiadamente tratada con ese antibiótico con éxito *in vivo*.
- Intermedio: Incluye aislamientos con agentes antimicrobianos con un CIM se aproximan usualmente a nivel de tejido y sangre disponible y para los

cuales su velocidad de respuesta puede ser más lenta que la de los aislamientos susceptibles. Implica eficacia clínica en sitios del cuerpo donde la droga es fisiológicamente concentrada (por ej. quinolonas y β -lactámicos en orina) o cuando una dosis mayor que lo normal de una droga puede ser usada (por ej. β -lactámicos).

- Resistente: Las cepas resistentes no son inhibidas por la concentración sistémica usualmente alcanzable de un agente cuando los esquemas de dosificación normal son usados. Pueden tener CIM que caen dentro del rango donde están disponibles mecanismos de resistencia específicos y la eficacia clínica no ha sido confiable en tratamientos estudiados.

Una vez identificada la susceptibilidad y resistencia a los antibióticos se escogió el antibiótico más efectivo como control positivo, para el ensayo de actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas.

Actividad antimicrobiana de extractos de plantas:

La actividad antimicrobiana de los extractos se ensayó por la técnica la HT-SPOTi. El ensayo de inhibición del crecimiento se adaptó de Danquah et al., 2016. Para lo cual se realizaron en un microplaca de 96 pozos. Previamente, los extractos fueron disueltos en dimetilsulfoxido (DMSO) a una concentración final de 300 mg / L, de la cual se dispensó un volumen de 100uL en cada pocillo de la placa y posterior se adicionó 100 uL de medio BHI con la bacteria a una concentración de $1,5 \times 10^8$ MO/ml. Como controles de crecimiento se utilizaron dimetilsulfoxido, medio solo, y como controles para la inhibición de crecimiento se utilizó antibiótico (ciprofloxacina a 100 mg/mL). Cada uno de los ensayos y controles se realizó por triplicado. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas. Finalizado el tiempo de incubación se adicionó rezarzurina (colorante supra-vital) que cambia de color frente a la cantidad de CO₂ producido durante el metabolismo bacteriano. El color rosado indica viabilidad del cultivo y el color azul que en el pozo no hubo crecimiento bacteriano y por lo tanto hubo inhibición.

Los extractos que presentaron actividad antimicrobiana se les determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), mediante diluciones seriadas iniciando en

½. La CIM se consideró como la concentración más baja de la dilución del extracto ensayado, necesaria para inhibir el crecimiento visible de los microorganismos.

Como controles para las técnicas, se utilizaron las cepas: ATCC® 43300 de SAMR (positiva al gen *mecA*) y ATCC® 25923 SAMS (negativa al gen *mecA*).

Análisis estadístico:

Se determinaron los porcentajes de cada género y especie aislada, así como los porcentajes de especies susceptibles o resistentes a cada uno de los antibióticos analizados junto con observación de crecimiento e inhibición y la CIM de los extractos de plantas.

RESULTADOS

En los 15 pacientes evaluados se encontró en mayor frecuencia y con un porcentaje de 40% (6 pacientes) *S. epidermidis*, seguido por un 27% (4 pacientes) *S. Hom hominis* y por último con un 20% (3 pacientes) *S. aureus*. Los microorganismos con menor frecuencia que se aislaron fueron: *S. alioiococcus otitis* y *S. warneri*. (1 paciente) (figura 1).

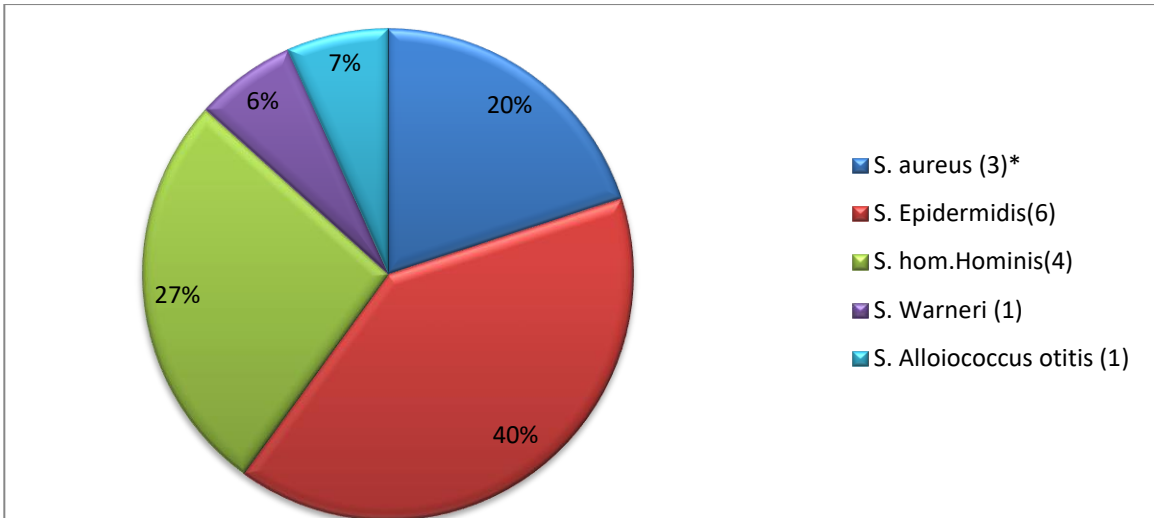


Figura 1. Porcentaje de microorganismos aislados de pacientes con conjuntivitis y blefaritis.

Antibiograma:

La mayor resistencia antimicrobiana presentada por las 15 cepas estudiadas, se presento como era esperado frente a la ampicilina, antibiotico frente al cual la mayoría de cpas de Staphylococcus en el mundo son resistentes. Las cepas estudiadas fueron principalmente resistentes a eritromicina (40%), tetraciclinas (33,3%) y vancomicina (20%) (figura 2).

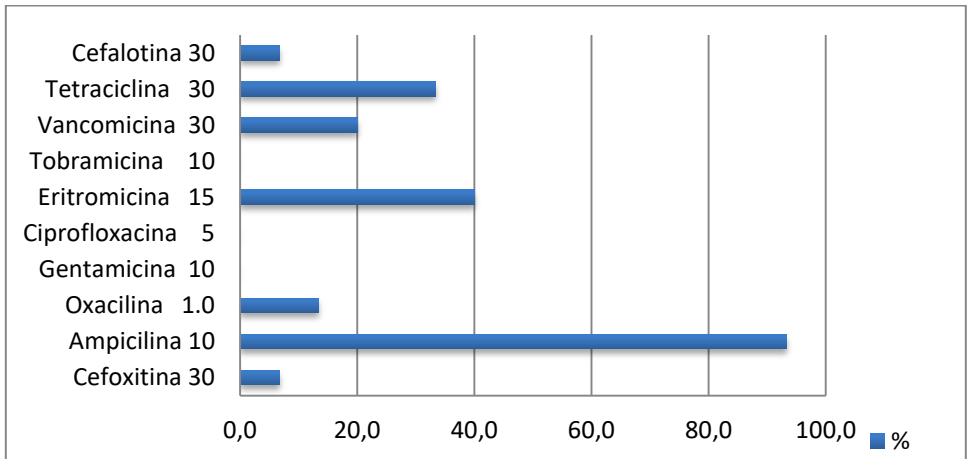


Figura 2. Porcentaje de cepas de Staphylococcus (n:15) aisladas de pacientes con conjuntivitis y blefaroconjuntivias con resistencia antimicrobiana

Teniendo en cuenta cada especie de *Staphylococcus* analizada se encontró que la especie mas resistente fue *S. aureus*, 2 de tres cepas presentaron fenotipo meticilino resistente (SAMR) , así como también se encontro alta resistencia frente a tetraciclinas (66,7%), eritromicina y vancomicina (33,3%). *S. epidermidis* presentó resistencia frente a eritromicina (50%), vancomicina y tetraciclina (33,3%). El mismo porcentaje de *S. hom Hominis* fue resistente a eritromicina y el 25% fue resistente a tetraciclinas. Las otras cepas fueron sensibles a todos los antibioticos analizados excepto ampicilina. (figura 3).

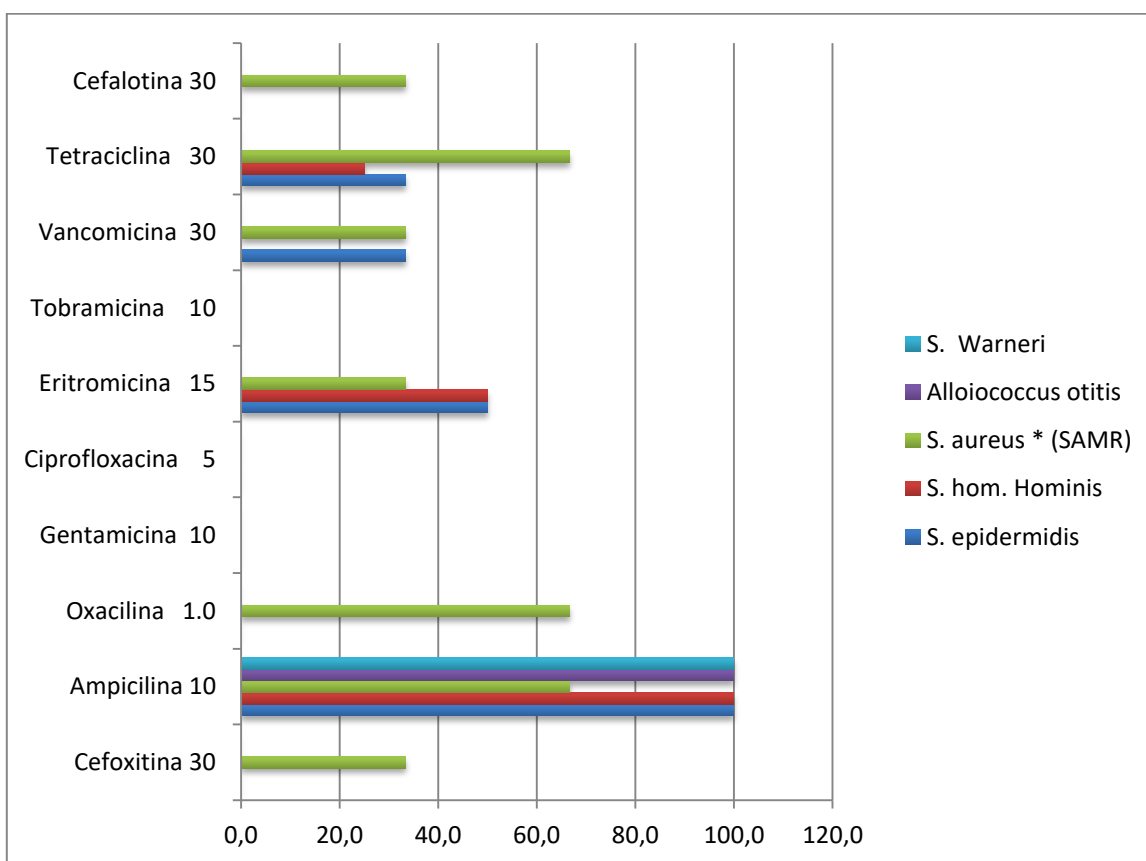


Figura 3: Porcentaje de especies de *Staphylococcus* aisladas de conjuntivitis y blefaritis con resistencia antimicrobiana *SAMR: *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (2/3 cepas)

La actividad antimicrobiana de los extractos de plantas frente a las cepas aisladas se presentó en el siguiente orden: con un espectro de 100% se encuentra el Laurel y la Albahaca, seguida por el Sauco, la Belladona, la caléndula y el Poleo

con un 36% y por último se encuentra el Achiote y el fruto de Achiote con un 21% (Tabla 2)

Tabla 2: Porcentaje de actividad antimicrobiana de ocho extractos de plantas frente a las cepas de bacterias aisladas de pacientes con conjuntivitis y blefaroconjuntivitis.

Cepa	Albahaca n (%)	Sauco n (%)	Belladona n (%)	Caléndula n (%)	Achiote n (%)	Poleo n (%)	Laurel n (%)	Fruto achiote n (%)
<i>S.aureus</i>	3(100%)	1(36%)	1(36%)	1(36%)	0(21%)	1(36%)	3(100%)	0(21%)
<i>S.epidermidis</i>	5(100%)	4(36%)	4(36%)	3(36%)	3(21%)	4(36%)	5(100%)	3(21%)
<i>S.hom.Hominis</i>	4(100%)	1(100%)	0(36%)	1(36%)	0(21%)	0(36%)	4(100%)	0(21%)

De los dos extractos que presentaron 100% de actividad antimicrobiana se determinó la CIM. En la tabla 3 se presentan los resultados obtenidos de las preparaciones de los extractos etanólicos con diferentes concentraciones para determinar la concentración mínima inhibitoria (CIM). Para esta parte del ensayo de las 15 cepas se descartó *S. warneri* y *Aliicoccus otitidis*, por su baja frecuencia.

Tabla 3. CMI de Extractos etanólicos de laurel y albahaca y su frente a cinco especies de bacterias aisladas.

Cepas (n)	EXTRACTOS	
	Laurel mg/ml	Albahaca mg/ml
<i>S. epidermidis</i> (6)	< 0,9	0,9-7,5
<i>S. hom hominis</i> (4)	< 0,9	7,5-15
<i>S. aureus</i> (3)	< 0,9	7,5-15
SAMR ATCC® 43300	< 0,9	15

SAMS ATCC® 25923	1,8	15
------------------	-----	----

Respecto al laurel frente a la mayoría de las cepas analizadas la CMI fue menor a 0,9 mg/ml CIM lo que representa una gran actividad antimicrobiana y respecto a la albahaca hay un promedio entre 0,9 y 15 mg/ml lo cual representa una mayor CMI frente a las bacterias aisladas que el laurel. Los controles tanto la cepa metilino resistente como la metilino sensible fueron inhibidas a concentraciones similares que las aisladas de pacientes con conjuntivitis y blefaroconjuntivitis.

DISCUSIÓN

Los microorganismos más frecuentemente aislados en las conjuntivitis bacteriana y la blefaritis son *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*. En el estudio realizado por Hernández et al en el 2005 reportaron que en la Clínica de Optometría; 43% de los aislados de pacientes con conjuntivitis eran *Staphylococcus epidermidis* demostrando que es el microorganismo con mayor prevalencia junto con el *Staphylococcus aureus* con un 30%. Similar a lo encontrado en este trabajo: (40%) *S. epidermidis*, seguido de *S. hom.hominis*, (27%) y *S. aureus* (20%).²⁰

Los microorganismos mutan o adquieren el gen de resistencia a los antibióticos, por lo que la farmacovigilancia es una etapa de gran importancia para la comercialización de los medicamentos la cual se encarga de la detección, evaluación, comprensión y prevención de los efectos adversos de los fármacos o cualquier otro problema relacionado con ellos, como lo es la venta inadecuada y libre de estos en droguerías o supermercados.³⁰

Los efectos adversos inesperados presentados por los medicamentos por el uso inadecuado pueden ir desde una alergia, consecuencias a nivel neurológico o hasta la muerte.³⁰ Las bacterias aisladas de personas que pertenecen al área de la salud y que trabajan en líneas hospitalarias están presentando cada vez más una resistencia incontrolada frente a los antibióticos por parte de los *Staphylococcus* metilino resistentes en mucosas. En este estudio se encontró 25% de resistencia a la ampicilina por parte de este microorganismo (*SMR), caso contrario en lo encontrado por Eugene en el 2012, ya que evidencia un 50% de resistencia frente a este antibiótico con la misma bacteria^{4,22}.

Por esto es importante que se busquen alternativas medicinales elaborando y valorando estudios y aislamientos para encontrar nuevos medicamentos a base de plantas medicinales con baja toxicidad y suplantando los medicamentos tradicionales a los que ya obtienen una resistencia es bastante marcada, para que

puedan erradicar los microorganismos causantes de las infecciones oculares como los procedimientos realizados en este estudio con las plantas medicinales.²²

Según el estudio realizado por Ozcan, M y Erkmen, O se estipula que los extractos de plantas y su actividad antimicrobiana evidencia que el laurel es un extracto principalmente usado para erradicar cepas de *S. aureus* acompañado de propiedades antiinflamatorias, en una concentración de 1%³¹ relacionándose con este estudio ya que se presenta el uso de una baja concentración puede inhibir el crecimiento de todas las especies de *Staphylococcus*, incluidas las meticilino resistentes.

El laurel presenta actividad antimicrobiana frente a varias especies bacterianas, este actúa inhibiendo la producción de enzimas intracelulares llevando al deterioro de la pared y provocando lisis de la bacteria.³² El estudio realizado en el 2012 por Avello, López, Gatica, et al., evidencia que hay un halo de inhibición leve frente a *S. aureus* con el método de las microplacas lo cual es contrario al resultado dado en este estudio, ya que en este caso la inhibición fue del 100% bajo el mismo método de evaluación, esto puede ser por la manera como los extractos fueron manipulados o bien sea por la calidad del extracto y la capacidad que este tiene para inhibir esta clase de bacteria³²

Las diluciones seriadas son una alternativa para evaluar la actividad antimicrobiana, como se realizó en el presente trabajo. En el estudio de Hernández y Rodríguez en el año 2001 hicieron este método y se evaluó la CIM con un inóculo de 10^5 UFC/ml para *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Escherichia coli*, donde la inhibición por parte de la albahaca es de 8,3 mg/ml para *S. aureus* y 4,19 mg/ml para *S. epidermidis*, lo cual no coincide con los resultados de este estudio ya que son productos más concentrados generado mayor inhibición. Se encuentra controversia y se discute sobre los componentes que se extraen de cada planta y se debe verificar si estos son los causantes de la variabilidad y de igual manera las concentraciones a las cuales son elaborados los ensayos.³³

También se hace referencia a extractos adicionales como orégano, comino, mirto, y la caléndula pues, aunque en el presente estudio no hubo una actividad antimicrobiana significativa, se encontraron resultados en la revisión realizada por Agudelo, M y Baron, J en el 2014 ²⁴ donde la caléndula tiene efectos terapéuticos para infecciones oculares acompañado de propiedades antiinflamatorias; se evaluó un ungüento oftálmico a base de caléndula en ojos de conejos para verificar si causaba irritabilidad, dando como resultado negativo a esta especulación; con ensayos clínicos más amplios de base puede usarse en humanos sin problema alguno. ^{24,32}

Con lo anterior se considera que se deben realizar más estudios que permitan identificar los principios activos de estas plantas y sus potenciales terapéuticos, para que en el caso de los *Staphylococcus* metilino resistente se cree una alternativa medicinal adicional, ya que es importante hacerle seguimiento gracias a que es un patógeno frecuente en el área hospitalaria y la mayoría de las personas en este medio la presentan y cada vez es más difícil verificar un perfil de resistencia llevando a que su eliminación se vea afectada.

CONCLUSIONES

El *S. epidermidis* fue el agente etiológico más frecuente aislado de los pacientes con conjuntivitis y blefaritis bacteriana y hay evidencia de que los extractos de plantas (albahaca y laurel) presentan inhibición del 100% frente a la mayoría de cepas de bacterias aisladas. También hay inhibición por parte de otros extractos como los son belladona o caléndula pero en menor porcentaje, generando así mejor resultado y propuesta medicinal para los que obtuvieron un 100% de eficacia frente a las bacterias aisladas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Vignoli, R. Seija, V. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. Libro: Temas de bacteriología y virología médica. 649-662. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Principalesmecanismosderesistenciaantibiotica.pdf>
- ² Haas, W. Pillar, C. Torres, M. Morris, Sahm, D. Monitoring antibiotic resistance in ocular microorganisms: Results from the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular microorganisms (ARMOR) 2009 surveillance study. American Journal of Ophthalmology. 2011; 152(4): 567-574. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.03.010>
- ³ Organización Mundial de la Salud. [internet]. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. 2011
- ⁴ Eugene, M. Vander, J. Chirag, S. Sunir, G. Changes in Antibiotic Resistance Patterns of Conjunctival Flora Due to Repeated Use of Topical Antibiotics after Intravitreal Injection. AJO. PubMed. 2012; 119 (7).
- ⁵ Dave, S. Hassanai, T. Stephen, K. Changes in Ocular Flora in Eyes Exposed to Ophthalmic Antibiotics. 2013; 120 (5): 937-941.
- ⁶ Hass, W. Pillar, C. Torres, M. Morris, T. Sahm, D. Monitoring antibiotic resistance in Ocular microorganisms: results from the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular Microorganisms (ARMOR). ScienceDirect. 2009; 152 (4): 567-574.
- ⁷ Asbell, P. Sham, D. Shaw, M. Draghi, D. Brown, N. Increasing prevalence of methicilin resistance in serious ocular infections caused by *Staphylococcus aureus* in the United States: 2000 to 2005. PubMed. – Medline. 2008; 34 (5): DOI:10.1016/j.jcrs.2008.01.016.
- ⁸ Dave, S. Hassanai, T. Stephen, K. Ophthalmic Antibiotic Use and Multidrug Resistant *Staphylococcus epidermidis*. Doi:10.1016/j.optha.2011.03.017. PubMed. Ophtha. 2011; 118: 2035-2039.

- ⁹ Cavuoto, K. Zutshi, D. Karp, C. Miller, D. Feuer, W. Update on Bacterial Conjunctivitis in South Florida. ScienceDirect. Ophtha. 2008; 115 (1): 51-56.
- ¹⁰ Hsu, J. Gerstenblith, A. Garg, S. Vander, J. Conjunctival Flora Antibiotic Resistance Patterns After Serial Intravitreal Injections Without Postinjection Topical Antibiotics. ScienceDirect. 2014; 157 (3): 514-518.e 1
- ¹¹ Galvis, V. Tello, A. Guerra, A. Acuña, M. F., & Villarreal, D. Sensibilidad antibiótica de bacterias obtenidas de queratitis e infecciones intraoculares(FOSCAL). Biomédica – SciELO. 2014; 34 (1): 23-33.
- ¹² Dorrepaal, S. Gale, J. Defrawy, S. Sharma, S. Resistance of ocular flora to gatifloxacin in patients undergoing intravitreal injections. ScienceDirect. 2014; 49 (1): 66-71.
- ¹³ Gómez Álvarez Regino. Plantas medicinales en una aldea del estado de Tabasco, México. Rev. fitotec. mex [revista en la Internet]. 2012 Mar [citado 2017 Nov 07] ; 35(1): 43-49. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000100007&lng=es.
- ¹⁴ Hernández, A. Francisco, J. Rodríguez, M. Killinger, C. Plantas medicinales en revistas científicas de Cuba colonial y neocolonial. Habana-Cuba. 2010; 15 (4): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000400001
- ¹⁵ Oras-conhu.org [internet]. Colombia. Ministerio de la Protección Social. Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales. 2008. Disponible en: <http://www.oras-conhu.org/Data/2015911122143.PDF>
- ¹⁶ Álvarez, J. Aspectos epidemiológicos de la conjuntivitis en nuestro medio. Universidad de La Laguna. Facultad de medicina. Departamento de cirugía. 1997. España.
- ¹⁷ Forte, R. Cennamo, G. Del Prete, S. Napolitano, N. Conjuntivitis alérgica e infecciones latentes. 2011-2016. IntraMed-Medicina general. Disponible en: <http://www.intramed.net/contenidoover.asp?contenidoID=64789>

- ¹⁸ Rodríguez, P. Quintero, G. Etiología bacteriana de infecciones oculares externas. *Nova*. 2003; 1 (1): 57-63.
- ¹⁹ Martínez, B. Ruiz, R. Pérez, R. Conjuntivitis bacteriana: patógenos más prevalentes y sensibilidad antibiótica. 2004; 61(1): 33-35.
- ²⁰ Hernández-Rodríguez. P; Quintero de Gaitán, G; Mesa-Lautero, D. et al. PREVALENCIA DE *Staphylococcus epidermidis* Y *Staphylococcus aureus* EN PACIENTES CON CONJUNTIVITIS. 2005; 10(2): Universitas scientiarum, revista de la facultad de ciencias. Bogotá.
- ²¹ Muñoz, M. Complicaciones de la blefaritis. Presentación de caso. *SciELO*. 2016; 15(1): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2016000100010
- ²² Organización Mundial de la Salud. [internet]. Resistencia a los antimicrobianos. Centro de Prensa. 2017. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>
- ²³ Corzo, D. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Cestrum buxifolium* Kunth. Jardín botánico José Celestino Mutis. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 2012; 43 (3): 81-86.
- ²⁴ Agudelo, M. Baron, J. Evidencia del uso de plantas medicinales en infecciones oculares. 2014. 8-31.
- ²⁵ L R. J. B. de K. Medicamentos Herbarios Tradicionales 103 especies vegetales. Chile. 2010. Disponible en: www.kew.org/heritage/people/north.html
- ²⁶ Ramírez, J. Característica, manejo, usos y beneficios del sauco con énfasis en su implementación en sistemas silvopastoriles del trópico alto. 2015. Universidad Nacional de Colombia.
- ²⁷ Fonnegra, R. Jiménez, S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Segunda edición. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín. Apartado 1226. Segundo y tercer anexos. 2007. Editorial udea.

- ²⁸ Giraldo, S. Bernal, M. Morales, A. et al. Descripción del uso de plantas medicinales en mercados populares de Bogotá D,C. 2015. 13 (23). 73-75. Universidad Nacional.
- ²⁹ García, Q. Microbiología: Halos de inhibición. Blog [internet]. 2014. 1-5
- ³⁰ Organización Mundial de la Salud. [internet]. La farmacovigilancia garantía de seguridad en el uso de medicamentos. 2014. 1-6
- ³¹ Ozcan, M; Erkmen, O. Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. 2001; 212: 658-660.
- ³² Avello, M. López, C. Gatica, C. Bustos, E. Brieva, A. Pastene, E. Bittner, M. Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae. Ciudad de la Habana. 2012; 17 (1).
- ³³ Hernández, L. Rodríguez, M. Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. Revista Cubana de plantas medicinales. 2001; (2).

Anexo N°1

ANEXO N.1

**CONSENTIMIENTO INFORMADO
UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD CENTRO DE INVESTIGACIÓN CISVI
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS GRUPO BIOMIGEN**

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE PLANTAS
COLOMBIANAS FRENTE A BACTERIAS AISLADAS DE PACIENTES CON
CONJUNTIVITIS BACTERIANA Y BLEFAROCONJUNTIVITIS**

Apreciado participante le estamos invitando a formar parte de este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado, siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La microbiota (bacterias que se reproducen en un tejido sano sin ocasionar patología) de la conjuntiva se ha estudiado principalmente con técnicas microbiológicas y bioquímicas convencionales, lo cual limita la identificación real en cuanto a diversidad y por lo tanto se desconoce su susceptibilidad microbiana. El presente trabajo de investigación hace parte del macroproyecto titulado *“Etnomedicina una alternativa en la selección de plantas colombianas y su relación con la actividad antibacterial in vitro” que busca a través del conocimiento fotoquímico de las plantas medicinales nuevos antimicrobianos naturales.*

BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Aumentar el conocimiento científico y clínico acerca de la diversidad y susceptibilidad microbiana de la microbiota conjuntival en los jóvenes adultos escolares; este será un estudio base para promover este conocimiento en el país, dado que no se conoce la totalidad de géneros bacterianos saprofitos o patógenos que están presentes en la conjuntiva y si su susceptibilidad microbiana este contribuyendo a la patogénesis de las infecciones oculares. Estos resultados además servirán para que se pruebe *in vitro* la actividad antimicrobiana de los extractos de plantas medicinales, como base científica que ayudará a validar la práctica de la medicina tradicional como patrimonio cultural. Este proyecto no tiene ningún interés económico directo para los investigadores y las instituciones que representa, el único beneficio es de carácter académico.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos, se examinará el segmento anterior del ojo con la lámpara de

hendidura y posteriormente se obtendrá la muestra de la conjuntiva mediante un frotis del fondo del saco conjuntival con un escobillón estéril.

RIESGOS PARA LOS PARTICIPANTES

La obtención de la muestra de la conjuntiva se realizará mediante un frotis del fondo del saco conjuntival con un escobillón estéril, esta prueba es en principio un procedimiento exento de riesgo y sus posibles complicaciones son las mismas que las de cualquier frotis conjuntival, como irritación ocular y lagrimeo. El examen con lámpara de hendidura del segmento anterior no tiene ningún riesgo potencial conocido.

CONFIDENCIALIDAD

La información resultante de su participación es confidencial, los registros serán codificados para la obtención de resultados y en ellos nunca se utilizará su nombre. Este material estará en custodia de los investigadores.

ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.
- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa a este documento.

FORMATO CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____ identificado (a) con cédula de ciudadanía No. _____ de _____ Manifiesto que he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

FIRMA DEL PARTICIPANTE

DECLARACIÓN JURAMENTADA DEL INVESTIGADOR

Yo certifico, que he explicado en forma individual la naturaleza y propósito del estudio, la metodología, los beneficios potenciales y riesgos, además de haber respondido todas las preguntas que han surgido.

FIRMA Y NOMBRE DEL RESPONSABLE DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

INFORMACIÓN DE LOS INVESTIGADORES

Director: MARTHA RODRÍGUEZ	JULIANA GRANADOS FLÓREZ
Bacterióloga MSc, Coinvestigador macroproyecto	Auxiliar de investigación, estudiante Optometría VIII semestre UNISALLE
mafardrodriguez@unisalle.edu.co	gjuliana14@unisalle.edu.co
3488000 Ext 116	3488000 Ext 116

Investigador Principal macroproyecto: LUDY PABÓN	Coinvestigador macroproyecto: PATRICIA HERNÁNDEZ
Química MSc Profesor Asistente UNISALLE	Bióloga, Esp, MSc Profesor Asistente UNISALLE
lupabon@unisalle.edu.co	phernandez@unisalle.edu.co