

Caracterización de la microbiota conjuntival transitoria y residente de adultos jóvenes

Characterization of transient and resident conjunctival microbiota in young adults

VICTORIA MARTIN ALGARRA* ✉

VALERIA JAIMES NIÑO*

MARTHA FABIOLA RODRÍGUEZ**

Recibido: 13-08-2016 / Aceptado: 27-10-2016

RESUMEN

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. Esta diversidad puede variar según las condiciones estacionales, la temperatura, la edad y la exposición ambiental. **Objetivo:** caracterizar la diversidad de la microbiota residente y transitoria de la conjuntiva en adultos jóvenes. **Metodología:** estudio observacional descriptivo de corte transversal en 67 adultos jóvenes, hombres y mujeres entre 18 y 25 años de edad, que cumplieron con los criterios de inclusión y aceptaron firmar el consentimiento informado. A cada sujeto se le tomaron dos muestras del saco conjuntival, con un intervalo de una semana. Estas se cultivaron en agar sangre y agar chocolate a 37 °C por 24 horas. Las colonias aisladas se identificaron mediante el sistema automatizado VITEK. **Resultados:** se determinaron 16 géneros y 29 especies diferentes. El género más frecuente fue *Staphylococcus* (55,6%), seguido de *Acinetobacter* (12,0%), *Bacillus* (7,0%), *Pasterella* (4,6%) y *Escherichia* (3,7%). La microbiota residente estuvo constituida principalmente por el género *Staphylococcus* y sus especies más representativas fueron *S. epidermidis* (50,0%) y *S. lentus* (13,3%). **Conclusión:** existe gran diversidad de bacterias en la microbiota conjuntival, mayor en la microbiota transitoria que en la residente; probablemente, esto depende del ambiente en el que se encuentra el individuo.

Palabras clave: microbiota ocular, VITEK, conjuntiva, patógenos oportunistas.

* Estudiante de último semestre del programa de Optometría, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. Integrante del Centro de Investigación en Salud y Visión (CISVI), Universidad de La Salle.

✉ lmartin32@unisalle.edu.co

** Bacterióloga, MSc en Inmunología. Docente investigador, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. Directora del CISVI, Universidad de La Salle.

ABSTRACT

Ocular microbiota is mainly found in the conjunctiva and consists of bacteria of the genera *Staphylococcus corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *Neisseria* spp., *Moraxella* spp., and *Streptococcus* spp. This diversity may vary according to seasonal conditions, temperature, age, and environmental exposure. **Objective:** To characterize the diversity of resident and transient conjunctival microbiota in young adults. **Methodology:** A cross-sectional observational descriptive study including 67 young adults, men and women between 18 and 25 years of age, who met the inclusion criteria and agreed to sign the informed consent form. Two samples from the conjunctival sac were collected from each subject, with an interval of one week. These were cultured on blood agar and chocolate agar at 37 °C for 24 hours. Isolated colonies were identified using the VITEK automated system. **Results:** Sixteen genera and 29 different species were identified. The most common genus was *Staphylococcus* (55.6%), followed by *Acinetobacter* (12.0%), *Bacillus* (7.0%), *Pasterella* (4.6%) and *Escherichia* (3.7%). Resident microbiota consisted primarily of the genus *Staphylococcus* and its most representative species were *S. epidermidis* (50.0%) and *S. lentus* (13.3%). **Conclusion:** There is a great diversity of bacteria in the conjunctival flora, greater in the transient than in the resident microbiota; this probably depends on the environment in which the individual lives.

Keywords: ocular microbiota, VITEK, conjunctiva, opportunistic pathogens.

INTRODUCCIÓN

La microbiota es la población de microorganismos que habita la piel y las mucosas de las personas sanas (1); principalmente, está constituida por bacterias oportunistas que se caracterizan por su dinámica patógena en diferentes entornos: en algunos causan la enfermedad (determinados hospederos o tejidos) y en otros no (piel y mucosas, animales o ambiente) (2). La mayoría de la microbiota es estable (residente), lo que permite establecer algunos patrones en diferentes sitios; sin embargo, la exposición y las distintas condiciones individuales o colectivas contribuyen a su remarcable diversidad (3).

En el ojo, la microbiota se encuentra esencialmente en los párpados y la conjuntiva, ya que la córnea, gracias a su localización y curvatura, prácticamente está desprovista de microorganismos (4). La conjuntiva es el tejido del ojo más colonizado, sobre todo por bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Corynebacterium* sp., *Propionibacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp. y *Streptococcus* sp. (5,6). El género *Staphylococcus* es el más prevalente en el ojo, con porcentajes que van entre 81,5 y 32,6%, de los cuales las especies más frecuentes son *Staphylococcus coagulasa negativas* (6-9).

La microbiota ocular puede variar de acuerdo con las condiciones estacionales, la temperatura, la exposición ambiental, la higiene y la edad. 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 (4,6,10), y en los niños y adultos los más frecuentes son *Staphylococcus coagulasa negativas*, *Diphtheroides*, *Propionibacterium* y *Streptococcus* —estos últimos se presentan con mayor regularidad en los niños— (6,11,12).

Según la localización, las condiciones climáticas y la actividad, se ha reportado que en la microbiota ocular de sujetos que viven en zonas rurales los microorganismos más comunes en ojos sanos son *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, *Haemophilus* sp., *Pseudomona*, *Actinomyces* sp., *Nocardia* sp. y *Escherichia coli* (13,14).

Como se puede evidenciar, esta población de bacterias es relativamente homogénea en la su-

perficie ocular; sin embargo, nuevos estudios con técnicas moleculares han ampliado la cantidad de géneros y especies que se encuentran en la flora normal de la conjuntiva, incluidos géneros como *Pseudomonas*, *Bradyrhizobium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Aquabacterium* y *Sphingomonas*, habitantes frecuentes del ambiente, el agua y el suelo (15). Estas bacterias, que generalmente forman parte de la microbiota transitoria, tienen poca relevancia siempre que los microorganismos residentes permanezcan, ya que si estos se alteran, los microorganismos transitorios pueden colonizar, proliferar y producir enfermedades; así mismo, su crecimiento depende de factores fisiológicos, como temperatura, humedad y nutrientes (2,16).

La importancia del estudio de la microbiota ocular radica en la frecuencia en la que estos agentes ocasionan infecciones en la superficie ocular (17,18). En Colombia, las investigaciones microbiológicas en los ojos son limitadas, particularmente en infecciones, en las que se ha reportado alta prevalencia de estafilococos coagulasa negativas (77 a 43%), *Corynebacterium* sp. (36 a 5%), *Haemphyllus* sp. (15%) y *Staphylococcus aureus* (32 a 30%) en conjuntivitis (19,20). *S. aureus* es la especie patógena del género *Staphylococcus*; esta se encuentra con cierta frecuencia como parte de la microbiota de la conjuntiva (6-8), la mayoría presentan incremento en la resistencia a antibióticos, independientemente de si se aíslan de infecciones o de la microbiota normal (7-9,18,21-23).

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación es caracterizar los géneros y las especies prevalentes en la conjuntiva de adultos jóvenes sin patología ocular, mediante el sistema automatizado VITEK, para contribuir a la construcción de conocimiento en este campo de la optometría, así como a la generación de futuros proyectos que determinen los patrones de resistencia a los antibióticos de microbiota ocular en nuestro medio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: observacional descriptivo de corte transversal.

Muestra: se seleccionaron 67 adultos jóvenes, hombres y mujeres de 18 a 25 años que cumplieron los criterios de inclusión —segmento anterior del ojo sano— y exclusión —sujetos con enfermedad infecciosa, usuarios de lentes de contacto o con tratamiento antibiótico con un tiempo inferior a tres semanas—. Todos los sujetos incluidos en la investigación firmaron un consentimiento informado después de recibir la explicación del proyecto y de sus riesgos potenciales.

Procedimientos: inicialmente, se efectuó un examen biomicroscópico para evaluar las estructuras oculares y descartar cualquier alteración o patología. Luego, se tomaron dos muestras, con intervalo de una semana, del fondo del saco conjuntival de un solo ojo seleccionado al azar, mediante un hisopo con punta de algodón estéril, humedecido con solución salina fisiológica estéril y sin anestesia tópica.

Cultivo: las muestras se cultivaron en agar sangre y agar chocolate (Oxoid) a 37 °C por 24 horas. Se realizó tinción de Gram a las colonias y repique en agar tripticasa de soya o agar sangre (Oxoid) en las mismas condiciones de temperatura y tiempo.

Identificación microbiológica: las colonias aisladas se suspendieron en 3,0 mL de solución salina estéril al 0,45%, pH 7,0 (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Francia), en un tubo de ensayo de poliestireno transparente de 12 × 75 mm, hasta alcanzar una concentración de $1,5 \times 10^8$ bacterias, correspondiente al tubo n.º 05 de McFarland o según los requerimientos de cada tarjeta. La concentración se determinó a través del VITEK® 2 DensiCHEK™ (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Francia) previamente calibrado. Finalmente, se colocó el tubo con la tarjeta correspondiente en el casete del equipo VITEK® 2 compact (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Francia) para identificar el género

y la especie. Para las bacterias Gram positivas se emplearon las tarjetas VITEK® 2-GP (referencia 21342) y VITEK® 2-BCL (referencia 21342) y para las bacterias Gram negativas, la tarjeta VITEK® 2-GN (referencia 21341).

RESULTADOS

Se analizaron 67 sujetos, estudiantes de pregrado de la Universidad de La Salle, que cumplieron con los criterios de inclusión — todos tenían el segmento anterior ocular sano y ninguno usaba lentes de contacto, ni fármacos tópicos o sistémicos al momento del estudio—. El 47% de los participantes pertenecían al género femenino; la edad promedio de los individuos que participaron fue de 20 años.

Se obtuvo crecimiento de colonias en el 80,6% de los sujetos; así mismo, en 13 participantes (19,4%) no hubo crecimiento en ninguna de las dos tomas, para un total de 113 aislamientos (59 en la primera toma y 54 en la segunda), de los cuales el 4% (5/113) no se identificó; el 54,9% (62/113) eran cocos Gram positivos; el 31,9% (36/113), bacilos Gram negativos, y el 8% (9/113), bacilos Gram positivos.

DIVERSIDAD DE GÉNEROS AISLADOS DE LA CONJUNTIVA

Se identificaron 16 géneros y 29 especies diferentes; en la mayoría de los participantes se determinó un solo tipo de bacteria y únicamente en el 23,9% (16/67) de los casos se registró más de una especie, con un máximo de tres bacterias distintas por ojo. El género más frecuentemente aislado fue *Staphylococcus* (55,6%), seguido de *Acinetobacter* (12,0%), *Bacillus* (7,0%), *Pasterella* (4,6%) y *Escherichia* (3,7%). De acuerdo con el hábitat, el 66,7% de los aislamientos identificados constituyen la microbiota de piel y mucosas, de los cuales el 6,5% forman parte de la familia de *Enterobacteriaceae*; el 25,9% de los géneros se aíslan con mayor frecuencia en el suelo, el aire o el agua y el 7,4% fueron géneros de bacterias zoonóticas (figura 1).

El género *Staphylococcus* fue el que presentó mayor diversidad de especies: los estafilococos coagulasa negativa fueron los más frecuentes (95%), dentro de los cuales *S. epidermidis* fue la especie más representativa (50%); *S. lentus*, la segunda especie más aislada (13,3%), es un patógeno oportunista de la piel y las mucosas de animales que rara vez afecta a los humanos, al igual que

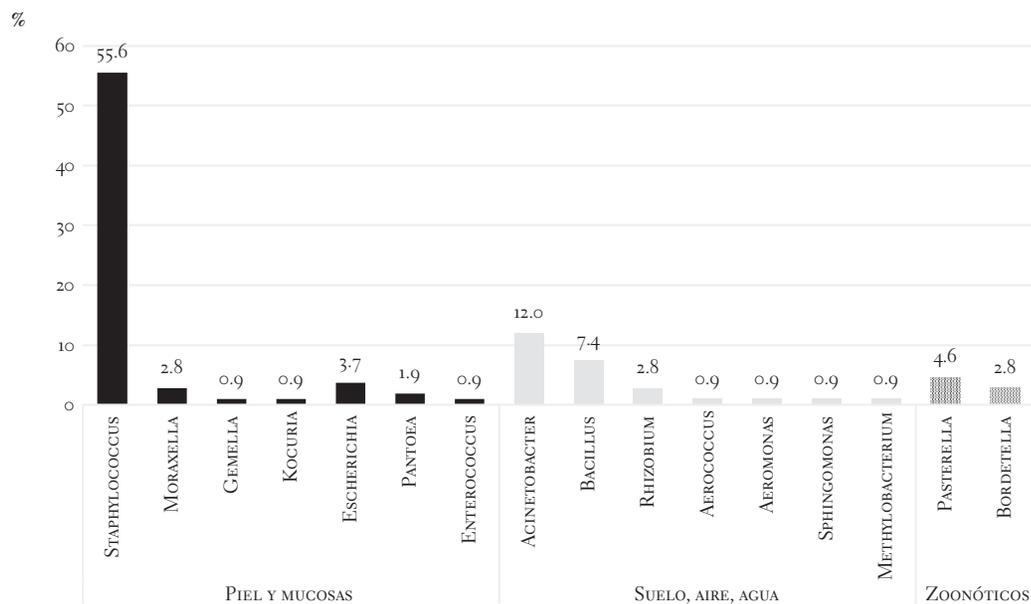


FIGURA 1. Porcentaje de géneros aislados de la conjuntiva de sujetos sin patología ocular, clasificados de acuerdo con el hábitat donde frecuentemente se aíslan

S. caprae (1,7%) y *S. intermedius* (3,3%). La especie patógena *S. aureus* representó el 5% de los aislamientos del género (tabla 1).

TABLA 1. Porcentaje de especies del género *Staphylococcus* aisladas de la conjuntiva de sujetos sin patología ocular

ESPECIES DE STAPHYLOCOCCUS	%
<i>S. coagulasa negativos</i>	95,0
<i>S. epidermidis</i>	50,0
<i>S. lentus</i>	13,3
<i>S. capitis</i>	11,7
<i>S. aureus</i>	5,0
<i>S. warneri</i>	6,7
<i>S. pasteurii</i>	3,3
<i>S. intermedius</i>	3,3
<i>S. auricularis</i>	1,7
<i>S. haemolyticus</i>	1,7
<i>S. hominis</i>	1,7
<i>S. caprae</i>	1,7

MICROBIOTA OCULAR RESIDENTE Y TRANSITORIA

Se consideró microbiota residente a los géneros que se encontraron en las dos muestras del mismo

sujeto: *Staphylococcus* se aisló en 21 sujetos en las dos oportunidades; las especies *S. epidermidis* coincidieron en 11 sujetos; *S. capitis*, en 2 sujetos, y *S. lentus*, *S. intermedius*, *S. warneri*, *S. pasteurii* y *S. aureus*, en un sujeto cada una. Así mismo, *Moraxella lacunata* se identificó en un sujeto en las dos muestras. Del género *Acinetobacter* se determinaron tres especies, *A. baumannii*, *A. iwoffii* y *A. ursingii*, en 11 sujetos; solo en uno se registró el mismo género, pero con diferente especie.

Las otras bacterias identificadas se consideraron transitorias, ya que se aislaron en una sola muestra y con diferente frecuencia. Del género *Bacillus* se encontraron dos especies, *B. cereus* y *B. vallismortis*, en 8 sujetos; *Escherichia coli* se identificó en 4 sujetos en una sola muestra; *Pasterella pneumotropica*, en 5 sujetos; *Rhizobium radiobacter* y *Bordetella bronchiseptica*, en 3 sujetos, y *Pantoea agglomerans*, en 2 sujetos. *Enterococcus faecium*, *Kocuria rosea*, *Gemella bergeri*, *Methylobacterium aquaticum*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Aeromonas salmonicida* y *Aerococcus viridans* se aislaron en una sola muestra en un sujeto (figura 2).

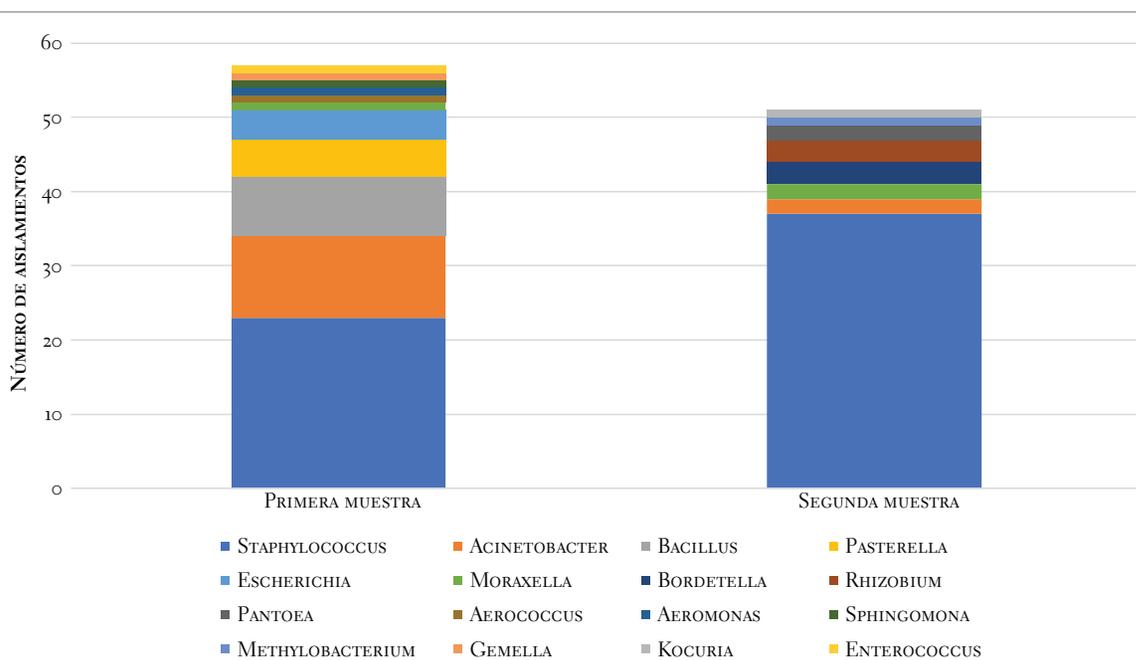


FIGURA 2. Diversidad de géneros de bacterias identificadas en la primera y segunda muestra de la conjuntiva de sujetos sin patología ocular

DISCUSIÓN

Acorde con la literatura científica, las bacterias más frecuentes en la microbiota conjuntival, identificadas mediante el sistema automatizado VITEK, fueron del género *Staphylococcus*, con un porcentaje similar (55,6%) al reportado en varios estudios (9,12,14,24). Los estafilococos coagulasa negativos fueron las bacterias más representativas (95%), dentro de los cuales *S. epidermidis* fue la especie más aislada (50%), junto con otras —*S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. auricularis*, *S. hominis* y *S. capitis*— previamente reportadas en la microbiota conjuntiva (7,24). La alta frecuencia de identificación de este género en las dos muestras de conjuntiva de cada sujeto corrobora que es el principal constituyente de la microbiota residente en el ojo. *S. epidermidis* es la especie más prevalente en la superficie ocular, pero también es la que ocasiona infecciones oculares con más regularidad (17). La bacteria ha desarrollado nuevas variantes al adquirir genes que le confieren resistencia a los antibióticos y la habilidad para producir biopelículas (25,26). En la conjuntiva sana existe una alta prevalencia de *S. epidermidis* formadoras de biopelícula (27), de allí la importancia de su identificación en la microbiota ocular.

S. aureus, la especie patógena del género *Staphylococcus*, es la bacteria predominante en la mayoría de infecciones oculares (28); sin embargo, se presenta con baja frecuencia (1,5 a 14%) en la microbiota conjuntival (7,9,14), como se encontró en el presente estudio (5%). *Moraxella lacunata* es un patógeno oportunista de piel y mucosas que puede ocasionar infecciones invasivas en el ojo; se considera un patógeno importante en la generación de conjuntivitis, queratitis, endoftalmitis y la principal causa de blefaritis en jóvenes (28,29); al igual que *S. aureus*, se ha reportado con baja frecuencia en la conjuntiva sana, similar a nuestros resultados (2,8%). Aunque se aisló solo en dos sujetos, cabe destacar que en uno de ellos ocurrió en las dos muestras, lo que indica que forma parte de la microbiota residente en este individuo.

S. intermedius, *S. pasteurii*, *S. lentus* y *S. caprae*, cuatro especies aisladas del género *Staphylococcus*, se asocian a la microbiota animal (cabras, ovejas, gatos y bovinos) y a la contaminación de productos lácteos; rara vez estas especies se obtienen de muestras humanas (30,31). Otras dos especies zoonóticas identificadas en la conjuntiva fueron *Bordetella bronchiseptica* (cerdos y perros) y *Paterella pneumotropica* (ratas y ratones). La presencia de estas bacterias puede deberse, en parte, a que el 55% de los participantes eran estudiantes de medicina veterinaria o a la convivencia con mascotas (dato que no se analizó en este estudio); sin embargo, estas bacterias se clasificaron como flora transitoria, ya que solo se aislaron en una muestra de cada sujeto. La convivencia con animales y la actividad que desempeñan los individuos incrementa la diversidad y la cantidad del microbioma ambiental, que probablemente incide en la comunidad de bacterias que forman parte de la flora normal de piel y mucosas (32,33).

A través del sistema automatizado VITEK se identificó mayor diversidad en la microbiota conjuntival que en los estudios que utilizan métodos microbiológicos convencionales: se registraron 29 especies de bacterias, de las cuales solo diez se reportan ampliamente en la literatura. Con sorpresa, se halló que muchos de estos patógenos oportunistas son usuales habitantes de la microbiota gastrointestinal —*E. coli*, *Enterococcus faecium*, *Pantoea agglomerans* y *Gemella bergeri*— y el ambiente (agua y suelo) —*Acinetobacter* (*A. baumannii*, *A. iwoffii* y *A. ursingii*), *Bacillus* (*B. cereus* y *B. vallismortis*), *Sphingomonas paucimobilis*, *Aeromonas salmonicida*, *Aerococcus viridans*, *Methylobacterium aquaticum* y *Rhizobium radiobacter*—. Las bacterias de la microbiota intestinal se han reportado con cierta frecuencia en la conjuntiva humana, especialmente *E. coli* (8,14,34); el origen de estas bacterias en la conjuntiva puede deberse a autocontagio o malos hábitos de higiene.

La importancia del ambiente en la interacción y constitución del microbioma humano se observa en su gran diversidad, reportada en la actualidad

mediante técnicas moleculares. El concepto de microbioma núcleo y variable puede compararse con el de flora residente y transitoria; este último depende en mayor medida de otros factores, como los ambientales (35). Las bacterias *Bacillus*, *Aeromonas*, *Sphingomona*, *Aerococcus*, *Methylobacterium* y *Rhizobium*, identificadas en esta investigación, se encuentran habitualmente en el suelo, el agua, el aire y en ambientes *indoor* (16,36); estos son patógenos oportunistas en individuos inmuno-comprometidos y su presencia en la mayoría de los casos reportados es nosocomial. Estos géneros solo se han identificado en la microbiota humana con técnicas moleculares: en la piel se han registrado *Sphingomona*, *Aeromona* y *Rhizobium* (37) y en la conjuntiva, *Bradyrhizobium*, *Sphingomona* y *Methylobacterium* (15). *Bacillus* y *Acinetobacter* se han reportado en la conjuntiva sana con baja frecuencia a través de métodos microbiológicos convencionales (6). En este estudio se identificó *Acinetobacter* en el 13% de los aislamientos; similar porcentaje solo ha sido reportado por investigadores que usan técnicas moleculares (15). Este género comprende un conjunto de patógenos oportunistas, especialmente la *A. baumannii*, importantes en infecciones nosocomiales por presentar multiresistencia antibiótica (38).

Con excepción de *Acinetobacter*, todas las bacterias de origen ambiental se clasificaron como microbiota transitoria. La conjuntiva puede albergar cierta cantidad de microorganismos que proceden de la piel o del ambiente, pero el flujo lagrimal efectúa un continuo barrido de las partículas que se depositan en la conjuntiva; así mismo, las proteínas como la inmunoglobulina A (IgA), las enzimas y los péptidos antimicrobianos impiden la colonización permanente de la mayoría de bacterias (39). En consecuencia, estos microorganismos colonizan de forma intermitente durante horas, días o semanas y varían de un ser humano a otro.

Los resultados de esta investigación corroboran la diversidad de la microbiota conjuntival, principalmente de la microbiota transitoria; no obstante,

son necesarios más estudios para determinar cuál es el papel de estos microorganismos en la salud y enfermedad de la superficie ocular y cuál es su susceptibilidad y resistencia a los antibióticos.

REFERENCIAS

1. Proctor LM. The National Institutes of Health Human Microbiome Project. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2016;21(6):368-72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2016.05.002>
2. Brown SP, Cornforth DM, Mideo N. Evolution of virulence in opportunistic pathogens: Generalism, plasticity, and control. *Trends Microbiol* [Internet]. 2012;20(7):336-42. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2012.04.005>
3. Parfrey LW, Knight R. Spatial and temporal variability of the human microbiota. *Clin Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2012;18(Supl 4):8-11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03861.x>
4. Osato M. Normal ocular flora. En: Pepouse J, Holland G, Wilhelmus K, eds. *Ocular infection and immunity*. 2ª ed. San Luis (Estados Unidos): Mosby; 1996. p. 191-231.
5. Smith CH. Bacteriology of the healthy conjunctiva. *Br J Ophthalmol*. 1954;38:719-26.
6. Willcox MDP. Characterization of the normal microbiota of the ocular surface. *Exp Eye Res* [Internet]. 2013;117:99-105. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exer.2013.06.003>
7. Hsu HY, Lind JT, Tseng L, Miller D. Ocular flora and their antibiotic resistance patterns in the midwest: A prospective study of patients undergoing cataract surgery. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2013;155(1):36-44. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2012.06.024>
8. Barría F, Chabouty H, Moreno R, Ortiz F. Microbiota conjuntival en el preoperatorio de pacientes que se someterán a cirugía de cataratas. *Rev Chil Infectol*. 2015;32(2):150-7.
9. Dorrepaal SJ, Gale J, El-Defrawy S, Sharma S. Resistance of ocular flora to gatifloxacin in patients undergoing intravitreal injections. *Can J Ophthalmol* [Internet]. 2014;49(1):66-71. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cjco.2013.09.008>
10. Endriss D, Brandt CT, Castro CM de, Oliveira VF, Diniz Mde F. [Conjunctival microbiota and antibiotics resistance in preterm newborns hospitalized in neonatal intensive care unit]. *Arq Bras Oftalmol* [Internet]. 2009;72(3):291-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19668955>
11. Singer TR, Isenberg SJ, Apt L. Conjunctival anaerobic and aerobic bacterial flora in paediatric versus adult

- subjects. *Br J Ophthalmol* [Internet]. 1988;72(6):448-51. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1041480&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
12. Sthapit P, Tuladhar N. Conjunctival Flora of Normal Human Eye. *JSM Ophthalmol*. 2014;2(2):1021-6.
 13. Capriotti J, Pelletier J, Shah M, Caivano D, Ritterband D. Normal ocular flora in healthy eyes from a rural population of Sierra Leone. *Int J Ophthalmol*. 2009;29(2):81-4.
 14. Sharma PD, Sharma N, Gupta RK, Singh P. Aerobic bacterial flora of the normal conjunctiva at high altitude area of Shimla Hills in India: A hospital based study. *Int J Ophthalmol* [Internet]. 2013;6(5):723-6. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3808928&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 15. Dong Q, Brulc JM, Iovieno A, Bates B, Garoutte A, Miller D, et al. Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(8):5408-13.
 16. Baumgardner DJ. Soil-related bacterial and fungal infections. *J Am Board Fam Med* [Internet]. 2012;25(5):734-44. Disponible en: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84866183747&partnerID=tZOtx3y1>
 17. Carreras B. [Bacteriological analysis in the management of conjunctivitis. Comparison of antibiotic resistance between 1982 and 2008]. *Arch Soc Esp Oftalmol* [Internet]. 2012;87(4):107-11. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22482893>
 18. Haas W, Pillar CM, Torres M, Morris TW, Sahm DF. Monitoring antibiotic resistance in ocular microorganisms: Results from the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular microorganisms (ARMOR) 2009 surveillance study. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2011;152(4):567-74. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2011.03.010>
 19. Wong C a., Galvis V, Tello A, Villareal D, Rey JJ. In vitro antibiotic susceptibility to fluoroquinolones. *Arch Soc Esp Oftalmol* [Internet]. 2012;87(3):72-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oftale.2012.05.008>
 20. Hernandez-Rodríguez P, Quintero G, Mesa D, Molano R, Hurtado P. Prevalencia de Staphylococcus epidermidis y Staphylococcus aureus en pacientes con conjuntivitis. *Univ Sci*. 2005;10(2):47-54.
 21. Asbell PA, Sahm DF, Shaw M, Draghi DC, Brown NP. Increasing prevalence of methicillin resistance in serious ocular infections caused by Staphylococcus aureus in the United States: 2000 to 2005. *J Cataract Refract Surg*. 2008;34(5):814-8.
 22. Dave SB, Toma HS, Kim SJ. Changes in ocular flora in eyes exposed to ophthalmic antibiotics. *Ophthalmology* [Internet]. 2013;120(5):937-41. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.11.005>
 23. Panda S, Kar S, Sharma S, Singh DV. Multidrug-resistant Staphylococcus haemolyticus isolates from infected eyes and healthy conjunctivae in India. *J Glob Antimicrob Resist* [Internet]. 2016;6:154-9. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221371651630056X>
 24. Kim SJ, Toma HS, Midha NK, Cherney EF, Recchia FM, Doherty TJ. Antibiotic resistance of conjunctiva and nasopharynx evaluation study: A prospective study of patients undergoing intravitreal injections. *Ophthalmology* [Internet]. 2010;117(12):2372-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2010.03.034>
 25. Schoenfelder SMK, Lange C, Eckart M, Hennig S, Kozytska S, Ziebuhr W. Success through diversity - How Staphylococcus epidermidis establishes a nosocomial pathogen. *Int J Med Microbiol* [Internet]. 2010;300(6):380-6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.04.011>
 26. Dave SB, Toma HS, Kim SJ. Ophthalmic antibiotic use and multidrug-resistant staphylococcus epidermidis: A controlled, longitudinal study. *Ophthalmology* [Internet]. 2011;118(10):2035-40. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.03.017>
 27. Suzuki T, Kawamura Y, Uno T, Ohashi Y, Ezaki T. Prevalence of Staphylococcus epidermidis strains with biofilm-forming ability in isolates from conjunctiva and facial skin. *Am J Ophthalmol*. 2005;140(5):844-50.
 28. Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Shivakumar C, Mee-nakshi R, Lionalraj D. Etiology and antibacterial susceptibility pattern of community-acquired bacterial ocular infections in a tertiary eye care hospital in south India. *Indian J Ophthalmol*. 2010;58(6):497-507.
 29. Tosco-Núñez T, Bolaños-Rivero M, Herman E, Álvarez JP. Queratitis por moraxella lacunata: a propósito de un caso. *Rev Esp Quimioter*. 2013;26(2):164-5.
 30. Mazal C, Sieger B. Staphylococcus lentus: The troublemaker. *Int J Infect Dis*. 2010;14(Supl 1):e396-7.
 31. Ruaro A, Andrighetto C, Torriani S, Lombardi A. Biodiversity and characterization of indigenous coagulase-negative staphylococci isolated from raw milk and cheese of North Italy. *Food Microbiol* [Internet]. 2013;34(1):106-11. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2012.11.013>
 32. Kettleson EM, Adhikari A, Vesper S, Coombs K. Key determinants of the fungal and bacterial microbiomes in homes. *Environ Res* [Internet]. 2015;138:130-5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2015.02.003>
 33. Martín LJ, Adams RI, Bateman A, Bik HM, Hawks J, Hird SM, et al. Evolution of the indoor biome. 2015;30(4):223-32.
 34. Fernández-Rubio ME, Cuesta-Rodríguez T, Urcelay-Segura JL, Cortés-Valdés C. Spectrum and susceptibility of preoperative conjunctival bacteria. *Arch Soc Esp Oftalmol* [Internet]. 2013;88(12):458-65.

- Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2173579414000085>
35. Hamady M, Knight R. Microbial community profiling for human microbiome projects: Tools, techniques, and challenges. *Genome Res.* 2009;19(7):1141-52.
 36. Rintala H, Pitkäranta M, Toivola M, Paulin L, Nevalainen A. Diversity and seasonal dynamics of bacterial community in indoor environment. *BMC Microbiol* [Internet]. 2008;8(56). Disponible en: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-8-56>
 37. Cosseau C, Romano-Bertrand S, Duplan H, Lucas O, Ingrassia I, Pigasse C, et al. Proteobacteria from the human skin microbiota: Species-level diversity and hypotheses. *One Heal* [Internet]. 2016;2:33-41. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.onehlt.2016.02.002>
 38. van Duin D, Paterson DL. Multidrug-Resistant Bacteria in the Community. *Infect Dis Clin North Am* [Internet]. 2016;30(2):377-90. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891552016300101>
 39. Evans DJ, McNamara N a, Fleiszig SMJ. Life at the front: Dissecting bacterial-host interactions at the ocular surface. *Ocul Surf* [Internet]. 2007;5(3):213-27. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17660895>