



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**Actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* “Canela” frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* inducidas in vitro sobre lentes de contacto blandos”**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**AUTOR**

Katherine Milagros CHARRI MACASSI

Cynthia Fiorella HUAMÁN TORRES

**ASESOR**

Dr. María Elena SALAZAR SALVATIERRA

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Charri K, Huamán C. Actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* “Canela” frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* inducidas in vitro sobre lentes de contacto blandos” [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017.

---

1101



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
 Universidad del Perú. Decana de América  
**Facultad de Farmacia y Bioquímica** ✓  
**Decanato**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

104

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**"Actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* "Canela" frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* inducidas *in vitro* sobre lentes de contacto blandos"** ✓

Que presentan las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

**KATHERINE MILAGROS CHARRI MACASSI** ✓  
**CYNTHIA FIORELLA HUAMAN TORRES** ✓

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la TESIS, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

*Aprobado por unanimidad (18)*

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 11 de setiembre de 2017. ✓

*Victor Crispin Pérez*  
 Dr. Víctor Crispin Pérez  
 Presidente

*Julio Reynaldo Ruiz Quiroz*  
 Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz  
 Miembro

*Robert-Dante Almonacid Roman*  
 Q.F. Robert-Dante Almonacid Roman  
 Miembro

*Mirtha Roque Alcarraz*  
 Mg. Mirtha Roque Alcarraz  
 Miembro

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú  
 Teléfonos: (511) 328-4737 / (511) 679-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 – Lima 1  
 E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



## **DEDICATORIA**

A Dios, que es nuestro guía. A mi familia hermosa, en especial a mi madre Sandra Isabel, por su apoyo incondicional durante toda mi formación profesional, por ser mi guía y mi inspiración. A Carlos por su amor, aliento y paciencia durante todo este periodo. A Zoé por llenarme de emociones nuevas y darme el valor necesario para afrontar cualquier obstáculo.

*Katherine Charri*

A Dios y a María Auxiliadora, luz y guía en mi vida. A mis padres, por su apoyo incondicional y confianza en todo momento. A Miguel, por estar siempre a mi lado alentándome a seguir adelante sin importar los obstáculos que se presenten. A mi hermosa Luciana, por ser la razón de mi vida, de mis luchas y mis sonrisas. A mi hermana Katia y a toda mi familia que siempre estuvo pendiente de mi formación profesional.

*Cynthia Huamán*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. María Elena Salazar, por su gran amistad, confianza, sus valiosos consejos y por el tiempo dedicado para la realización de esta tesis, muchas gracias.

Al Mg. Julio Ruiz Quiroz, por su valioso apoyo, consejos académicos y personales.

A los docentes de la Cátedra de Microbiología y Parasitología básica y aplicada, por la disposición de los laboratorios, consejos y el apoyo para la realización de la tesis.

A nuestros amigos de nuestra promoción ingresante 2010 que durante su estadía en los laboratorios de la cátedra nos dieron ánimo y empuje para culminar la tesis.

# ÍNDICE

RESUMEN.....	11
SUMMARY.....	12
I. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1. Objetivo general.....	15
1.2. Objetivos específicos.....	15
1.3. Hipótesis.....	15
II. GENERALIDADES.....	16
2.1. Canela ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ).....	16
2.1.1. Descripción botánica.....	16
2.1.2. Hábitat y distribución.....	16
2.1.3. Composición química.....	17
2.1.4. Propiedades farmacológicas.....	17
2.2. Biopelículas.....	17
2.2.1. Definición.....	17
2.2.2. Estructura.....	18
2.2.3. Etapas de desarrollo.....	19
2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	19
2.3.1. Características morfológicas.....	19
2.3.2. Formación de biopelículas.....	20
2.4. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
2.4.1. Características morfológicas.....	21
2.4.2. Formación de biopelículas.....	21
2.5. Lentes de contacto.....	21
2.5.1. Lentes de contacto blando o de hidrogel.....	22
2.5.2. Adherencia microbiana a los lentes de contacto.....	23
2.5.3. Complicaciones oculares asociadas a lentes de contacto.....	23
2.6. Soluciones multipropósito.....	24
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	25
3.1. Materiales y equipos.....	25
3.2. Flujograma del trabajo experimental.....	27
3.3. Metodología.....	28

3.3.1.	Tipo de estudio.....	28
3.3.2.	Lugar de ejecución.....	28
3.3.3.	Recolección del material botánico.....	28
3.3.4.	Análisis preliminar del aceite esencial.....	29
3.3.5.	Recolección del material biológico.....	29
3.3.6.	Identificación microbiológica.....	29
3.3.6.1.	Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
3.3.6.2.	Identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	31
3.3.7.	Evaluación de la capacidad de formación de biopelículas.....	32
3.3.7.1.	Método Rojo Congo.....	32
3.3.7.2.	Método del tubo.....	33
3.3.8.	Elección del lente de contacto.....	34
3.3.9.	Elección de la solución multipropósito.....	35
3.3.10.	Método de difusión en agar.....	35
3.3.11.	Método de microdilución .....	36
3.3.12.	Curva de crecimiento y viabilidad.....	39
3.3.13.	Evaluación de la eficacia del aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> durante la formación de la biopelícula.....	42
3.3.14.	Evaluación de la eficacia del aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> en una biopelícula madura.....	46
3.4.	Organización de la información.....	51
3.5.	Análisis estadístico.....	51
IV.	RESULTADOS.....	52
V.	DISCUSIÓN.....	73
VI.	CONCLUSIONES.....	79
VII.	RECOMENDACIONES.....	81
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
IX.	ANEXOS.....	88

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Presentación comercial de 10 mL del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> , de la empresa Essential Oils Perú .....	28
<b>Figura 2.</b> Forma de colocar el lente de contacto blando en los pocillos de las microplacas de poliestireno .....	44
<b>Figura 3.</b> Resultado del método del tubo.....	54
<b>Figura 4.</b> Resultado del método de Rojo de Congo para <i>Staphylococcus aureus</i> cepa clínica.....	54
<b>Figura 5.</b> Actividad antimicrobiana del aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> al 100% por el método de difusión en agar.....	55
<b>Figura 6.</b> Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	56
<b>Figura 7.</b> Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> en <i>Staphylococcus aureus</i> .....	57
<b>Figura 8.</b> Curva de viabilidad de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> frente a la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	60
<b>Figura 9.</b> Curva de viabilidad de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 frente a la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	61
<b>Figura 10.</b> Curva de viabilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> frente a la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	63
<b>Figura 11.</b> Curva de viabilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 frente a la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	64
<b>Figura 12.</b> Comparación de la eficacia de la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> durante la formación de biopelículas de los microorganismos en estudio, inducidas <i>in vitro</i> en los lentes de contacto blandos.....	67

<b>Figura 13.</b> Comparación de la eficacia de la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> durante la formación de biopelículas de los microorganismos en estudio, inducidas <i>in vitro</i> en los pocillos de la microplaca de poliestireno .....	68
<b>Figura 14.</b> Comparación de la eficacia de la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> en los lentes de contacto blando, en las biopelículas maduras inducidas <i>in vitro</i> .....	70
<b>Figura 15.</b> Comparación de la eficacia de la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> en la microplaca de poliestireno, en las biopelículas maduras inducidas <i>in vitro</i> .....	70
<b>Figura 16.</b> Microplaca de poliestireno con los lentes de contacto blandos, después de la incubación de 18 horas para la formación <i>in vitro</i> de las biopelículas .....	71
<b>Figura 17.</b> Microplaca de poliestireno después de la incubación, tratamiento y tinción con la solución de cristal violeta.....	71
<b>Figura 18.</b> Lente de contacto blando estéril en el estereoscopio “ZEISS-Stemi 508” .....	72
<b>Figura 19.</b> Lente de contacto blando del grupo de Inóculo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, después de la incubación y tratamiento en la evaluación de la efectividad del aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> en biopelículas maduras inducidas <i>in vitro</i> .....	72
<b>Figura 20.</b> Lente de contacto blando del grupo de Solución Multipropósito de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, después de la incubación y tratamiento en la evaluación de la efectividad del aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> en biopelículas maduras inducidas <i>in vitro</i> .....	72
<b>Figura 21.</b> Lente de contacto blando del grupo de Aceite de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, después de la incubación y tratamiento en la evaluación de la efectividad del aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> en biopelículas maduras inducidas <i>in vitro</i> .....	72

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Materiales de hidrogel por contenido de agua.....	22
<b>Tabla 2.</b> Características técnicas del lente de contacto 1-Day Acuvue Most ®..	34
<b>Tabla 3.</b> Diseño de la bandeja de microdilución colorimétrica.....	38
<b>Tabla 4.</b> Clasificación de la actividad antimicrobiana según el valor del CMI....	39
<b>Tabla 5.</b> Distribución de la batería de tubos por grupos.....	41
<b>Tabla 6.</b> Diseño de la distribución en una microplaca de poliestireno de 24 pocillos en la formación de biopelículas.....	45
<b>Tabla 7.</b> Diseño de la distribución en la microplaca de poliestireno de 24 pocillos para la inducción in vitro de la biopelícula.....	48
<b>Tabla 8.</b> Diseño de la distribución en la microplaca de poliestireno de 24 pocillos para la evaluación del aceite en la biopelícula madura.....	50
<b>Tabla 9.</b> Propiedades físicas del aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ....	52
<b>Tabla 10.</b> Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> mediante el método de difusión en Agar .....	54
<b>Tabla 11.</b> Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	56
<b>Tabla 12.</b> Concentración del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> usadas en la curva de crecimiento y viabilidad.....	58
<b>Tabla 13.</b> Resultados de la Densidad Óptica (DO) en la curva de crecimiento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.....	59
<b>Tabla 14.</b> Resultados de la Densidad Óptica (DO) en la curva de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	62
<b>Tabla 15.</b> Concentración del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> usadas en la evaluación de la eficacia del aceite esencial durante la formación de biopelículas inducidas <i>in vitro</i> en lentes de contacto blando.....	65

<b>Tabla 16.</b> Resultados de la Densidad Óptica (DO) en la evaluación de la eficacia del aceite esencial <i>Cinnamomum zeylanicum</i> durante la formación de biopelículas inducidas <i>in vitro</i> .....	66
<b>Tabla 17.</b> Resultados de la Densidad Óptica (DO) en la biopelículas maduras inducidas <i>in vitro</i> .....	69

## ABREVIATURAS

<b>SPE:</b>	sustancias poliméricas extracelulares
<b>LC:</b>	lentes de contacto
<b>LCB:</b>	lentes de contacto blando
<b>HEMA:</b>	hidroxietilmetraquilato ( <i>hydroxyethyl methacrylate</i> )
<b>FDA:</b>	Food, Drugs and administration
<b>QT:</b>	queratopatía tóxica
<b>EC:</b>	estrías corneales
<b>QI:</b>	queratitis infecciosa
<b>SMP:</b>	Solución multipropósito
<b>TSB:</b>	Caldo Tripticasa de Soya ( <i>Tryptic soy broth</i> )
<b>TSA:</b>	Agar Tripticasa de Soya ( <i>Trypticase soy agar</i> )
<b>DNAsa:</b>	Desoxirribonucleasa
<b>Pa:</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> cepa clínica
<b>Pa ATCC:</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027
<b>Sa:</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> cepa clínica
<b>Sa ATCC:</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
<b>UFC:</b>	Unidad formadora de colonias
<b>DMSO:</b>	Dimetilsulfóxido
<b>CMI:</b>	Concentración mínima inhibitoria
<b>DO:</b>	Densidad óptica
<b>QS:</b>	Quorum sensing

## RESUMEN

Los lentes de contacto son susceptibles a la colonización bacteriana, usualmente bajo forma de biopelículas. La alta demanda de lentes de contacto y su susceptibilidad a la contaminación principalmente de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* que se da en forma de biopelículas, es un riesgo latente para la salud visual de la población. Es por ello que el presente trabajo tuvo como principal objetivo evidenciar la actividad inhibidora del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* frente a la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en lentes de contacto blandos. Para poder cumplir con el presente objetivo, se utilizó el método de cuantificación de la formación de biopelículas por medio del ensayo de biopelícula estática. Los resultados mostraron que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* presenta actividad inhibitoria frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* a una concentración de 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 a una concentración de 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , *Staphylococcus aureus* a una concentración de 1,25  $\mu\text{L}/\text{mL}$  y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a una concentración de 0,625  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , logrando un efecto óptimo frente a la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*, donde se llegó a reducir en un 23,94% el crecimiento de dichas biopelículas mejor que la solución multipropósito “Renu Fresh  $\text{\textcircled{R}}$ ”, mientras que en las biopelículas maduras, el aceite esencial tuvo mejor actividad en *Staphylococcus aureus* ATCC 95923 con una reducción del 24,85% mejor que la solución multipropósito “Renu Fresh  $\text{\textcircled{R}}$ ”. Gracias a ello, se concluye que el aceite esencial de canela presenta una gran actividad inhibitoria frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* inducidas en lentes de contacto blandos.

**Palabras clave:** *Cinnamomum zeylanicum*, aceite esencial, biopelículas, lentes de contacto blando, CMI, actividad inhibitoria, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*

## SUMMARY

Contact lenses are susceptible to bacterial colonization, usually in the form of biofilms. The high demand for contact lenses and their susceptibility to contamination, mainly of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* that occurs in the form of biofilms, is a latent risk to the visual health of the population. Therefore, the main objective of the present research was to demonstrate the inhibitory activity of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil against the formation of biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in soft contact lenses. In order to comply with this objective, we were used the method of quantification of the biofilms' formation by the test of static biology. The results showed that the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* presents inhibitory activity against of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms at a concentration of 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 at a concentration of 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , *Staphylococcus aureus* at a concentration of 1,25  $\mu\text{L}/\text{mL}$  and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 at a concentration of 0,625  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , achieving an optimum effect against the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*, where the growth of biofilms was reduced by 23,94% better than "Renu Fresh ®" multipurpose solution, while in mature biofilms the essential oil had better activity in *Staphylococcus aureus* ATCC 95923 with a 24,85% reduction better than the "Renu Fresh ®" multipurpose solution. As a result, it is concluded that cinnamon essential oil has a high inhibitory activity against the biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in soft contact lenses.

**Key words:** *Cinnamomum zeylanicum*, essential oil, biofilms, soft contact lenses, MIC, inhibitory activity, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*.

## I. INTRODUCCIÓN

La prevalencia y la incidencia de los problemas oftalmológicos en el Perú, de causa desconocida, son los segundos causantes de la discapacidad en el Perú<sup>1</sup> y de acuerdo con el nivel socioeconómico, pueden incrementarse o disminuir<sup>2</sup>.

Dentro de los problemas oftalmológicos destaca la queratitis, una de las enfermedades que afecta la córnea y puede ser ocasionada por bacterias de los géneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus* y *Neisseria*<sup>3</sup>. Esta condición clínica puede ser ocasionada o potenciada por el uso de lentes de contacto blandos como una respuesta adversa a la contaminación de bacterias, teniendo una incidencia del 0,3 % de la queratitis microbiana<sup>4</sup>.

El uso de lentes de contacto está muy expandido, los datos de su uso en los Estados Unidos, en el año 2008, fue alrededor de 36 000 000 por año y es considerado uno de los factores de riesgo más altos para el desarrollo de queratitis microbiana<sup>5</sup>. Una revisión sobre la adhesión microbiana en lentes de contacto<sup>6</sup> menciona que las bacterias con mayor formación de biopelículas son *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* y *Staphylococcus aureus*, y que no solo son las mayores causantes de biopelículas en los lentes de contacto, sino que su resistencia a los desinfectantes, antibióticos y soluciones multipropósito con desinfectante va en aumento; por lo que se está dando más importancia a los estudios sobre la eficacia de las soluciones multipropósito contra microorganismos formadores de biopelículas, amebas y hongos<sup>7-9</sup>.

*Cinnamomum zeylanicum* o “canela” es una planta natural de Sri Lanka del sur de la India, también es cultivada en Brasil, Birmania, Indonesia, Indias occidentales e islas del océano Pacífico<sup>10</sup>. En la actualidad el uso de la canela está en diversos campos como la gastronomía, usado como condimento y saborizante; también la cosmética usando en la incorporación como aromatizante en perfumes y además de su importante uso en la medicina natural. El uso tradicional que se da con la canela es para reducir el riesgo de cáncer de

colon, coagulante, aumento de la circulación sanguínea en el útero, regeneración de tejidos, etc. Diversos estudios han determinado que la canela incluyendo su aceite esencial posee actividades importantes como antibacteriano, antimicótico, antiinflamatorio, antioxidante y antidiabético<sup>11</sup>.

Los países desarrollados y sub desarrollados tienden al uso de recursos naturales en las formulaciones farmacéuticas, principalmente en los cosméticos. Esta tendencia está reconocida por la Organización Mundial de la Salud y muchos países están optando por regularizar este tipo de formulaciones naturales, tal es el caso de Colombia<sup>12</sup> en Sudamérica y a nivel de Europa se encuentran empresas reguladoras como Ecocert<sup>13</sup> la cual certifica a los aditivos naturales como extractos y aceites esenciales que pueden usarse en las formulaciones farmacéuticas.

Asimismo, existen estudios que demuestran la actividad antimicrobiana de diversos recursos naturales frente a bacterias resistentes u otros resultados significativos<sup>14-19</sup>. El incremento y la continuación de estos estudios en recursos naturales se deben ver sustentados con su aplicación y uso de estos en formulaciones farmacéuticas como aditivos naturales<sup>12</sup>, por ejemplo un gel de limpieza cutánea<sup>20</sup>.

La mayoría de los estudios en el ámbito microbiológico llega hasta una evaluación de la actividad antimicrobiana, pudiendo ser mejor aprovechada evaluando su actividad frente a las películas de microorganismos más importantes para la salud pública. La capacidad de formación de biopelículas no se restringe a un grupo específico de microorganismos y se considera que bajo las condiciones adecuadas, todos los microorganismos son capaces de hacerlo, ya que pueden utilizar diferentes superficies<sup>21, 22</sup>. Oyola determinó que en un 75% de las cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes de dos hospitales de Nivel IV, son formadoras de biopelículas<sup>23</sup>, mientras que Salazar obtuvo un 60,4 % de las cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* formadoras de biopelículas, provenientes de pacientes de tres hospitales de Lima Metropolitana durante el periodo de abril y octubre del 2012<sup>24</sup>.

### **1.1. Objetivo general**

Evidenciar la actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* inducidas *in vitro* sobre lentes de contacto blandos.

### **1.2. Objetivos específicos**

- Determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.
- Desarrollar la curva de crecimiento y viabilidad de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* frente al aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*.
- Evaluar la actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en lentes de contacto blando.
- Evaluar la actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en las biopelículas maduras de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en lentes de contacto blando.

### **1.3. Hipótesis**

El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* inhibe la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* inducidas *in vitro* sobre lentes de contacto blandos.

## II. GENERALIDADES

### 2.1. CANELA (*Cinnamomum zeylanicum*)

*Cinnamomum zeylanicum* o *Cinnamomum verum*, cuyo nombre común es canela o canela de Ceylon<sup>10</sup>, es una de las especias conocidas desde tiempos antiguos y en China se empleaba ya en el año 2500 A.C. Los árabes la utilizaban mucho para aromatizar carnes, ya que la canela contiene un aceite esencial rico en fenol que inhibe las bacterias responsables de la putrefacción de la carne<sup>25</sup>.

#### 2.1.1. Descripción botánica

Árbol con corteza papirácea bastante gruesa, lisa y pálida perteneciente a la familia de las laureáceas. En su estado silvestre puede alcanzar los 10 metros de altura. Es un árbol de hojas perennes de tamaño moderado, ovadas, con tres nervios bien marcados, acuminadas, de borde liso, lanceoladas, verde brillante por encima y ligeramente más pálidas por debajo, de base aguda o redondeada. Peciolos de 1,3 a 2,5 cm de largo, aplanados. Flores hermafroditas amarillas, muy numerosas, cuyo tubo mide 2,5 mm de largo. Frutos morados en baya, de 1 cm de diámetro y de 1,3 a 1,7 cm de largo, oblongo, minuciosamente apiculado, seco o ligeramente carnoso, morado oscuro, rodeado por el perianto campanulado ampliado de 8mm de diámetro<sup>10,25,26</sup>.

#### 2.1.2. Hábitat y distribución

Originaria de Sri Lanka y la India, se cultiva en partes de África, sureste de la India, Indonesia, América del Sur, Sri Lanka y la India occidental<sup>10</sup>.

### **2.1.3. Composición química**

El aceite esencial de canela se obtiene de las hojas de *Cinnamomum zeylanicum*, siendo el principal componente el cinamaldehído (entre 80 a 90% en el aceite esencial). También contiene eugenol, acetato de cinamilo, alcanfor,  $\beta$ -cariofileno, linalol y cumarinas<sup>10,27</sup>.

### **2.1.4. Propiedades farmacológicas**

Usado de manera tradicional en el tratamiento de trastornos dispépticos tales como afecciones a nivel intestinal, plenitud, flatulencia y pérdida del apetito. También se utiliza para tratar el dolor abdominal con diarrea, y el dolor asociado con amenorrea y dismenorrea<sup>10</sup>.

En diversas investigaciones con aceite esencial de canela usando hojas de la misma, se demostró que tiene una gran actividad antibacteriana tanto para grampositivos y gramnegativos. El aceite esencial presentó actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus salivarius*, bacterias causantes de caries dental<sup>18</sup>. También presenta actividad antibacteriana demostrada frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*<sup>28,29</sup>.

Además, se ha encontrado que el aceite esencial de canela presenta actividad antifúngica frente a *Aspergillus flavus* a una concentración de 2000 ppm<sup>30</sup>.

## **2.2. Biopelículas**

### **2.2.1. Definición**

Las biopelículas, según Lasa, son comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o a un tejido vivo<sup>31</sup>. Las biopelículas se pueden formar tanto en superficies bióticas como abióticas, incluyendo tejidos vivos, paredes de los dispositivos médicos, sistemas de tuberías de agua potable o sistemas acuáticos naturales<sup>32</sup>.

Por otro lado, Donlan<sup>33</sup> efectuó una descripción ampliamente aceptada de una biopelícula, estableciendo que es “una comunidad microbiana sésil, caracterizada por células que están adheridas irreversiblemente a un substrato o interfase, o unas con otras, encerradas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que ellas han producido, y exhiben un fenotipo alterado en relación con la tasa de crecimiento y transcripción génica”. Esta última definición nos hace entender que la formación de biopelículas se da como una alteración fenotípica de microorganismos frente a las adversidades que estos encuentren en el ambiente en que se desarrollan o viven. Estos microorganismos pueden también vivir bajo su forma planctónica y no mostrar necesariamente la resistencia característica de una biopelícula frente a las condiciones desfavorables de ambiente<sup>34</sup>.

### **2.2.2. Estructura**

Lasa nos dice que, aunque la composición de la biopelícula es variable en función al sistema de estudio, en general, el componente mayoritario es el agua que puede representar hasta un 97% de la biopelícula<sup>31</sup>.

Además de agua y gérmenes, la matriz está formada por Sustancias Poliméricas Extracelulares (SPE), las que constituyen el componente primordial y son elaboradas por los mismos microorganismos integrantes. Estas SPE están compuestas principalmente por polisacáridos, los cuales pueden ser neutros o polianiónicos (en bacterias Gram negativas) y catiónicos (en bacterias Gram positivas), característica que les permitirá interactuar con distintos antimicrobianos, de tal forma que estos puedan quedar atrapados en la matriz sin capacidad para actuar sobre las bacterias<sup>35</sup>. Las SPE pueden ser hidrofóbicas, aunque la mayoría son anfipáticas<sup>34</sup>.

### 2.2.3. Etapas de desarrollo

El ciclo vital de las biopelículas consta de tres etapas: adhesión, crecimiento y separación o desprendimiento.

- a) Adhesión: Las bacterias empiezan a unirse a la superficie, previamente percibida, mediante apéndices como fimbrias, flagelos, pili o adhesina. Estos apéndices ayudan a la bacteria a alcanzar la superficie, siendo su función principal vencer las fuerzas de repulsión. En la adhesión bacteriana pueden también influir variaciones en la velocidad de flujo, temperatura y concentración de nutrientes<sup>36</sup>. Por ejemplo, se ha encontrado que un incremento en la concentración de diversos cationes afecta la adhesión de *Pseudomonas spp* a superficies de vidrio<sup>32</sup>.
- b) Crecimiento: Las bacterias ya adheridas comienzan a dividirse formando una “microcolonia”. Las bacterias empiezan a elaborar un exopolisacárido que constituye la matriz de la biopelícula. En el caso de *Pseudomonas aeruginosa* es alginato y poli-N-acetilglucosamina en *Staphylococcus aureus*<sup>35</sup>.
- c) Separación o desprendimiento: Los tres principales mecanismos para generar el desprendimiento son: erosión o deslizamiento, separación y abrasión<sup>35</sup>.

## 2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

### 2.3.1. Características morfológicas

Bacteria aerobia gram-negativa con forma de bastoncitos finos con una longitud aproximada de 1 a 3  $\mu\text{m}$  de largo y 0,5 a 1,0  $\mu\text{m}$  de ancho. Producen pioverdina y piocianina, son móviles debido a la presencia de flagelos polares<sup>37</sup>.

Toleran un amplio rango de temperaturas de crecimiento (4 - 42°C), asimismo son capaces de metabolizar diferentes compuestos como fuentes de carbono y nitrógeno. Esta versatilidad metabólica le ha dado la capacidad de colonizar un gran número de hábitats acuáticos y terrestres, presentando cepas resistentes a antibióticos, detergentes y metales pesado<sup>38</sup>.

### 2.3.2. Formación de biopelículas

Para la formación de biopelículas, *P. aeruginosa* produce 3 polisacáridos: alginato, PEL y PSL. El alginato, un polímero lineal no ramificado compuesto de ácido D-manurónico y ácido L-gulurónico, contribuye a la estabilidad estructural y protección de las biopelículas, así como a la retención de agua y nutrientes.

Algunos sistemas bacterianos relevantes y factores implicados en la regulación de la formación de biopelículas de *P. aeruginosa* son: sistema quorum sensing (QS) y sistema regulador de dos componentes GacS/GacA y RetS/LadS. El QS es una comunicación de célula a célula utilizada por muchas bacterias para detectar su densidad poblacional mediante la producción y la percepción de moléculas señalizadoras que coordinan la producción de factores de virulencia, la motilidad y la formación de biopelículas. *P. aeruginosa* posee dos sistemas QS principales (*las* y *rhl*) que impulsan la producción (a través de las sintasas *LasI* y *RhII*) y la percepción (por los factores de transcripción *LasR* y *RhIR*) de moléculas de señalización. Un tercer sistema QS, basado en señales de quinolona (sistema PQS), interactúa con los sistemas de las acil homoserina lactonas (AHLs)<sup>39,40</sup>.

Los reguladores del sistema quorum sensing “*lasR*” y “*rhl*” desempeñan papeles importantes en la formación de las biopelículas. El regulador de quorum sensing “*LasR*” puede unirse a la región promotora del operón PSL, lo que sugiere que el quorum sensing puede regular la expresión del polisacárido PSL. Se ha informado, también, que el sistema “*rhl*” interviene en la formación de las biopelículas de *P. aeruginosa* al mejorar la biosíntesis de los polisacáridos PEL. El sistema PQS, por su parte, está vinculado a la liberación de ADN durante el desarrollo de biopelículas<sup>39,40</sup>.

## **2.4. *Staphylococcus aureus***

### **2.4.1. Características morfológicas**

Bacteria anaerobia facultativa gram positiva, presenta forma de coco inmóvil agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. No esporulada, no posee cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo. La mayoría de los estafilococos produce catalasa<sup>41</sup>.

### **2.4.2. Formación de biopelículas**

La producción de biopelículas se describió por primera vez en *S. aureus* coagulasa negativo, y está implicada en la colonización y persistencia de la bacteria en catéteres, prótesis, sondas y algunos dispositivos médicos como los lentes de contacto. *S. aureus* produce un exopolisacárido poli-N-acetilglucosamina que constituye la matriz de la biopelícula y sirve para adherirse y colonizar nuevos sitios, además de proteger a las bacterias de la fagocitosis, así como de los antibióticos. La biopelícula puede prolongar la infección y colonización<sup>41,42</sup>.

Se ha demostrado que los genes y productos del locus "ica" presente en *Staphylococcus aureus* son necesarios para la formación de biopelículas y relacionados también con la virulencia de la bacteria. Estos genes son regulados en respuesta al crecimiento anaeróbico y a diversas condiciones ambientales que llevan a la formación de la biopelícula<sup>43</sup>.

## **2.5. Lentes de contacto**

La Academia Americana de Oftalmología clasifica a los lentes de contacto como duros y blandos. Los lentes duros más comúnmente utilizados hoy en día son los lentes de contacto rígido y permeables al gas (RGP por sus siglas en inglés). Están hechos de plástico y otros materiales como la silicona o fluoropolímeros. Los lentes duros mantienen su forma, sin embargo, permiten un libre flujo de oxígeno entre los lentes y la córnea y estos pueden preferirse cuando una

persona tiene alergias o tiende a formar depósitos de proteínas en los lentes de contacto. Los lentes de contacto blandos son la elección preferida entre la mayoría de usuarios de lentes de contacto. Estos lentes son cómodos y vienen en varias versiones, dependiendo de cómo se quieran usar<sup>44</sup>.

### 2.5.1. Lentes de contacto blando o de hidrogel

Los lentes de contacto blando son la elección preferida entre la mayoría de usuarios. El material usado para la fabricación de los lentes de contacto blando son los hidrogeles (entre los que destaca el hidroxietilmetraquilato - HEMA).

Los hidrogeles son materiales ópticamente homogéneos, que están compuestos de una fase sólida (el polímero) dispersa en una fase acuosa. Los radicales hidrófilos contribuyen a la absorción del agua en el polímero, y los puentes de enlaces limitan su absorción, la combinación de ambos determina la hidratación del hidrogel<sup>45</sup>. En la tabla 1 podemos observar la clasificación de los materiales de hidrogel por contenido de agua e ionicidad.

**Tabla 1.** Materiales de hidrogel por contenido de agua

<b>GRUPO 1</b> <b>(Bajo contenido de agua)</b> <b>No iónico</b>	<b>GRUPO 2</b> <b>(Alto contenido de agua)</b> <b>No iónico</b>	<b>GRUPO 3</b> <b>(Bajo contenido de agua)</b> <b>Iónico</b>	<b>GRUPO 4</b> <b>(Alto contenido de agua)</b> <b>Iónico</b>
Crofilcon	Alphafilcon A		Bufilecon A
Dimefilcon A	Altrafilcon	Balafilcon A	Etafilcon A
Genfilcon A	Ofilcon A	Bufilecon A	Focofilcon A
Hefilcon A & B	Omafilcon A	Deltafilcon A	Methafilcon A, B
Hioxifilcon B	Scafilcon A	Droxifilcon A	Ocufilecon B
Itrafilcon A	Surfilcon A	Etafilcon A	Ocufilecon C
Isofilcon	Vasurfilcon A	Ocufilecon A	Ocufilecon D
Tetrafilcon A	Xylofilcon A		Ocufilecon E

*Fuente: FDA. Four lens groups<sup>46</sup>*

Las características de absorción de los LCB hacen que estos aumenten su peso, lo que aumenta la succión total en el ojo y la resistencia a ser desplazado por la gravedad, gracias a lo cual se produce mayor estabilidad y mejor visión<sup>44</sup>.

### **2.5.2. Adherencia microbiana a los lentes de contacto**

La adherencia microbiana de *Pseudomonas aeruginosa* y de *Staphylococcus aureus* a la superficie de los lentes de contacto es ligeramente superior en los lentes de base silicona a pesar de que estos tienen una alta permeabilidad al oxígeno; su superficie hidrófoba se muestra más propensa a la adición de patógenos que en los del tipo hidrofílico<sup>45,47</sup>

### **2.5.3. Complicaciones oculares asociadas a lentes de contacto**

Las complicaciones asociadas al uso de lentes de contacto se pueden evitar aplicando las medidas de prevención como los lineamientos de la FDA<sup>45</sup>.

Estas complicaciones se pueden dividir en:

#### a) Complicaciones no infecciosas:

- Hipoxia: Cambios inducidos en todas las capas de la córnea por el uso de lentes de contacto que tienen poca transmisión de oxígeno<sup>48</sup>.
- Ojo rojo agudo por lentes de contacto: Conocido como síndrome de lente apretado, reacción inflamatoria caracterizada por hiperemia conjuntival, infiltración corneal y dolor<sup>49</sup>.
- Reacciones tóxicas: la QT se ha atribuido a muchos componentes de las soluciones multipropósito, en especial a los conservantes de estas<sup>48,50</sup>.
- Estrías corneales: Las EC se observan cuando el edema corneal es superior a 6%. Los lentes de hidrogel de bajo contenido de agua constituyen un factor de riesgo importante en la aparición de estrías<sup>48</sup>.

- Complicaciones mecánicas: La interacción entre los LC y la córnea pueden causar erosiones corneales, abrasiones y lesiones arciformes<sup>51</sup>.

b) Complicaciones infecciosas

- Queratitis bacteriana: Infiltrado corneal supurativo y un defecto epitelial asociado con la presencia de bacterias. Los agentes etiológicos más frecuentes son *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Acanthamoeba*<sup>48,52,53</sup>.
- Infecciones virales: Causados por adenovirus y herpes virus<sup>48,54</sup>.
- Infecciones fúngicas: Asociadas al uso de soluciones multipropósito<sup>55</sup>.

## 2.6. Soluciones multipropósito

Las soluciones multipropósito están especialmente formuladas para cumplir una triple función: enjuague, desinfección y limpieza<sup>56</sup>. Están compuestas, en su mayoría, por un surfactante, un agente antimicrobiano para desinfección y EDTA como quelante para remover iones de calcio e incrementar el efecto antimicrobiano, además de agentes bufferizantes para mantener el pH estable<sup>57</sup>.

Entre los agentes antimicrobianos usados en la formulación de las soluciones multipropósito destacan:

- Hidroxialquilfosfonato: Agente quelante que se une a iones metálicos divalentes y trivalentes. Este agente antimicrobiano es usado en la solución multipropósito "Renu Fresh ®"<sup>58</sup>.
- Ácido bórico: regula el PH y actúa, a la vez, como agente antimicrobiano
- EDTA
- Poloxamina
- Dexpanthenol<sup>57</sup>

### **III. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1. Materiales y equipos**

##### **Material Botánico**

- Aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*

##### **Material Biológico**

- *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- *Staphylococcus aureus* cepa clínica
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

##### **Medios de Cultivo**

- Caldo Tripticasa de Soya - TSB (Merck)
- Agar Tripticasa de Soya - TSA (Merck)
- Agar Cetrimide (Merck)
- Agar Manitol Salado (Merck)
- Agar Infusión Cerebro Corazón (Merck)
- Agar Test Desoxirribonucleasa – DNAsa (Merck)
- Caldo Mueller Hinton (Merck)
- Agar Mueller Hinton (Merck)
- Sacarosa (Merck)
- Glucosa (Merck)

## **Reactivos**

- Solución de Cristal Violeta al 1 % y 0,1 % (Carlo Erba)
- Colorante Rojo de Congo (Sigma-Aldrich)
- Resazurina (Sigma-Aldrich)
- Peróxido de Hidrógeno al 3%

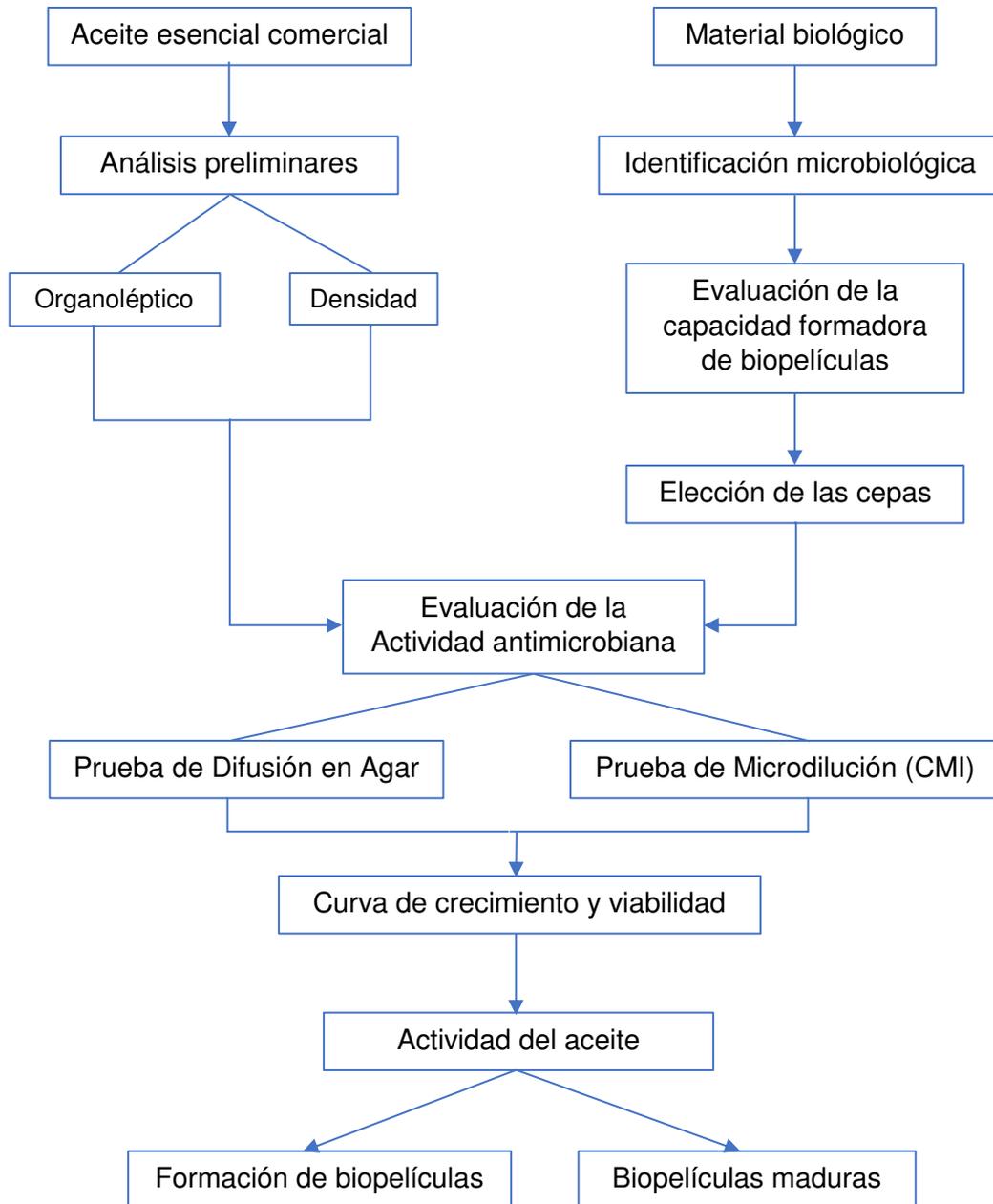
## **Equipos**

- Autoclave Digital (ALP MC-30LDP)
- Incubadora Digital (INCUCCELL)
- Balanza Analítica (Denver XP-300)
- Espectrofotómetro UV Visible (Thermo Scientific Helios ZETA)
- Densímetro (Mettler Toledo – Densito 30 PX)
- Estereoscopio (ZEISS – Stemi 508)

## **Otros materiales**

- Lentes de contacto blandos de Etafilcon A (1 Day Acuvue Moist - Jhonson & Jhonson)
- Solución Multipropósito (Renu Fresh ®)
- Micropipetas (Eppendorf)
- Micropipeta Multicanal (Eppendorf)
- Microplaca estéril de Poliestireno de 96 pocillos con fondo en U (Thermo Scientific)
- Microplaca estéril de Poliestireno de 24 pocillos (Thermo Scientific)
- Placas Petri de vidrio estériles 15 x 100 mm (Pirex)
- Frascos Schott
- Tubos de ensayo de vidrio (borosilicato)
- Viales de vidrio
- Pipetas de vidrio 1, 2, 5 y 10 mL
- Tips de 100 y 1000 µL

### 3.2. Flujograma del trabajo experimental



### 3.3. METODOLOGÍA:

#### 3.3.1. Tipo de estudio

Experimental y prospectivo.

#### 3.3.2. Lugar de Ejecución

Instituto de Química Biológica, Microbiológica y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo”. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Lima.

#### 3.3.3. Recolección del material botánico

Se utilizó el aceite esencial de hojas de *Cinnamomum zeylanicum* “Canela”, obtenido de forma comercial de la empresa Essential Oils Perú (EOP).

La presentación comercial del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* es de 10 mL (Figura 1). En la ficha técnica proporcionada por la empresa Essential Oils Perú del aceite esencial de hojas *Cinnamomum zeylanicum*, se evidencia el método de extracción que es destilación por arrastre a vapor (Ver Anexo 1).



**Figura 1.** Presentación comercial de 10 mL del aceite esencial de hojas de *Cinnamomum zeylanicum*, de la empresa Essential Oils Perú.

### **3.3.4. Análisis preliminar del aceite esencial**

Se realizó análisis organoléptico mediante el método de Dixit<sup>59</sup>; dicho análisis constó de la inspección visual del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*, determinando las características físicas como aspecto, color, olor y sabor. En adición se le midió la densidad utilizando el equipo Mettler Toledo – Densito 30 PX.

### **3.3.5. Recolección del material biológico**

Las cepas clínicas y ATCC de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* fueron proporcionadas por el Instituto de Química Biológica, Microbiológica y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM.

### **3.3.6. Identificación Microbiológica**

Para la identificación microbiológica de las muestras de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, se procedió según las especificaciones del Manual de Procedimientos Bacteriológico en Infecciones Intrahospitalarias del Instituto Nacional de Salud<sup>60</sup>. Se aisló las colonias en TSA y se les sometió a las siguientes pruebas:

#### **3.3.6.1. Identificación de *Staphylococcus aureus*<sup>60</sup>:**

##### **Observación de la Morfología celular:**

Se identificó por observación microscópica de las cepas aisladas mediante la tinción Gram. La identificación positiva es la observación de cocos gram positivos en racimos.

### **Crecimiento en Agar Sangre:**

Las colonias de *Staphylococcus aureus* sembradas en agar sangre de carnero, son lisas, enteras, algo elevadas, de borde entero y la mayoría de ellas presentan un pigmento que va desde el amarillo crema hasta el naranja. Suelen presentar  $\beta$ -hemólisis.

### **Crecimiento en Agar Manitol Salado:**

Las cepas de *Staphylococcus aureus* sembradas en el agar manitol salado, acidifican el medio. Las colonias son de color amarillo y el medio alrededor de la colonia también es de color amarillo.

### **Prueba de la catalasa:**

Esta prueba determina la presencia de la enzima catalasa, ya que las cepas de *Staphylococcus aureus* son catalasa positivo. Para su identificación se utiliza el peróxido de hidrógeno al 3%. La inmediata efervescencia, que es la formación de burbujas, indica como una prueba positiva, ya que la enzima catalasa descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno.

### **Presencia de Desoxirribonucleasa (DNAsa)<sup>61,62</sup>**

Se basa en la presencia de la enzima termoestable desoxirribonucleasa (DNAsa) en las cepas de *Staphylococcus aureus*, que es capaz de hidrolizar el contenido del ácido desoxirribonucleico (ADN) en el medio. Si el medio es acidificado con HCl al 0,1 N, el ADN precipita hacia fuera (turbidez) y las zonas claras aparecen alrededor de las colonias positivas para DNAsa.

### **3.3.6.2. Identificación de *Pseudomonas aeruginosa*<sup>60</sup>:**

#### **Observación de la Morfología celular:**

Se identificó por observación microscópica de las cepas aisladas mediante la tinción Gram. La identificación positiva es la observación de bacilos gram negativos rectos o ligeramente curvados que pueden estar agrupados o en parejas<sup>63</sup>.

#### **Crecimiento en Agar Cetrimide:**

Las colonias de las *Pseudomonas aeruginosa* son generalmente planas, algo extendidas, de bordes aserrados, brillo metálico y son bastante mucoides. El crecimiento de las colonias en el Agar Cetrimide suelen dar una pigmentación verde, ya que no todas las cepas de las *Pseudomonas aeruginosa* dan pigmentación. Además presentan un olor característico a uvas fermentadas.

#### **Prueba de Oxidasa:**

La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromooxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular, que a su vez actúa como receptor de electrones en la etapa terminal.

Para la prueba se requiere tener humedecido una fracción del papel con el reactivo N,N,N,N, tetrametil-p-fenilendiamina en una placa Petri. Con un palillo se escoge una colonia y se extiende sobre el papel filtro. La prueba es positiva para *Pseudomonas aeruginosa* cuando hay un viraje de coloración azul al violeta.

#### **Crecimiento a 42 °C:**

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* crecen a temperaturas de 42 °C. Para el desarrollo de la prueba se usó TSA y se incubó a 42 °C por 24 horas.

## **Agar TSI**

En este medio se determina la capacidad de la bacteria del uso de hidratos de carbono o azúcares como la lactosa, glucosa y sacarosa, presentes en el medio TSI. También se evalúa la producción o no de gas y la producción de ácido sulfhídrico.

Si hay uso de azucares, cambia el medio a color amarillo y se coloca "A", la producción de gas y del ácido sulfhídrico se representa con un "+", la ausencia de estos es con un "-" y el no uso de los azúcares se representa mediante una "K" o "N". La *Pseudomonas aeruginosa* da una reacción K/K o N/N y no hay producción de sulfuro de hidrógeno.

## **Utilización de Citrato**

Este método sirve para la determinación si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para su metabolismo.

La prueba es positiva para *Pseudomonas aeruginosa* si el crecimiento se da con una coloración azul intensa en el pico del medio o presencia de colonias en ausencia del color azul.

### **3.3.7. Evaluación de la capacidad de formación de biopelículas**

Durante el desarrollo de la tesis se utilizaron cepas ATCC y cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* con capacidad formadora de biopelículas.

#### **3.3.7.1. Método Rojo de Congo**

La capacidad de formación de biopelículas se determinó mediante el método de Rojo de Congo<sup>64,65</sup> para las cepas de *Staphylococcus aureus*.

### **Preparación del medio**

Se utilizó el agar BHI previamente reconstituido y suplementado con sacarosa al 5%, esterilizado y mantenido a 45 °C. Se le adicionó el colorante rojo de Congo esterilizado a dicha temperatura para su posterior homogenización y distribución en placas Petri estériles. Se dejó solidificar y seguidamente se sembró las cepas de *Staphylococcus aureus* a evaluar,

### **Lectura de resultados**

Se considera a los microorganismos con capacidad formadora de biopelículas, al crecimiento de las colonias de color negro. Se considera negativa la prueba si las colonias presentan coloración roja o rosada.

#### **3.3.7.2. Método del tubo**

Para las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, la capacidad formadora de biopelículas se determinó mediante el método del tubo según Christensen<sup>65</sup>.

### **Preparación del medio e Incubación**

Se utilizó caldo TSB reconstituido y suplementado con glucosa, esterilizado y enfriado. Se inoculó una colonia correctamente aislada al caldo TSB suplementado e incubado por 24 horas a 37 °C. Terminada la incubación se realizó una dilución del inóculo en caldo TSB suplementado, se transfirió a un tubo y se incubó a 37 °C por 48 horas.

### **Lavado y tinción**

Luego de la incubación se procedió al descarte del medio del tubo, lavado y secado del mismo. Se utilizó la solución de Cristal Violeta al 1% para la tinción del tubo, finalmente se lavó y seco para su lectura.

## Lectura de resultados

La prueba es positiva cuando se evidencia un anillo adherido a las paredes del tubo, además de una película fina pero visible en la pared y al fondo del tubo.

### 3.3.8. Elección del lente de contacto

Los lentes de contacto blandos utilizados fueron del polímero Etafilcon A que es el copolímero de hidroxietil metacrilato y ácido metacrílico de la marca 1-Day Acuvue Most ®, fabricados por Jhonson & Jhonson.

Los lentes de contacto blando de Etafilcon A fueron seleccionados por la forma de presentación en el mercado (Ver Tabla 2) y por los antecedentes del uso de estos tipos de lentes<sup>66</sup>.

**Tabla 2.** Características técnicas del lente de contacto 1-Day Acuvue Most ®

CARACTERÍSTICAS	DESCRIPCIÓN
Fabricante	Jhonson & Jhonson Vision Care Inc.
Marca	1-Day Acuvue Moist ®
Presentación	Caja de 30 unidades
Tipo de lente	Lente de contacto blando
Material	42% polímero / Etafilcon A (Hidrogel)
Contenido acuoso	58 %
Diámetro (mm)	14.2
Curva base (BC)	8,5
Protección UVA/UVB	Si
Instrucciones de uso	Uso diario

### **3.3.9. Elección de la Solución Multipropósito**

La solución multipropósito utilizada fue de la marca Renu Fresh ® fabricados por Bausch & Lomb, según la recomendación de Noel y Villanueva<sup>66</sup>.

### **3.3.10. Método de difusión en agar**

La prueba de difusión en agar se basa en la inhibición del crecimiento de bacterias, mediante la difusión de las sustancias activas un medio sólido. Esta actividad se evidencia por la formación de halos claros alrededor de la sustancia activa<sup>67-69</sup>.

#### **Preparación del inóculo**

Las bacterias correctamente aisladas fueron suspendidas en solución salina al 0,9% estéril. Se ajustó la turbidez al equivalente de 0,5 de la escala McFarland, esta escala equivale a una concentración aproximada de  $1-1,5 \times 10^8$  UFC/mL<sup>67,69</sup>.

#### **Preparación de la muestra**

El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* fue trabajado a las concentraciones de 10%, 50% y 100%. Se utilizó como medio diluyente el DMSO<sup>17</sup>.

#### **Preparación de las placas**

Se utilizó agar Mueller Hinton previamente reconstituido, esterilizado y a una temperatura de 45 °C. Los inóculos de las bacterias fueron suspendidos en el agar a la proporción de 1 mL de inóculo por cada 100 mL de medio de cultivo, para su posterior homogenización y distribución de 25 mL de medio más inóculo en placas Petri de vidrio estériles de 90 mm de diámetro. Se dejó solidificar, se

rotuló cada microorganismo y se le hicieron pozos con la ayuda de un sacabocado con 9 mm de diámetro externo.

### **Adición de la muestra e incubación**

A cada pocillo se le agregó 100  $\mu$ L del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* a las concentraciones previamente establecidas 100%, 50% y 10%. Se dejó reposar por 60 minutos para su difusión en el medio de cultivo a temperatura ambiente y se llevó a incubación a 37 °C por 24 horas. Como blanco se utilizó el diluyente DMSO para contrarrestar cualquier efecto de inhibición del mismo hacia las bacterias en estudio.

La prueba se realizó por triplicado para cada microorganismo en estudio.

### **Lectura de resultados**

Se observaron las zonas de inhibición del crecimiento en forma de halos, estos fueron medidos y expresados en milímetros. En la medida de los halos de inhibición se incluyó la medida del pozo.

### **3.3.11. Método de Microdilución**

Para la prueba de Microdilución colorimétrica se utilizó el protocolo CLSI M07-A09 modificado<sup>69</sup>, para determinar la menor concentración capaz de inhibir el crecimiento de las bacterias.

### **Preparación de la muestra**

Para la prueba de Microdilución se diluyó mililitros del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* en DMSO y caldo Muller Hinton en diluciones dobles seriadas adaptando el esquema de diluciones de drogas insolubles en agua del protocolo CLSI M07-A09<sup>69</sup>. Se obtiene 10 diluciones doblemente concentradas finales que están en el rango de 0,157 – 40  $\mu$ L/mL del aceite esencial

*Cinnamomum zeylanicum*. La concentración final del DMSO fue igual o menor al 5%.

### **Preparación del control de esterilidad**

Se utilizó como control de esterilidad el caldo Mueller Hinton con resazurina<sup>70,71</sup> de acuerdo al protocolo. Por cada 20 mL de caldo Mueller Hinton se agregó 0,1 mL de la solución de resazurina 20 mg/mL.

### **Preparación del inóculo**

Antes de la prueba de microdilución, se realizó un aislamiento de los microorganismos en estudio 24 horas antes en agar TSA, con la finalidad de obtener un mayor número de células viables. Posterior a la incubación, se preparó el inóculo de los microorganismos en solución salina estéril al 0,9% a la escala 0,5 McFarland, que es equivalente a  $1 - 1,5 \times 10^8$  UFC/mL. El inóculo fue diluido dos veces, la primera 1:30 y la segunda 1:5 con caldo Mueller Hinton para obtener un inóculo final de  $1 \times 10^6$  UFC/mL<sup>69</sup>.

Posterior a la dilución del inóculo, se procedió de tal manera que por cada 20 mL de inóculo diluido se agregó 0,1 mL de resazurina 20 mg/mL<sup>70</sup>.

### **Procedimiento de la prueba de microdilución**

La prueba de microdilución se realizó en microplacas de 96 pocillos estériles con fondo en U<sup>71</sup>. La distribución de la muestra se realizó teniendo en cuenta el diseño de la bandeja de microdilución (Ver *Tabla 3*)

La microplaca de 96 pocillos posee 12 filas en las que se distribuyó de la siguiente manera:

- En la primera fila (A1 – H1), 200  $\mu$ L del control de esterilidad.
- En la fila 2 a la fila 11 (A2-H2, A3-H3, A4-H4, A5-H5, A6-H6, A7-H7, A8-H8, A9-H9, A10-H10 y A11-H11), 100  $\mu$ L de las diluciones doblemente

seriadas de la muestra del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* y 100 µL del inóculo de cada microorganismo con el indicador resazurina.

- En la fila 12 (A12 – H12), 200 µL de inóculo como control de crecimiento o control positivo.

Las microplacas se incubaron a 37 °C por 24 horas en condiciones aeróbicas.

**Tabla 3.** Diseño de la bandeja de microdilución colorimétrica

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
<b>A</b>	<b>CE</b>	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	<b>CP</b>	<b>Pa</b>
<b>B</b>	<b>CE</b>	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	<b>CP</b>	<b>Pa</b>
<b>C</b>	<b>CE</b>	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	<b>CP</b>	<b>Pa</b> <b>ATCC</b>
<b>D</b>	<b>CE</b>	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	<b>CP</b>	<b>Pa</b> <b>ATCC</b>
<b>E</b>	<b>CE</b>	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	<b>CP</b>	<b>Sa</b>
<b>F</b>	<b>CE</b>	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	<b>CP</b>	<b>Sa</b>
<b>G</b>	<b>CE</b>	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	<b>CP</b>	<b>Sa</b> <b>ATCC</b>
<b>H</b>	<b>CE</b>	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	<b>CP</b>	<b>Sa</b> <b>ATCC</b>

Nota: todas las concentraciones están en µL/mL

**Leyenda:**

- **CE:** Control de esterilidad
- **CP:** Control Positivo
- **Pa:** *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica
- **Pa ATCC:** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- **Sa:** *Staphylococcus aureus* cepa clínica
- **Sa ATCC:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Lectura de los resultados**

La lectura de los resultados se realizó de manera visual. Cualquier cambio de color de púrpura a rosado e incoloro se registraron como positivo. La concentración más baja en la que no se produjo cambio de color, se consideró como el valor de la CMI. Los promedios de tres valores fueron calculados y

reportaron como la CMI<sup>70,71</sup>. Para una correcta lectura de la CMI se siguió de acuerdo a las recomendaciones de Wiegand *et al.*<sup>71</sup>.

### Interpretación de resultados

La interpretación de los resultados se tomó en cuenta los parámetros de Paredes<sup>72</sup> y Holetz<sup>73</sup>. Se consideró que el aceite esencial posee una actividad antimicrobiana cuando el CMI  $\leq$  1000  $\mu\text{g/mL}$ . La actividad antimicrobiana se clasifica de la siguiente manera (Ver Tabla 4).

**Tabla 4.** Clasificación de la actividad antimicrobiana según el valor del CMI

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	CMI
Débil actividad	500 a 1000 $\mu\text{g/mL}$
Moderada actividad	100 a < 500 $\mu\text{g/mL}$
Buena actividad	< 100 $\mu\text{g/mL}$

### 3.3.12. Curva de crecimiento y viabilidad

Se realizó la curva de crecimiento de los microorganismos en estudio frente a una concentración ya determinada del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*, para evaluar la efectividad del aceite esencial en el estado planctónico de cada uno de los microorganismos. Se utilizó el método según Artini *et al.*<sup>74</sup> con modificaciones.

### Preparación del inóculo

Al iniciar la prueba, se aisló cada microorganismo en estudio por agotamiento en placas Petri con TSA y se incubó a 37 °C por 24 horas. Finalizado la incubación se eligió una colonia correctamente aislada y se inculó en 10 mL de TSB

(Inóculo 1) previamente reconstituido, esterilizado y enfriado; se llevó a incubación por 14 horas a 37 °C y con agitación constante<sup>74</sup>.

Culminada la incubación del *Inóculo 1*, se realizó una dilución de 1:100 en TSB (Inóculo 2). Se incubó el *Inóculo 2* por cuatro horas a 37 °C y con agitación constante.

Al término de la incubación del *Inóculo 2*, se usó en los grupos que contienen el inóculo para la prueba de la curva de crecimiento y viabilidad.

### **Preparación de la batería de tubos**

Adicional al inóculo, se preparó lo siguiente en 09 tubos de borosilicato por cada grupo de estudio (Ver *Tabla 5*):

- Inóculo: Dilución del inóculo 1:100 después de las cuatro horas de incubación.
- Solución Multipropósito (SMP): Caldo TSB doble concentración, esterilizado y enfriado. Al caldo se le adicionará el inóculo a razón de 1:50. Adicionar a ello se mezclará con la Solución Multipropósito estéril.
- Aceite: Caldo TSB esterilizado y enfriado. Se le añadirá el inóculo a razón de 1:100. La concentración correspondiente del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* para cada bacteria, fueron el CMI, la doble y cuádruple concentración del CMI, previamente ya determinadas.

La distribución de los tubos se realizó teniendo en cuenta el monitoreo de las horas las cuales fueron: 0, 1, 2, 4, 6, 18, 20, 22 y 24.

Todas las baterías de los grupos fueron trabajados por triplicado.

**Tabla 5.** Distribución de la batería de tubos por grupos

GRUPOS		TIEMPO DE INCUBACIÓN (Horas)							
		0	1	2	4	6	18	20	22
5 mL inóculo	Inóculo (Control Negativo)	Batería 1 x 9 tubos							
		Batería 2 x 9 tubos							
		Batería 3 x 9 tubos							
2,5 mL del inóculo + 2,5 mL SMP	SMP (Control Positivo)	Batería 1 x 9 tubos							
		Batería 2 x 9 tubos							
		Batería 3 x 9 tubos							
2,5 mL del inóculo + 2,5 mL Aceite cc A	Aceite A	Batería 1 x 9 tubos							
		Batería 2 x 9 tubos							
		Batería 3 x 9 tubos							
2,5 mL del inóculo + 2,5 mL Aceite cc B	Aceite B	Batería 1 x 9 tubos							
		Batería 2 x 9 tubos							
		Batería 3 x 9 tubos							
2,5 mL del inóculo + 2,5 mL Aceite cc C	Aceite C	Batería 1 x 9 tubos							
		Batería 2 x 9 tubos							
		Batería 3 x 9 tubos							

*Nota: Esta tabla es como referencia para una sola bacteria*

**Leyenda:**

- **SMP:** Solución Multipropósito
- **Aceite cc A:** Aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* concentración A (CMI)
- **Aceite cc B:** Aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* concentración B (2CMI)
- **Aceite cc C:** Aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* concentración C (4CMI)

**Procedimiento de la prueba**

Todos los grupos fueron incubados por 24 horas a 37 °C. Los tubos se fueron retirando de la incubadora en las horas previamente establecidas y se llevaron a una temperatura de 4 °C para su posterior lectura en el espectrofotómetro UV-Visible.

Una vez terminado la incubación de 24 horas, se procedió a realizar la lectura de la Densidad Óptica (DO) en el espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 600 nm<sup>74</sup>.

### **Interpretación de Resultados**

Al obtener datos de la Densidad óptica de los diferentes grupos, estas se interpretarán en forma de Curva logarítmica con función al tiempo de incubación.

El grupo del Inóculo se considera como control negativo y el grupo del Inóculo más la Solución Multipropósito, como control positivo.

Se espera que la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*, sea mejor o igual que la actividad de la Solución Multipropósito.

### **3.3.13. Evaluación de la eficacia del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* durante la formación de la biopelícula**

Para esta evaluación se utilizó el método de la cuantificación de la formación de biopelículas, específicamente el ensayo de la biopelícula estática según Artini *et al.*<sup>74</sup> con modificaciones.

### **Preparación del inóculo**

Para evaluar la eficacia del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* durante la formación de biopelícula en los lentes de contacto blandos, se procederá la preparación del inóculo<sup>74</sup> con el mismo procedimiento de la curva de crecimiento y viabilidad, detallado anteriormente.

Al igual que la prueba anterior se trabajará con el *Inóculo 2* y en los grupos de estudio a evaluar. Se utilizará los lentes de contacto blandos.

## **Preparación de los grupos**

Los grupos de estudio fueron preparados de la siguiente manera: (Ver *Tabla 6*)

- Control: Dilución 1:100 del *Inóculo 2* después de las cuatro horas de incubación.
- Solución Multipropósito (SMP): Caldo TSB doble concentración, esterilizado y enfriado. Al caldo se le adicionará el inóculo a razón de 1:50. Posteriormente en la prueba se mezclará con la Solución Multipropósito estéril a razón de 1:1.
- Aceite: Caldo TSB esterilizado y enfriado. Se le añadirá el inóculo a razón de 1:100. La concentración correspondiente del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* para cada bacteria.

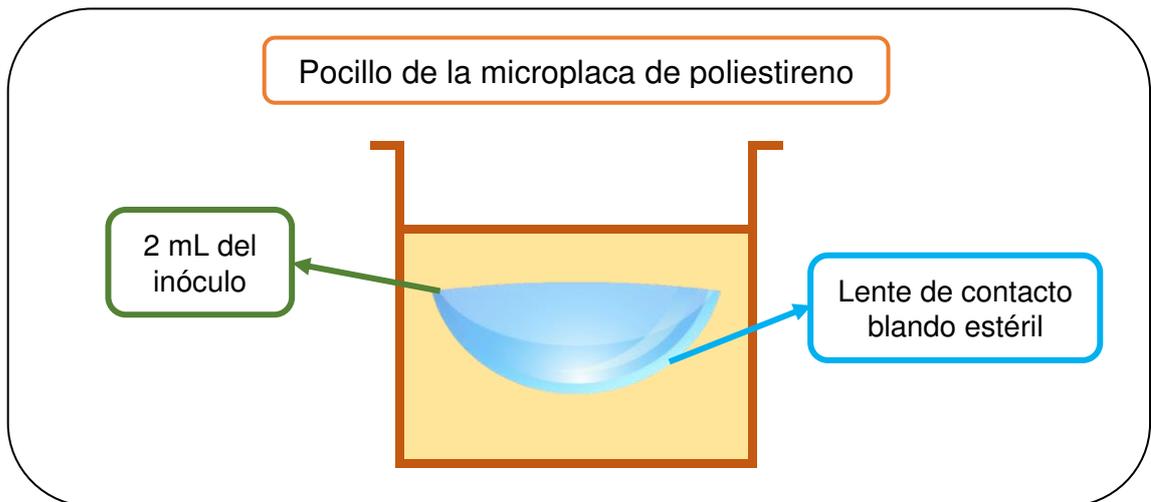
La distribución de los grupos se realizó teniendo en cuenta el monitoreo de las horas las cuales fueron: 2, 4 y 8 horas. Los grupos de los aceites fueron trabajados por triplicado.

## **Procedimiento de la prueba**

Para la prueba se utilizaron las placas de poliestireno de 24 pocillos estériles. Los pocillos fueron distribuidos por grupos y por bacteria, se utilizó una placa por cada hora establecida.

A los pocillos se le adicionaron un total de 2 mL de todos los grupos ya establecidos (Ver *tabla 6*), seguidamente se procedió a colocar los lentes de contacto blandos estériles tal y como se muestra en la *figura 2*. La incubación fue a 37 °C por la cantidad de horas ya establecidas 2, 4 y 8 horas.

Una vez terminado el tiempo de incubación, se procedió a retirar los lentes en placas de poliestireno de 24 pocillos estériles y nuevas, teniendo en cuenta el mismo esquema de distribución de la *Tabla 6*. Se lavaron con solución salina estéril los lentes y los pocillos donde se realizó la incubación.



**Figura 2.** Forma de colocar el lente de contacto blando en los pocillos de la microplaca de poliestireno. Referencia de un pocillo con inóculo de la bacteria.

Terminado el tiempo de lavado, se dejaron secar a temperatura ambiente. En los pocillos iniciales de incubación y en los nuevos pocillos donde se colocaron los lentes de contacto, se le adicionaron 2 mL de cristal violeta al 0,1% y se dejaron por 15 minutos.

Culminado los minutos de tinción, se procedió al lavado con solución salina estéril tantas veces sea necesario hasta que salga todo el cristal violeta. Se dejó secar a temperatura ambiente. Terminado el tiempo de secado, se procedió a decolorar con 2 mL de la solución de Alcohol – Acetona 80:20 (74).

Se determinó la densidad óptica (DO) de la solución coloreada en un espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 590 nm (74).

**Tabla 6.** Diseño de la distribución en una microplaca de poliestireno de 24 pocillos en la formación de biopelículas.

	1	2	3	4	5	6
<b>A</b>	TSB	Pa	SMP + Pa	AC + Pa	AC + Pa	AC + Pa
<b>B</b>	vacío	Pa ATCC	SMP + Pa ATCC	AC + Pa ATCC	AC + Pa ATCC	AC + Pa ATCC
<b>C</b>	vacío	Sa	SMP + Sa	AC + Sa	AC + Sa	AC + Sa
<b>D</b>	vacío	Sa ATCC	SMP + Sa ATCC	AC + Sa ATCC	AC + Sa ATCC	AC + Sa ATCC
<b>GRUPOS</b>	2 mL TSB	2 mL Inóculo	1 mL SMP + 1 mL Inóculo	1 mL Inóculo + 1 mL Aceite concentración determinada		
	BLANCO	INÓCULO (Control Negativo)	SMP (Control positivo)	ACEITE		

Nota: Se utilizó una placa por cada hora de incubación.

**Leyenda:**

- **TSB:** Caldo TSB
- **SMP:** Solución Multipropósito.
- **AC:** Aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (para cada bacteria fue el 4CMI según la curva de crecimiento y viabilidad)
- **Pa:** *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica
- **Pa ATCC:** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- **Sa:** *Staphylococcus aureus* cepa clínica
- **Sa ATCC:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Interpretación de Resultados**

Al obtener datos de la Densidad óptica de los diferentes grupos, estas se interpretarán de tal manera que a mayor absorbancia mayor formación de biopelícula.

Los resultados se expresarán en porcentajes de concentración de la biopelícula, tomando como referencia el grupo de inóculo como un total de 100 %, donde el menor porcentaje en los otros grupos será evidencia de una mayor inhibición en la formación de biopelículas en lentes de contacto blando.

El grupo del Inóculo se considera como grupo Control positivo, el grupo del Inóculo más la Solución Multipropósito como control negativo.

Se espera que la actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*, sea mejor o igual que la actividad de la Solución Multipropósito frente a la formación de biopelículas en los lentes de contacto blando.

#### **3.3.14 Evaluación de la eficacia del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* en una biopelícula madura**

En esta evaluación se utilizó el método de la cuantificación de la formación de biopelículas, específicamente el ensayo de la biopelícula estática según Artini *et al.*<sup>74</sup> con modificaciones.

En este experimento se busca demostrar la efectividad del aceite en una biopelícula preformada inducida *in vitro* de las bacterias en estudio, frente a una solución multipropósito existente en el mercado.

#### **Preparación del inóculo**

Para evaluar la eficacia del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* una biopelícula madura inducida *in vitro* en los lentes de contacto blandos, se procederá la preparación del inóculo con el mismo procedimiento de la curva de crecimiento y viabilidad, detallado ya anteriormente.

Al igual que la prueba anterior se trabajará con el *Inóculo 2* y en los grupos de estudio a evaluar. Se utilizará los lentes de contacto blandos.

## Preparación de los grupos

Los grupos de estudio fueron preparados teniendo en cuenta las dos fases, la primera de formación de biopelículas y la segunda que es la evaluación de la actividad del aceite en dicha biopelícula madura.

Para la primera fase se distribuyó de la siguiente manera (Ver Tabla 7)

- Control: Dilución 1:100 del *Inóculo 2* después de las cuatro horas de incubación.
- Solución Multipropósito (SMP): Dilución 1:100 del *Inóculo 2* después de las cuatro horas de incubación.
- Aceite: Dilución 1:100 del *Inóculo 2* después de las cuatro horas de incubación..

En la segunda fase, se añadió lo correspondiente a cada grupo (Ver tabla 8)

- Control: Caldo TSB esterilizado y enfriado.
- Solución Multipropósito (SMP): Solución Multipropósito estéril.
- Aceite: Caldo TSB esterilizado y enfriado. Se le añadirá la concentración correspondiente del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* para cada bacteria.

La distribución de los grupos se realizó teniendo en cuenta las bacterias a estudiar. Los grupos de los aceites fueron trabajados por triplicado.

**Tabla 7.** Diseño de la distribución en la microplaca de 24 pocillos para la formación *in vitro* de la biopelícula.

	1	2	3	4	5	6
A	TSB	Pa	Pa	Pa	Pa	Pa
B	vacío	Pa ATCC	Pa ATCC	Pa ATCC	Pa ATCC	Pa ATCC
C	vacío	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa
D	vacío	Sa ATCC	Sa ATCC	Sa ATCC	Sa ATCC	Sa ATCC
GRUPOS	2 mL TSB	2 mL Inóculo	2 mL Inóculo	2 mL Inóculo		
	BLANCO	INÓCULO (Control Negativo)	SMP (Control positivo)	ACEITE		

Nota: Esta placa fue incubada por 18 horas para la inducción de las biopelículas *in vitro* en los lentes de contacto blando

**Leyenda:**

- **TSB:** Trypticase soya broth (Caldo TSB)
- **SMP:** Solución Multipropósito.
- **Pa:** *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica
- **Pa ATCC:** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- **Sa:** *Staphylococcus aureus* cepa clínica
- **Sa ATCC:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Procedimiento de la prueba**

Se utilizaron las placas de poliestireno de 24 pocillos estériles. Los pocillos fueron distribuidos por grupos y por bacteria (Ver tablas 7 y 8). La prueba cuenta con dos fases: Formación *in vitro* de la biopelícula de las bacterias en estudio y evaluación de la actividad del aceite en dicha biopelícula madura.

Para la primera fase, se le adicionaron un total de 2 mL de inóculo a todos los pocillos. El inóculo es referente a las bacterias en estudio (Ver tabla 7), seguidamente se procedió a colocar los lentes de contacto blandos estériles tal y como se muestra en la figura 2. La incubación fue por 18 horas a 37 °C.

Una vez terminado el tiempo de incubación, se procedió con la segunda fase. Los lentes y los pocillos fueron lavados tantas veces sea necesario con la solución salina 0,9% estéril, para así remover las bacterias que no forman parte de las biopelículas preformadas tanto en el lente de contacto y en los pocillos de la microplaca. Se dejaron secar a temperatura ambiente.

Terminado el secado se procedió de la siguiente manera: al grupo de control positivo o inóculo, se le añadió 2 mL de TSB, al grupo de la solución multipropósito o control negativo, 2 mL de la solución multipropósito y al grupo del aceite, 1 mL de TSB y 1 mL de TSB con el aceite a la concentración determinada por bacteria, tal y como se muestra en la tabla 9. Se llevó a incubación por 24 horas a 37 °C.

Culminada la incubación, los lentes fueron colocados en una nueva microplaca de poliestireno de 24 pocillos, teniendo en cuenta el mismo esquema de distribución de las tablas 7 y 8 Se lavaron con solución salina estéril los lentes y los pocillos donde se realizaron las incubaciones.

Terminado el tiempo de lavado, se dejaron secar a temperatura ambiente. En los pocillos iniciales de incubación y en los nuevos pocillos donde se colocaron los lentes de contacto, se le adicionaron 2 mL de cristal violeta al 0,1% y se dejaron por 15 minutos.

**Tabla 8.** Diseño de la distribución en la microplaca de 24 pocillos para la evaluación del aceite en la biopelícula madura.

	1	2	3	4	5	6
<b>A</b>	TSB	Pa	SMP	AC	AC	AC
<b>B</b>	vacío	Pa ATCC	SMP	AC	AC	AC
<b>C</b>	vacío	Sa	SMP	AC	AC	AC
<b>D</b>	vacío	Sa ATCC	SMP	AC	AC	AC
<b>GRUPOS</b>	2 mL TSB	2 mL TSB	2 mL SMP	1 mL Inóculo + 1 mL Aceite concentración determinada		
	BLANCO	INÓCULO (Control Negativo)	SMP (Control positivo)	ACEITE		

Nota: Esta placa fue incubada por 24 horas.

### Leyenda:

- **TSB:** Tripticasa soya broth (Caldo TSB)
- **SMP:** Solución Multipropósito.
- **AC:** Aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (para cada bacteria fue el 4CMI según la curva de crecimiento y viabilidad))
- **Pa:** *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica
- **Pa ATCC:** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- **Sa:** *Staphylococcus aureus* cepa clínica
- **Sa ATCC:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Terminado el tiempo de lavado, se dejaron secar a temperatura ambiente. En los pocillos iniciales de incubación y en los nuevos pocillos donde se colocaron los lentes de contacto, se le adicionaron 2 mL de cristal violeta al 0,1% y se dejaron por 15 minutos.

Culminado los minutos de tinción, se procedió al lavado con la solución salina 0,9 % estéril tantas veces sea necesario hasta que salga todo el cristal violeta.

Se dejó secar a temperatura ambiente. Terminado el tiempo de secado, se procedió a decolorar con 2 mL de la solución de Alcohol – Acetona 80:20<sup>74</sup>.

Se determinó la densidad óptica (DO) de la solución coloreada en un espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 590 nm.

### **Interpretación de Resultados**

Al obtener datos de la Densidad óptica de los diferentes grupos, estas se interpretarán de tal manera que a mayor absorbancia mayor presencia de la biopelícula maduras.

Los resultados se expresarán en porcentajes de concentración de la biopelícula, tomando como referencia el grupo de inóculo como un total de 100 %, donde el menor porcentaje en los otros grupos será evidencia de una mayor actividad frente a biopelículas maduras inducidas *in vitro* en los lentes de contacto blando.

El grupo del Inóculo se considera como grupo Control positivo, el grupo de la Solución Multipropósito como control negativo.

Se espera que la actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*, sea mejor o igual que la actividad de la Solución Multipropósito frente a las biopelículas maduras inducidas *in vitro* en los lentes de contacto blando.

### **3.4. Organización de la información**

La organización de toda la información recolectada en el presente estudio se dispuso en tablas y figuras.

### **3.5. Análisis estadístico**

Para el análisis de los datos obtenidos, se utilizó la estadística descriptiva mediante la media aritmética y la desviación estándar.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Análisis preliminar del aceite esencial

En la tabla 9 se muestra las características sensoriales y la densidad del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum*.

**Tabla 9.** Propiedades físicas del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum*.

<b>PROPIEDADES</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
<b>Aspecto</b>	Líquido oleoso traslúcido
<b>Color</b>	Amarillo intenso a naranja
<b>Olor</b>	Fuerte olor característico
<b>Sabor</b>	Acre
<b>Densidad</b>	1,006 (23,3 °C)

La densidad del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum*, fue determinado a través del Densímetro de la marca Mettler Toledo – Densito 30 PX.

### 4.2. Identificación microbiológica

#### 4.2.1. Identificación del *Staphylococcus aureus*

Los resultados de la identificación microbiológica para *Staphylococcus aureus* según las especificaciones del Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias del INS<sup>60</sup>, dieron positivo para la cepa clínica de *Staphylococcus aureus*. Se tomó como referencia a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en las pruebas bioquímicas realizadas.

Según la morfología celular por tinción Gram se muestra cocos gram positivos distribuidos en forma de racimos. Las colonias que crecieron en el Agar sangre

fueron lisas, algo elevadas de borde entero y de color crema, presentando  $\beta$ -hemólisis. Se confirmó la cepa al dar positivo en la prueba de Catalasa, Manitol y DNAsa.

#### **4.2.2. Identificación de *Pseudomonas aeruginosa***

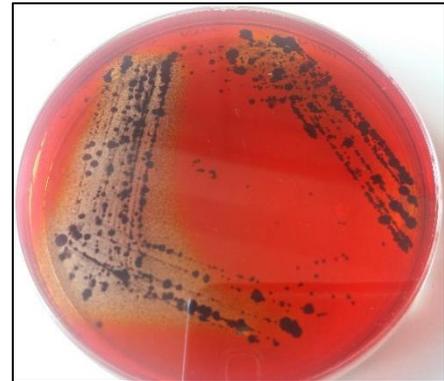
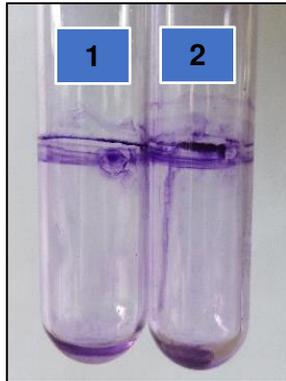
Los resultados de la identificación microbiológica para *Pseudomonas aeruginosa* según las especificaciones del Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias del INS<sup>60</sup>, dio positivo para la cepa clínica de *Pseudomonas aeruginosa*, tomando como referencia a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

La morfología celular por tinción Gram fue de bacilos gram negativos. Las colonias que crecieron en el agar Cetrimide fueron lisas, planas, extendidas, de borde aserrado, aspecto mucoso y de color verde tanto para la cepa clínica como la cepa ATCC 9027. El crecimiento a 42°C en el agar TSA fue positivo al igual que las pruebas bioquímicas como oxidasa y citrato. En la prueba de fermentación de azúcares dio negativo.

#### **4.3. Evaluación de la capacidad de Formación de Biopelículas**

Los resultados de la evaluación de la capacidad formadora de biopelículas según el método del tubo, dio positivo para las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* clínicas y se tomó como referencia a la *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. según el método del tubo dio positivo. Se quedó con la cepa clínica que dio mayor formación de biopelícula según el método.

Los resultados las cepas de *Staphylococcus aureus* clínica según el método de rojo de Congo, dio positivo para una cepa clínica. Se tomó como referencia al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



**Figura 3.** Resultado del método del tubo. **Figura 4.** Resultado del método de Rojo de Congo para *Staphylococcus aureus* cepa clínica.  
 1. *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica  
 2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

#### 4.4. Actividad antimicrobiana

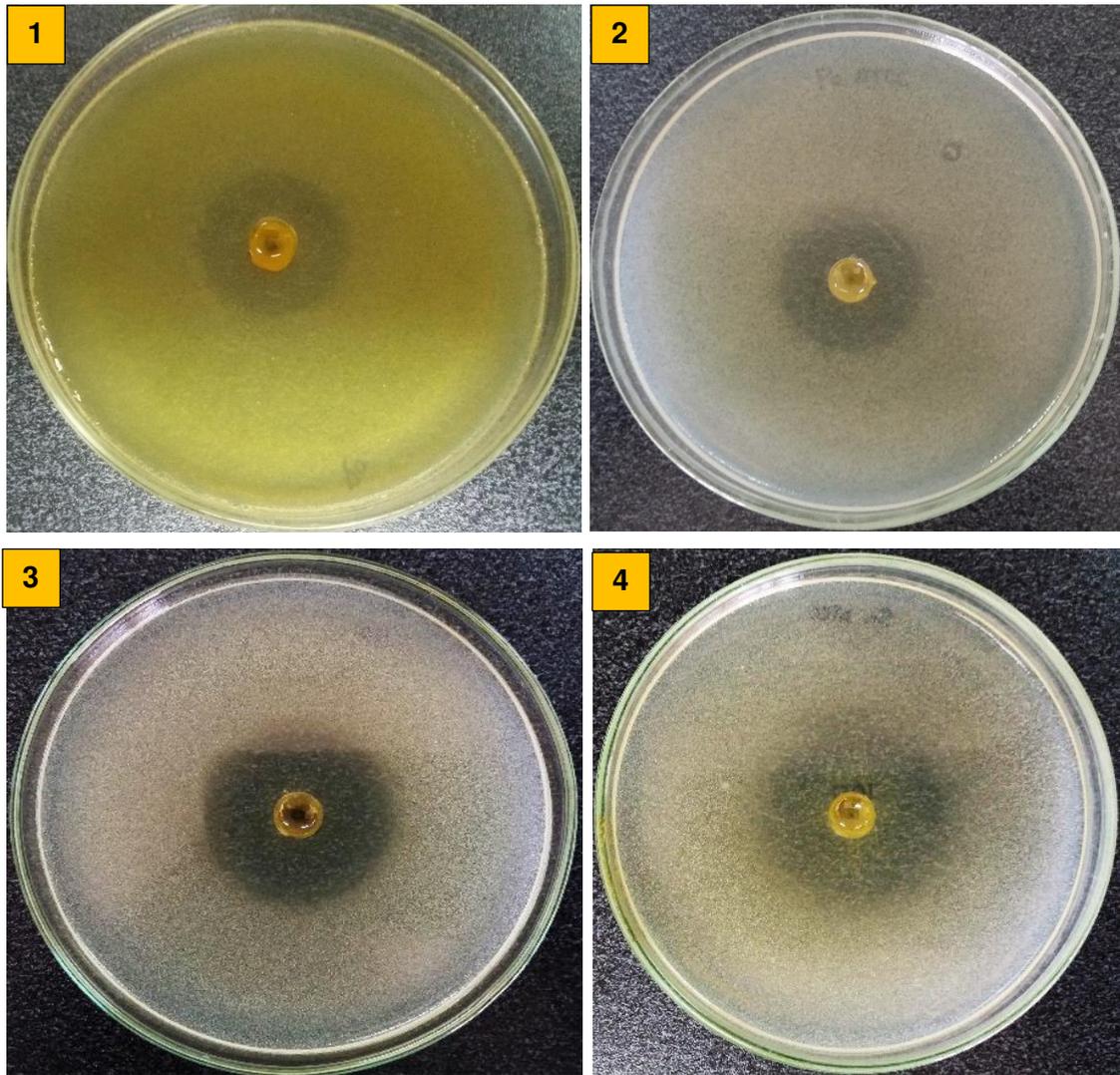
##### 4.4.1. Método de difusión en agar

Los resultados de este estudio se muestran en la tabla 10 y la figuras 5.

**Tabla 10.** Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* mediante el método de difusión en Agar.

Microorganismos	Zona de Inhibición (mm)		
	100%	50%	10%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27,35 ± 0,96	26,73 ± 1,25	24,70 ± 1,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	26,81 ± 1,47	27,21 ± 0,66	24,00 ± 0,23
<i>Staphylococcus aureus</i>	34,62 ± 1,37	34,97 ± 0,55	31,62 ± 0,72
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	40,61 ± 0,32	41,97 ± 0,37	40,04 ± 0,48

Leyenda: Los resultados están expresados en Promedio ± Desviación estándar.



**Figura 5.** Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* al 100% por el método de difusión en agar. **1.** *Pseudomonas aeruginosa* **2.** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 **3.** *Staphylococcus aureus* **4.** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

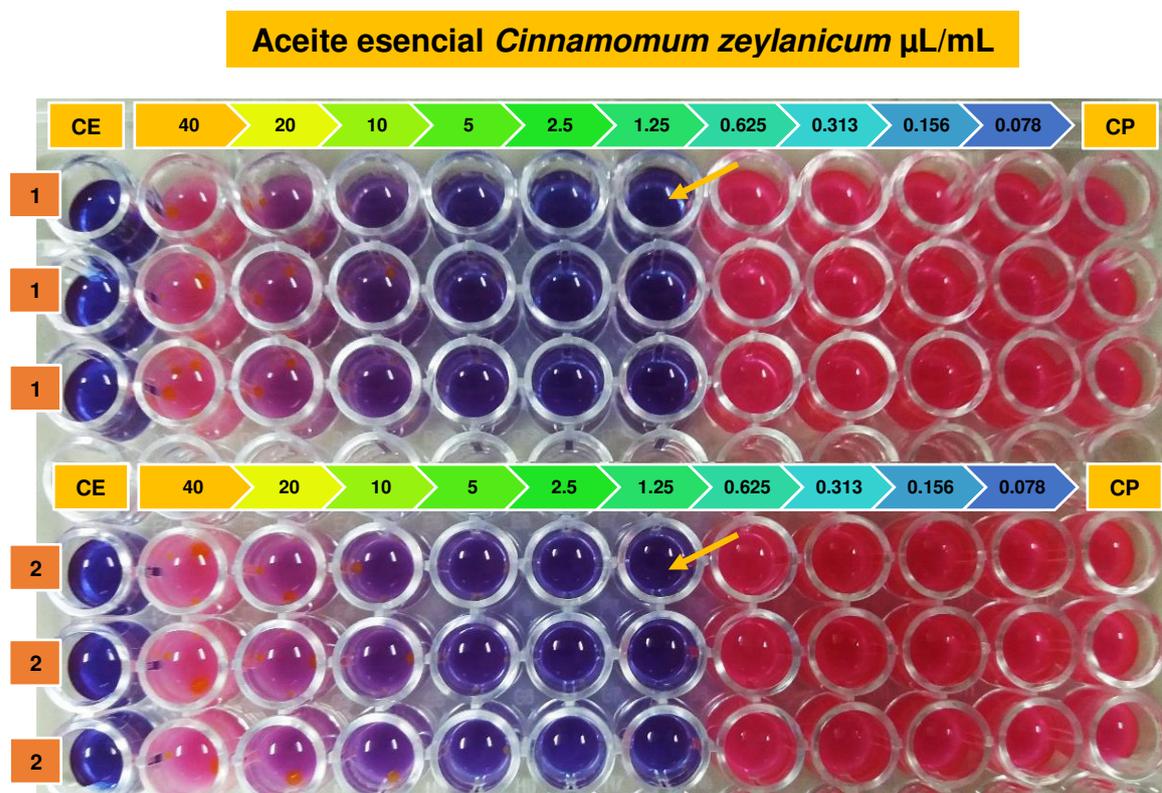
#### **4.4.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de microdilución colorimétrica en placa.**

Los resultados de la determinación del CMI del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* se muestran en la tabla 11 y figuras 6 y 7.

**Tabla 11.** Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*.

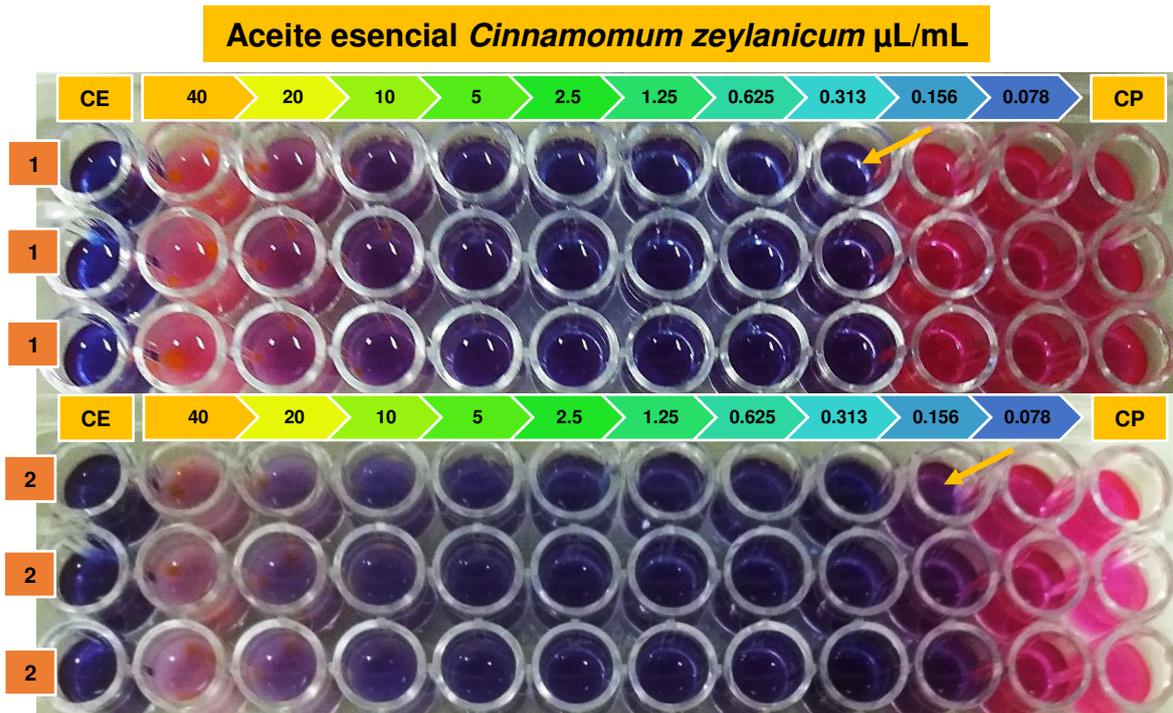
Microorganismos	CMI ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,250 $\pm$ 0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	1,250 $\pm$ 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,313 $\pm$ 0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,104 $\pm$ 0,045

Leyenda: Los resultados están expresados en Promedio  $\pm$  Desviación estándar.



Leyenda: **CE.** Control de Esterilidad. **CP.** Control Positivo **1.** *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica. **2.** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

**Figura 6.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en *Pseudomonas aeruginosa*.



Leyenda: **CE.** Control de Esterilidad. **CP.** Control Positivo **1.** *Staphylococcus aureus* cepa clínica **2.** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Figura 7.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en *Staphylococcus aureus*.

#### 4.5. Curva de Crecimiento y Viabilidad

Los resultados obtenidos de la actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en tres concentraciones diferentes, realizado en una curva de crecimiento de cada microorganismo en estudio, se presentan en las siguientes tablas 13 y 14 y en las figuras 08, 09, 10 y 11

Para cada microorganismo se usó tres concentraciones diferentes, se tomaron como referencia el CMI promedio (Concentración A) y sus dobles concentraciones (Concentración B – 2CMI y Concentración C – 4CMI), tal y como se muestra en la tabla 12

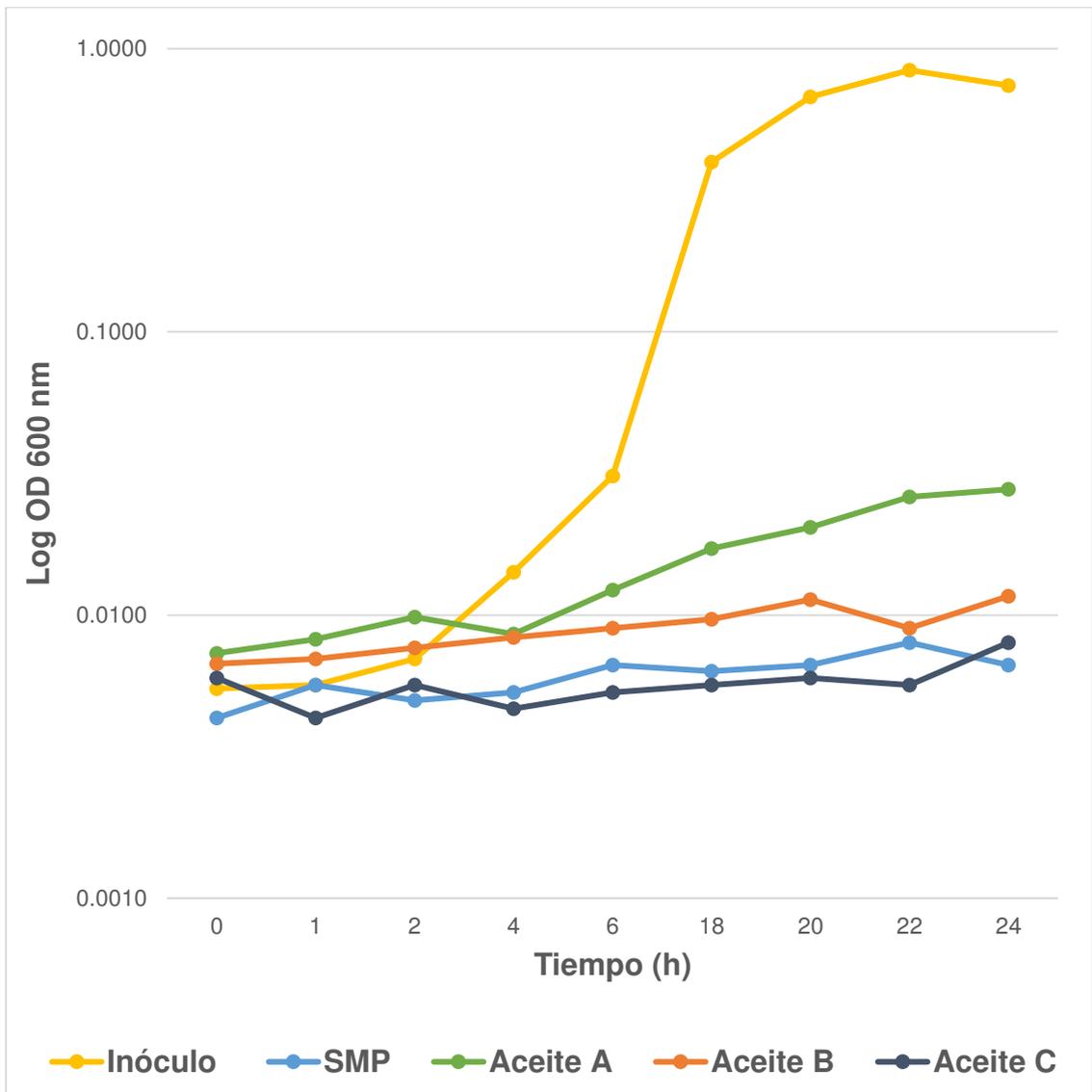
**Tabla 12.** Concentración del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* usadas en la curva de crecimiento y viabilidad.

Microorganismos	Concentración del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>		
	A	B	C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,25 µL/mL	2,5 µL/mL	5 µL/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	1,25 µL/mL	2,5 µL/mL	5 µL/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,313 µL/mL	0,625 µL/mL	1,25 µL/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,104 µL/mL	0,313 µL/mL	0,625 µL/mL

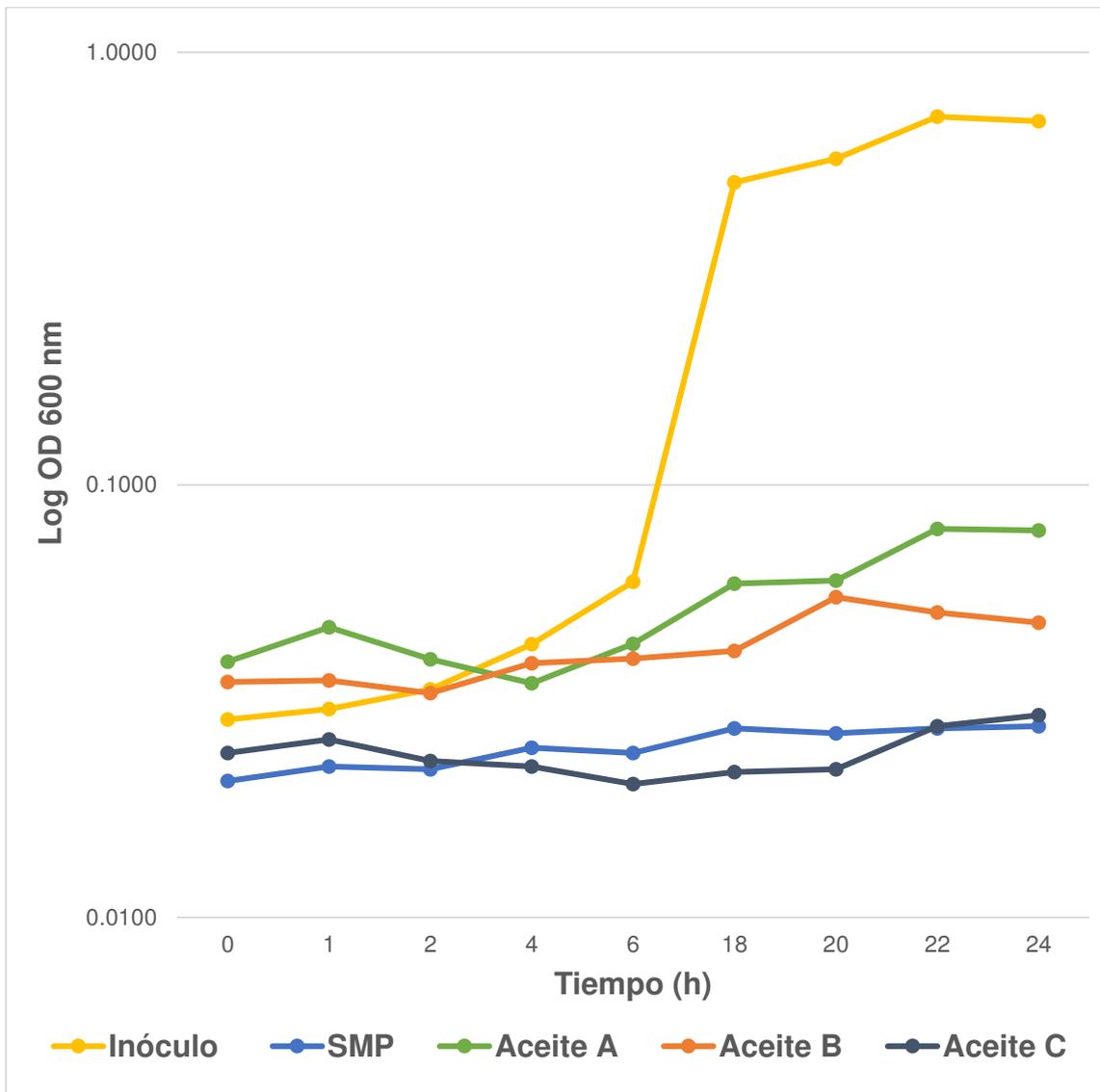
**Tabla 13.** Resultados de la Densidad Óptica (DO) en la curva de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

GRUPO		TIEMPO (horas)								
		0	1	2	4	6	18	20	22	24
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>Inóculo</b> (Control Negativo)	0,0055 ± 0,0005	0,0057 ± 0,0006	0,0070 ± 0,0015	0,0142 ± 0,0026	0,0310 ± 0,0025	0,3977 ± 0,0999	0,6752 ± 0,2140	0,8402 ± 0,2157	0,7417 ± 0,3766
	<b>SMP</b> (Control Positivo)	0,0043 ± 0,0029	0,0057 ± 0,0021	0,0050 ± 0,0017	0,0053 ± 0,0045	0,0067 ± 0,0042	0,0063 ± 0,0015	0,0067 ± 0,0025	0,0080 ± 0,0010	0,0067 ± 0,0035
	<b>Aceite A</b>	0,0073 ± 0,0067	0,0082 ± 0,0067	0,0098 ± 0,0074	0,0086 ± 0,0010	0,0123 ± 0,0045	0,0172 ± 0,0084	0,0204 ± 0,0073	0,0262 ± 0,0075	0,0278 ± 0,0175
	<b>Aceite B</b>	0,0067 ± 0,0077	0,0070 ± 0,0056	0,0077 ± 0,0025	0,0083 ± 0,0042	0,0090 ± 0,0140	0,0097 ± 0,0085	0,0113 ± 0,0031	0,0090 ± 0,0061	0,0117 ± 0,0049
	<b>Aceite C</b>	0,0060 ± 0,0020	0,0043 ± 0,0025	0,0057 ± 0,0015	0,0047 ± 0,0031	0,0053 ± 0,0015	0,0057 ± 0,0025	0,0060 ± 0,0044	0,0057 ± 0,0035	0,0080 ± 0,0020
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<b>Inóculo</b> (Control Negativo)	0,0287 ± 0,0012	0,0303 ± 0,0020	0,0337 ± 0,0010	0,0428 ± 0,0297	0,0597 ± 0,0525	0,5003 ± 0,1514	0,5672 ± 0,0232	0,7102 ± 0,1060	0,6937 ± 0,1720
	<b>SMP</b> (Control Positivo)	0,0207 ± 0,0015	0,0223 ± 0,0035	0,0220 ± 0,0036	0,0247 ± 0,0090	0,0240 ± 0,0046	0,0273 ± 0,0075	0,0267 ± 0,0025	0,0273 ± 0,0045	0,0277 ± 0,0068
	<b>Aceite A</b>	0,0390 ± 0,0282	0,0469 ± 0,0085	0,0395 ± 0,0210	0,0348 ± 0,0189	0,0429 ± 0,0100	0,0591 ± 0,0180	0,0601 ± 0,0320	0,0791 ± 0,0155	0,0785 ± 0,0035
	<b>Aceite B</b>	0,0350 ± 0,0197	0,0353 ± 0,0174	0,0330 ± 0,0046	0,0387 ± 0,0195	0,0397 ± 0,0276	0,0413 ± 0,0114	0,0550 ± 0,0104	0,0507 ± 0,0181	0,0480 ± 0,0183
	<b>Aceite C</b>	0,0240 ± 0,0115	0,0258 ± 0,0040	0,0230 ± 0,0171	0,0223 ± 0,0120	0,0203 ± 0,0137	0,0217 ± 0,0180	0,0220 ± 0,0085	0,0277 ± 0,0182	0,0293 ± 0,0191

Legenda: Los resultados están expresados en Promedio ± Desviación estándar.



**Figura 8.** Curva de viabilidad de *Pseudomonas aeruginosa* frente a la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*.

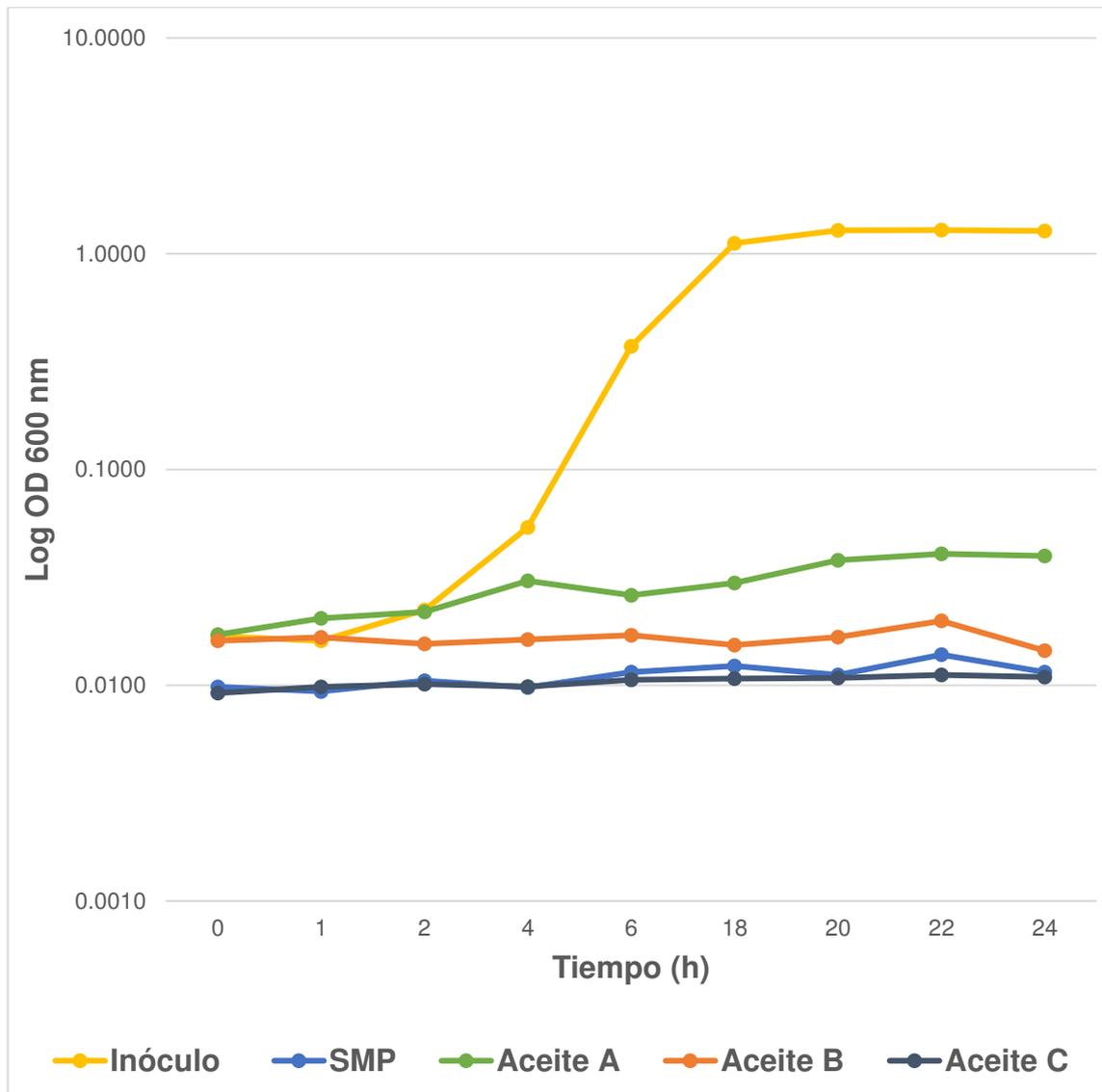


**Figura 9.** Curva de viabilidad de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 frente a la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*.

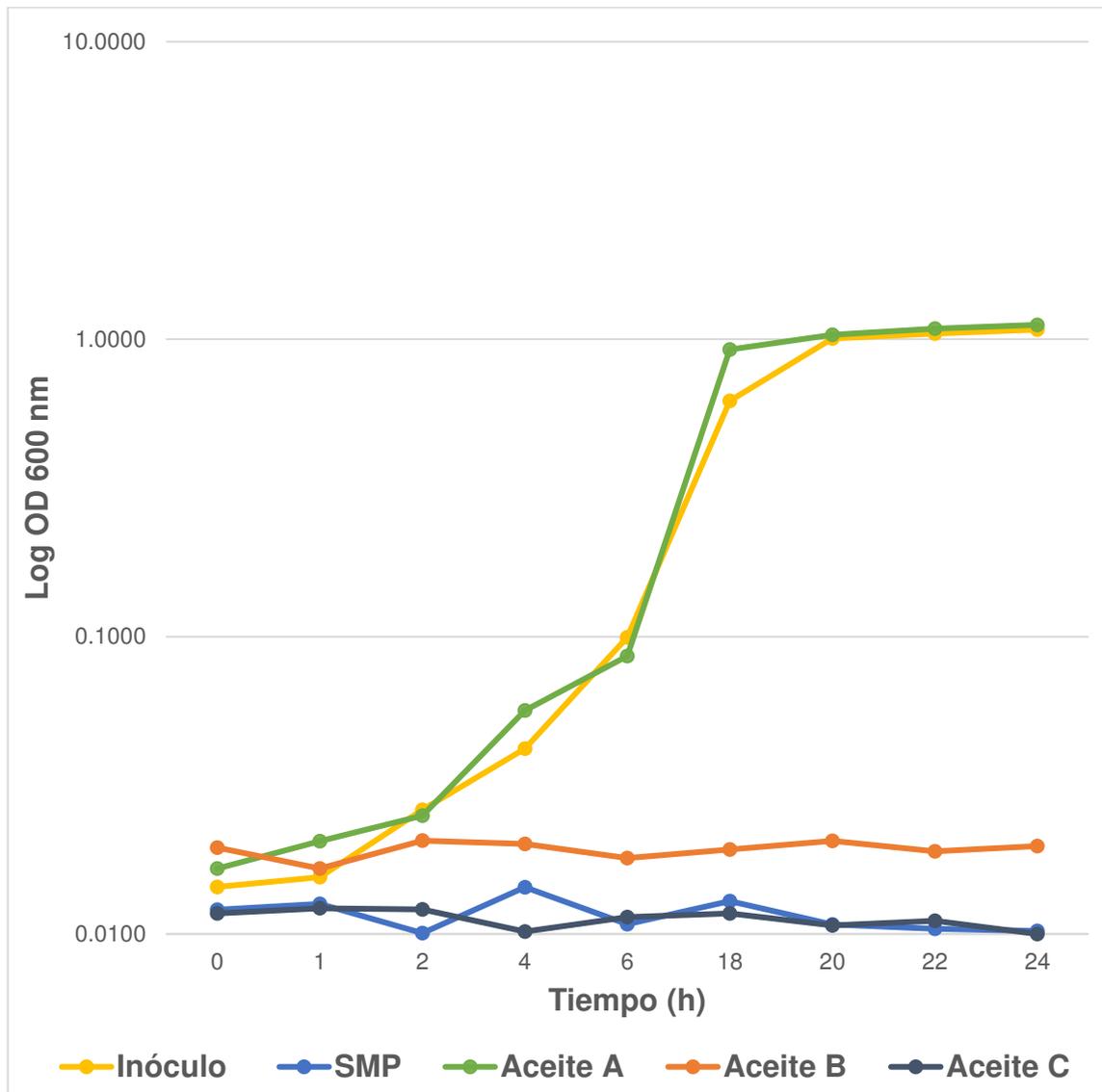
**Tabla 14.** Resultados de la Densidad Óptica (DO) en la curva de crecimiento *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

GRUPO		TIEMPO (horas)								
		0	1	2	4	6	18	20	22	24
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b>Inóculo</b> (Control Negativo)	0,0169 ± 0,0103	0,0161 ± 0,0044	0,0223 ± 0,0097	0,0539 ± 0,0477	0,3721 ± 0,0225	1,1202 ± 0,1412	1,2825 ± 0,0508	1,2870 ± 0,0350	1,2754 ± 0,0280
	<b>SMP</b> (Control Positivo)	0,0098 ± 0,0032	0,0094 ± 0,0008	0,0105 ± 0,0017	0,0097 ± 0,0013	0,0115 ± 0,0044	0,0123 ± 0,0051	0,0112 ± 0,0008	0,0139 ± 0,0005	0,0115 ± 0,0005
	<b>Aceite A</b>	0,0172 ± 0,0044	0,0204 ± 0,0094	0,0219 ± 0,0128	0,0305 ± 0,0165	0,0261 ± 0,0104	0,0298 ± 0,0336	0,0380 ± 0,0157	0,0407 ± 0,0464	0,0398 ± 0,0160
	<b>Aceite B</b>	0,0161 ± 0,0101	0,0167 ± 0,0126	0,0155 ± 0,0062	0,0163 ± 0,0132	0,0171 ± 0,0049	0,0153 ± 0,0123	0,0167 ± 0,0134	0,0199 ± 0,0048	0,0145 ± 0,0021
	<b>Aceite C</b>	0,0092 ± 0,0026	0,0098 ± 0,0064	0,0101 ± 0,0057	0,0099 ± 0,0113	0,0106 ± 0,0032	0,0107 ± 0,0056	0,0108 ± 0,0049	0,0112 ± 0,0065	0,0109 ± 0,0095
<b><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</b>	<b>Inóculo</b> (Control Negativo)	0,0144 ± 0,0025	0,0155 ± 0,0043	0,0262 ± 0,0017	0,0420 ± 0,0137	0,0994 ± 0,0119	0,6201 ± 0,0807	1,0052 ± 0,1270	1,0438 ± 0,0472	1,0765 ± 0,0267
	<b>SMP</b> (Control Positivo)	0,0121 ± 0,0020	0,0126 ± 0,0013	0,0101 ± 0,0006	0,0144 ± 0,0023	0,0108 ± 0,0010	0,0129 ± 0,0030	0,0108 ± 0,0032	0,0104 ± 0,0005	0,0103 ± 0,0005
	<b>Aceite A</b>	0,0166 ± 0,0008	0,0205 ± 0,0110	0,0250 ± 0,0126	0,0565 ± 0,0039	0,0860 ± 0,0191	0,9227 ± 0,0113	1,0350 ± 0,0968	1,0847 ± 0,0728	1,1176 ± 0,0271
	<b>Aceite B</b>	0,0195 ± 0,0071	0,0166 ± 0,0077	0,0206 ± 0,0126	0,0201 ± 0,0059	0,0180 ± 0,0076	0,0192 ± 0,0136	0,0206 ± 0,0161	0,0190 ± 0,0083	0,0198 ± 0,0117
	<b>Aceite C</b>	0,0177 ± 0,0056	0,0122 ± 0,0086	0,0121 ± 0,0047	0,0102 ± 0,0053	0,0114 ± 0,0095	0,0117 ± 0,0042	0,0107 ± 0,0091	0,0111 ± 0,0070	0,0100 ± 0,0085

Legenda: Los resultados están expresados en Promedio ± Desviación estándar.



**Figura 10.** Curva de viabilidad de *Staphylococcus aureus* frente a la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*.



**Figura 11.** Curva de viabilidad de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente a la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*.

#### 4.6. Evaluación de la eficacia del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* durante la formación de la biopelícula.

Los resultados obtenidos en la evaluación del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* durante la formación de biopelículas de los microorganismos en estudio, inducidos *in vitro* en los lentes de contacto blando, se presentan de la siguiente manera: en la tablas 16 los resultados de las lecturas de la Densidad óptica (DO) y en las figuras 12 y 13, el porcentaje de la concentración de la biopelícula con referencia al grupo control en los lentes de contacto blando y en los pocillos de la microplaca de poliestireno.

Para cada microorganismo se utilizó la concentración más alta del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* (Ver tabla 15) que es el equivalente a 4 veces el CMI. Esta concentración se determinó después de la evaluación de la curva de crecimiento y viabilidad donde las concentraciones más altas en cada microorganismo demostraron tener una actividad igual o mejor que la solución multipropósito en la curva de crecimiento y viabilidad.

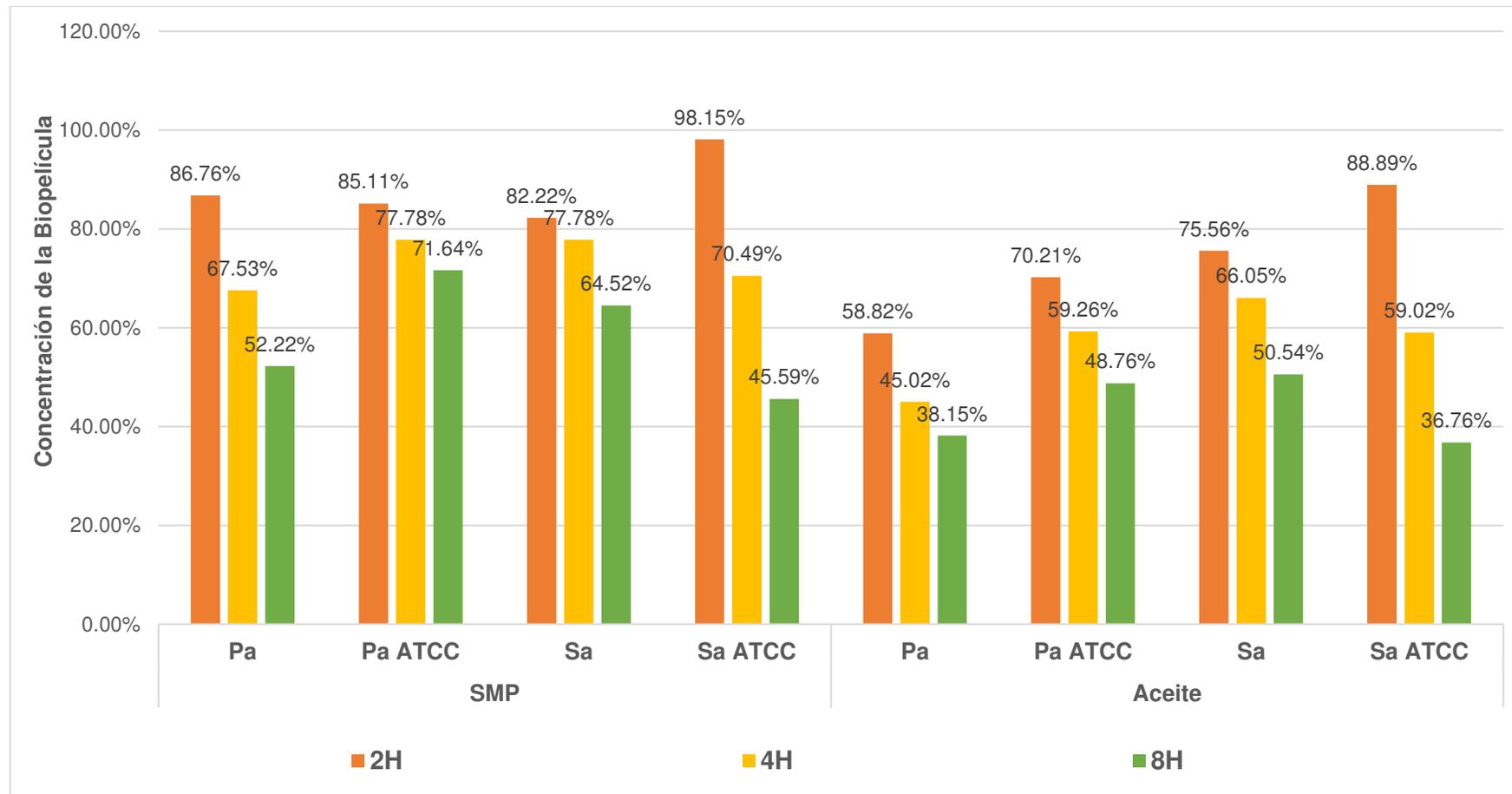
**Tabla 15.** Concentración del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* usadas en la evaluación de la eficacia del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* durante la formación de biopelículas inducidas *in vitro* en lentes de contacto blando.

<b>MICROORGANISMOS</b>	<b>CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Cinnamomum zeylanicum</i></b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 µL/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	5 µL/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,25 µL/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,625 µL/mL

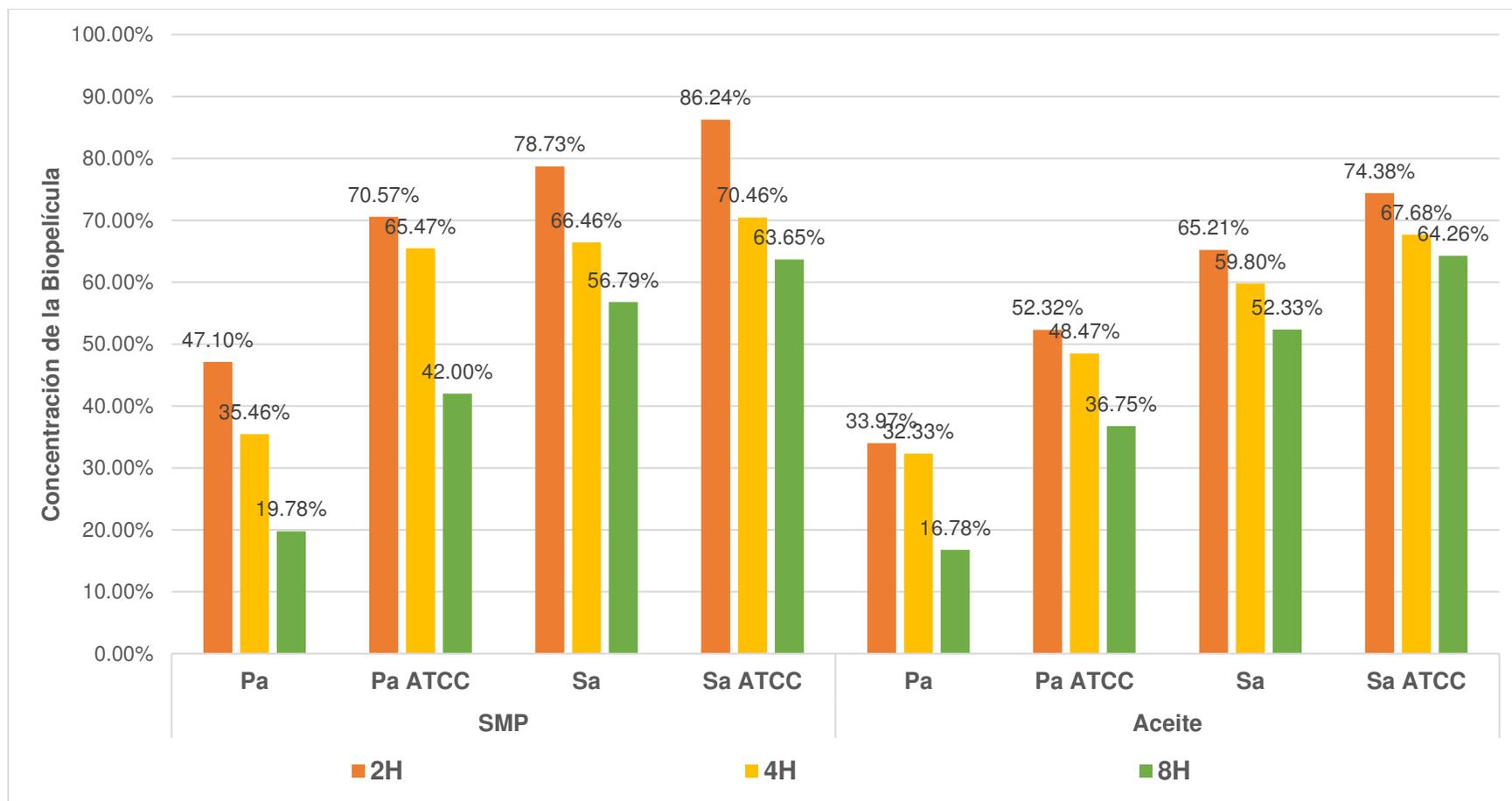
Se realizó las lecturas de la Densidad Óptica (DO) a los lentes de contacto blando y a los pocillos de la microplaca de poliestireno de 24 pocillos, con la finalidad de la comparación de las biopelículas formadas en ambos sustratos.

**Tabla 16.** Resultados de la Densidad Óptica (DO) en la evaluación de la eficacia del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* durante la formación de biopelículas inducidas *in vitro*.

GRUPOS		DO Lentes de Contacto blando (600 nm)			DO Microplaca de poliestireno (600 nm)		
		2H	4H	8H	2H	4H	8H
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Inóculo	0,0068	0,0077	0,0090	0,0807	0,1715	0,3246
	SMP	0,0059	0,0052	0,0047	0,0380	0,0608	0,0642
	Aceite	0,0040 ± 0,0003	0,0035 ± 0,0008	0,0034 ± 0,0012	0,0274 ± 0,0103	0,0555 ± 0,0048	0,0545 ± 0,0059
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Inóculo	0,0047	0,0054	0,0067	0,0703	0,0970	0,1710
	SMP	0,0040	0,0042	0,0048	0,0496	0,0635	0,0718
	Aceite	0,0033 ± 0,0004	0,0032 ± 0,0004	0,0033 ± 0,0011	0,0368 ± 0,0035	0,0470 ± 0,0133	0,0629 ± 0,0149
<i>Staphylococcus aureus</i>	Inóculo	0,0045	0,0054	0,0062	0,0705	0,0906	0,1099
	SMP	0,0037	0,0042	0,0040	0,0555	0,0602	0,0624
	Aceite	0,0034 ± 0,0009	0,0036 ± 0,0006	0,0031 ± 0,0006	0,0460 ± 0,0091	0,0542 ± 0,0094	0,0575 ± 0,0071
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inóculo	0,0054	0,0061	0,0068	0,0472	0,0863	0,0979
	SMP	0,0053	0,0043	0,0031	0,0407	0,0608	0,0623
	Aceite	0,0048 ± 0,0004	0,0036 ± 0,0002	0,0025 ± 0,0007	0,0351 ± 0,0089	0,0584 ± 0,0106	0,0629 ± 0,0082



**Figura 12.** Comparación de la eficacia de la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* durante la formación de la biopelícula de los microorganismos en estudio, inducidas *in vitro* en los lentes de contacto blando.



**Figura 13.** Comparación de la eficacia de la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* durante la formación de la biopelícula de los microorganismos en estudio, inducidas *in vitro* en los pocillos de la microplaca de poliestireno.

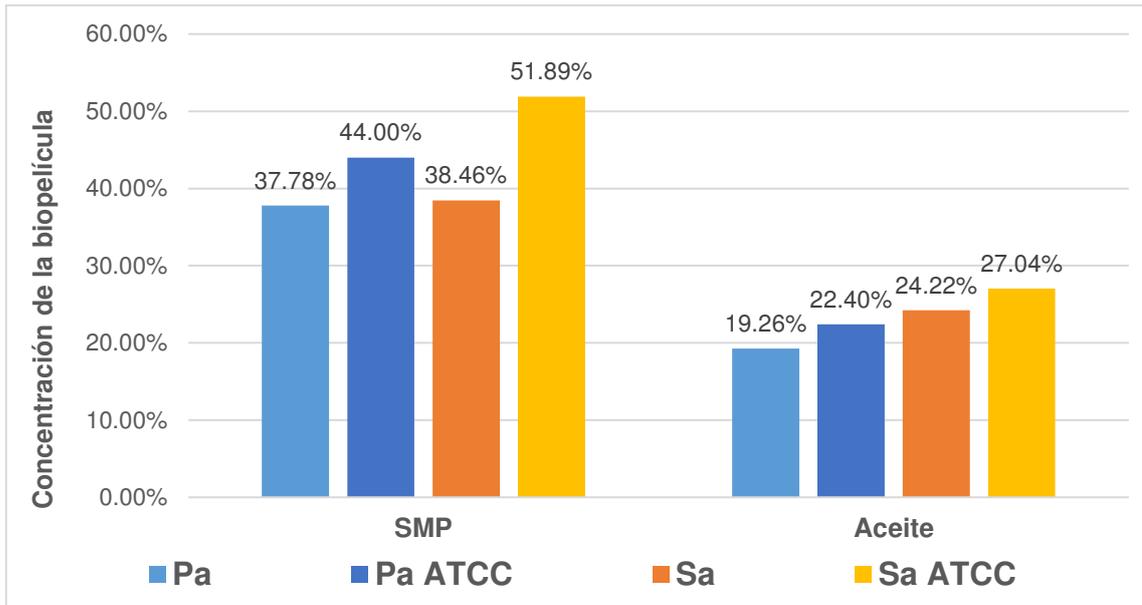
#### 4.7. Evaluación de la eficacia del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* en una biopelícula madura.

Los resultados obtenidos en la evaluación del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en biopelículas maduras de los microorganismos en estudio, inducidos *in vitro* en los lentes de contacto blando, se presentan de la siguiente manera: en la tabla 17, los resultados de las lecturas de la Densidad óptica (DO) y en las figuras 14 y 15, el porcentaje de la concentración de la biopelícula con referencia al grupo control tanto en lentes de contacto blando como en la microplaca de poliestireno.

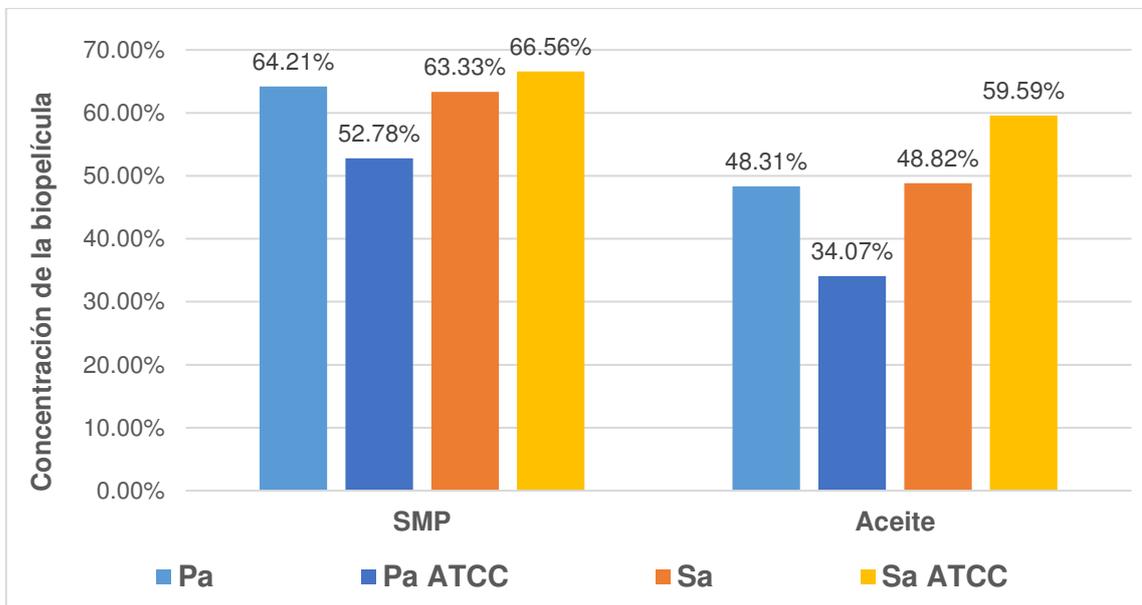
Para cada microorganismo se utilizaron las mismas concentraciones del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* (Ver tabla 15), al igual que en la anterior prueba.

**Tabla 17.** Resultados de la Densidad Óptica (DO) en la evaluación de la eficacia del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* en las biopelículas maduras inducidas *in vitro*.

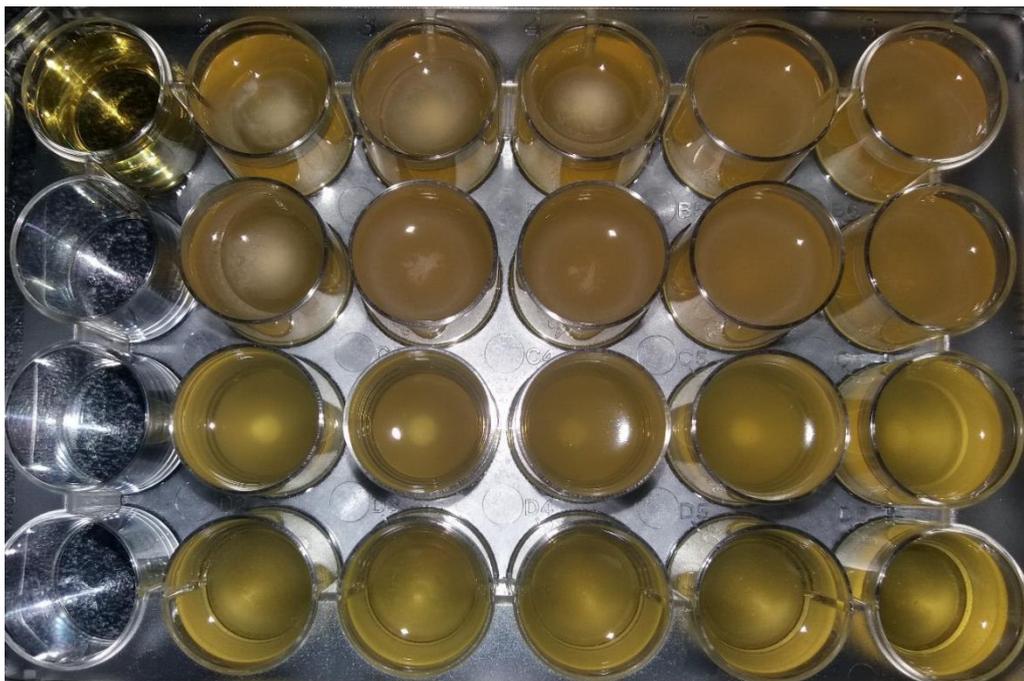
Microorganismos	DO Lentes de Contacto blando (600 nm)			DO Microplaca de poliestireno (600 nm)		
	Control	SMP	Aceite	Control	SMP	Aceite
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,0135	0,0051	0,0040 ± 0,0003	1,4308	0,9187	0,6912 ± 0,1547
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0,0125	0,0055	0,0028 ± 0,0013	1,3155	0,6943	0,4482 ± 0,0916
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0117	0,0045	0,0028 ± 0,0006	0,9600	0,6080	0,4687 ± 0,0814
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,0106	0,0055	0,0029 ± 0,0012	1,0432	0,6943	0,6217 ± 0,1776



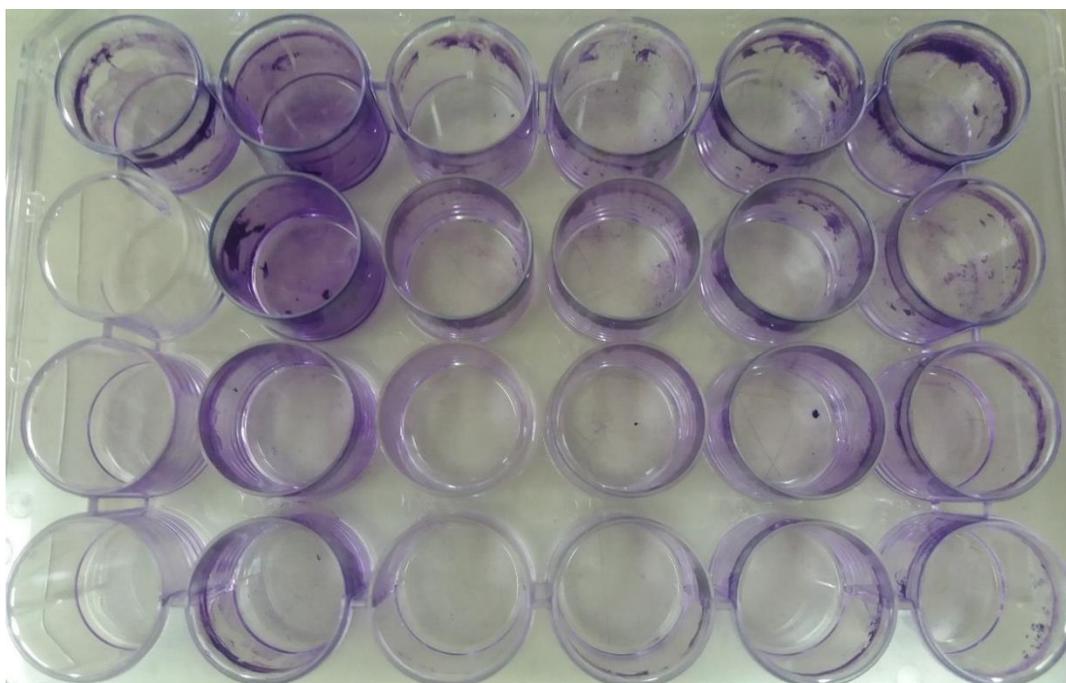
**Figura 14.** Comparación de la eficacia de la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* en los lentes de contacto blando, en las biopelículas maduras inducidas *in vitro*.



**Figura 15.** Comparación de la eficacia de la Solución Multipropósito (SMP) y el aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* en la microplaca de poliestireno, en las biopelículas maduras inducidas *in vitro*.



**Figura 16.** Microplaca de poliestireno con los lentes de contacto blando, después de la incubación de 18 horas para la formación *in vitro* de las biopelículas.



**Figura 17.** Microplaca de poliestireno después de la incubación, tratamiento y tinción con la solución de cristal violeta.



**Figura 18.** Lente de contacto blando estéril en el Estereoscopio “ZEISS-Stemi 508”.



**Figura 19.** Lente de contacto blando con biopelículas maduras de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 inducidas *in vitro*.



**Figura 20.** Lente de contacto blando con la Solución Multipropósito sobre biopelículas maduras de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 inducidas *in vitro*.



**Figura 21.** Lente de contacto blando con aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* sobre biopelículas maduras de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 inducidas *in vitro*.

## V. DISCUSIÓN

El uso de lentes de contacto está muy expandido, los datos de su uso en los Estados Unidos, según *Patel et al.*, son alrededor de 36 000 000 por año y es considerado uno de los factores de riesgo más altos para el desarrollo de queratitis microbiana<sup>5</sup>. En una revisión hecha por *Willcox* sobre la adhesión microbiana en lentes de contacto se menciona que las bacterias con mayor formación de biopelículas son *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* y *Staphylococcus aureus*, y que no solo son las mayores causantes de biopelículas en los lentes de contacto, sino que su resistencia a los desinfectantes, antibióticos y soluciones multipropósito con desinfectante va en aumento<sup>6</sup>.

Muchas soluciones multipropósito aseguran mantener los lentes blandos asépticos y libres de microorganismos según la información brindada por sus insertos. Sin embargo, según *Campbell*, una nueva formulación mostró mejor efecto en comparación al efecto casi nulo obtenido por la solución multipropósito “Renu Fresh ®”<sup>75</sup>. También, *Santos et al.* menciona que la eficacia de las soluciones multipropósito depende del material del lente y no solo de sus componentes<sup>9</sup>. Asimismo, *Kilvington et al.* mencionan que el correcto almacenamiento de las soluciones multipropósito es de suma importancia, pues debido a sus componentes una evaporación parcial de las mismas afecta significativamente su eficacia<sup>56</sup>.

El aceite esencial de hojas de *Cinnamomum zeylanicum* ha demostrado tener actividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Según el estudio realizado por *Hadri et al.* y del mismo modo el estudio realizado por *Raeisi*, el aceite esencial de canela presenta actividad antimicrobiana frente a diversos microorganismos entre los que destacan *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*<sup>29,76</sup>. Esta actividad antimicrobiana ha podido ser corroborada en el presente trabajo gracias a los resultados obtenidos por el método de difusión donde se obtuvo un halo de inhibición de 27,35 mm en *Pseudomonas aeruginosa* y de 40,71 mm en *Staphylococcus aureus*, halos de inhibición semejantes a los obtenidos por *Hussein et al.* y *Raeisi*, los cuales

fueron en promedio de 25,00 mm para *Pseudomonas aeruginosa* y 30,00 mm para *Staphylococcus aureus* bajo las mismas condiciones<sup>29,77</sup>. Según el método de microdilución colorimétrica, se obtuvo el CMI para la *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 el valor de 1,25  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , en *Staphylococcus aureus* un valor de 0,313  $\mu\text{L}/\text{mL}$  y en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 un valor de 0,104  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Los datos obtenidos difieren de los resultados de Mohammad *et al.* que obtuvo un CMI de 6,3% para *Staphylococcus aureus*<sup>28</sup> y al comparar con los resultados obtenidos, el valor del CMI de *Staphylococcus aureus* expresado en porcentaje equivale a un 0,0313%, la diferencia se debe al tipo de aceite y el desarrollo del método de microdilución colorimétrica y las diluciones realizadas, Mohammad utilizó aceite esencial de la corteza mientras que en el presente estudio se utilizó el aceite esencial de las hojas. Según Hussein los valores del CMI para *Pseudomonas aeruginosa* es 1/250 que equivale al 0,4%, mientras que para el *Staphylococcus aureus* es de 1/128 que equivale al 0,781%; estos resultados también difieren con los resultados obtenidos mostrando que el CMI obtenido es menor a los resultados de Mohammad *et al.* y Hussein *et al.*, al igual que Mohammad *et al.*, Hussein *et al.* usaron el aceite esencial de la corteza de *Cinnamomum zeylanicum*<sup>28,77</sup>.

Las curvas de crecimiento se realizaron para verificar la viabilidad del método y con la finalidad de demostrar que realmente existió una reducción de la carga bacteriana en el estado planctónico de las bacterias usadas. En el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, tanto en la cepa ATCC 9027 como en la cepa clínica, se pudo observar una reducción significativa de la carga bacteriana debido a la acción del aceite esencial de canela a las concentraciones de 1,25, 2,5 y 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , siendo la concentración más efectiva la de 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Sin embargo, el aceite esencial de canela presentó un mayor efecto en la cepa clínica en comparación con la cepa ATCC 9027, esto puede deberse a que la cepa ATCC es una cepa pura y certificada que no ha sufrido ningún tipo de deterioro o alteración como si podría haber sucedido con la cepa clínica. En la cepa clínica de *Staphylococcus aureus* se pudo observar una reducción de la carga bacteriana por acción del aceite esencial de canela a las concentraciones de 0,313, 0,625 y 1,25  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , siendo la más efectiva la de 1,25  $\mu\text{L}/\text{mL}$  y en

*Staphylococcus aureus* cepa ATCC 25923 una reducción de la carga bacteriana por acción del aceite esencial de canela a las concentraciones de 0,313 y 0,625  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , siendo la de 0,625  $\mu\text{L}/\text{mL}$  la más efectiva. La concentración de 0,104  $\mu\text{L}/\text{mL}$  de aceite esencial de canela no presentó una reducción tan marcada de la carga bacteriana en el estado planctónico en comparación con los resultados obtenidos por las otras concentraciones, posiblemente debido a que se trata de una concentración realmente baja que siendo obtenida bajo el método de microdilución colorimétrica en placa, no pudo reflejarse claramente en la curva de crecimiento.

Asimismo, podemos observar en los resultados una clara inhibición tanto de la formación de biopelículas como de las biopelículas maduras en los lentes de contacto blandos. El aceite esencial de canela obtuvo una reducción de 80,76% de la concentración de biopelículas maduras de *Pseudomonas aeruginosa* en lentes de contacto blandos. Por otro lado, la solución multipropósito “Renu Fresh®” dio como resultado una reducción del 62,22% de la concentración de biopelículas del microorganismo en mención. Asimismo, se observó una reducción del 72,96% de la concentración de biopelículas maduras de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en los lentes de contacto blandos usando el aceite esencial de canela y una reducción del 48,11% de la concentración de biopelículas maduras usando la solución multipropósito. Gracias a estos resultados podemos observar una mayor actividad frente a biopelículas por parte del aceite esencial de canela en comparación a la solución multipropósito “Renu Fresh®” comercializada en la actualidad. Cabe resaltar que en la evaluación de la actividad del aceite esencial de canela en biopelículas maduras, se utilizó la solución multipropósito tal y como se indica en su inserto, al igual que en los trabajos de Artini y Noel<sup>66,74</sup>. Por lo que se puede apreciar que sin una preformulación adecuada para el aceite esencial, la actividad mostrada nos indica una mejor actividad que la solución multipropósito “Renu Fresh®”.

La influencia de las características superficiales del sustrato tiene también un importante impacto en la etapa inicial de la formación de la biopelícula<sup>78</sup>. Una de estas características es la energía superficial o tensión superficial, ya que las superficies con alta energía superficial como el acero inoxidable o el oro favorece

la condición de hidrofilia, mientras que la de baja energía superficial como las resinas, la hidrofobia<sup>79</sup>. Al evaluar las superficies empleadas como los polímeros en los lentes de contacto y el poliestireno en la microplaca de incubación, ambas contienen una gran energía superficial<sup>79,80</sup> por lo que se favorece el ambiente de hidrofobicidad sin una mayor diferencia, facilitando la formación de biopelículas.

Se menciona que estas propiedades fisicoquímicas de las superficies o sustratos pueden ser transferidas a la formación de biopelículas alterando la composición, densidad y configuración en cuanto al tipo de proteína de la biopelícula, por lo que se puede evidenciar la preferencia de la formación de biopelículas en ambas bacterias. Las cepas de la *Pseudomonas aeruginosa* tienen una mayor afinidad de formación en la parte superficial de los pocillos de la microplaca de poliestireno y se evidencia en forma de anillos muy prominentes tal y como se observa en la figura 17, a diferencia de las cepas de *Staphylococcus aureus*, ya que demostraron tener una mayor afinidad por la parte inferior de los pocillos (figura 16) que es de una apariencia de precipitado. Esta preferencia de afinidad hacia el sustrato que es la microplaca de poliestireno, se evidencia mejor en las biopelículas maduras.

En el caso de los lentes de contacto, las biopelículas formadas por las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, la preferencia de estas fue en toda la superficie del lente de contacto (figura 19), donde se muestra la formación de la biopelícula de la *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 al término de la prueba sin tratamiento alguno y la diferencia en el lente de contacto estéril sin ningún tratamiento previo (figura 18). Se evidencia la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 con los tratamientos de la Solución multipropósito y el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* respectivamente (figuras 20 y 21). De manera visual no se puede determinar si la solución multipropósito o el aceite esencial tuvieron actividad significativa en la biopelícula madura, por lo que la determinación de esta actividad se expresa mediante porcentajes de la concentración de la biopelícula obtenida a través de la lectura de las absorbancias de las soluciones decolorantes tanto para los lentes de contacto (figuras 20 y 21) y para la microplaca de poliestireno (figura 17). Se evidenció que el aceite tiene una actividad mayor que la solución

multipropósito en las biopelículas maduras, donde la mayor diferencia de la actividad del aceite esencial es en la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un 24,85% de concentración de biopelículas menos que la solución multipropósito en los lentes de contacto blando. También en la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, el aceite esencial mostró un 18,71% de concentración de biopelícula menor que la solución multipropósito en la microplaca de poliestireno, siendo la más alta en este tipo de superficie.

En la evaluación del efecto del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* durante la formación de la biopelícula, se determinó de una mejor manera a través de la lectura de las absorbancias de las soluciones decolorantes, de la misma manera en la evaluación del efecto sobre las biopelículas maduras. Actualmente no hay un protocolo estandarizado para la cuantificación de las biopelículas por lo que se viene realizando en diferentes métodos como la prueba del tubo, prueba de placa de microtitulación, radiomarcado, microscopía, prueba de placa de agar rojo de Congo, etc<sup>81-83</sup>. En el método planteado por Artini *et al.* la metodología se realiza en una placa de poliestireno de 96 pocillos la que es denominada prueba en placa de microtitulación y esta prueba sigue siendo una de las más usadas<sup>74,84</sup> referente a la investigación de biopelículas. A esta técnica se le han realizado varias modificaciones para su cultivo *in vitro* y su cuantificación. En el presente trabajo se realizó la prueba en placas de poliestireno de 24 pocillos donde se mantuvo a los lentes en forma estática *in vitro*, a diferencia de Artini *et al.* que hicieron la evaluación de las biopelículas en dos formas, estática a través de las placas de poliestireno y de forma dinámica, asimilando las condiciones *in vivo*<sup>74</sup>. Se midió la absorbancia de la solución decolorante de los pocillos por separado en un espectrofotómetro UV-Visible, tal y como se detalla en el procedimiento de las evaluaciones del aceite esencial frente a la formación de biopelículas y el efecto sobre biopelículas maduras.

Stepanovic *et al.* evaluaron los diferentes pasos y factores en una cuantificación de la formación de biopelículas de *Staphylococcus* mediante el método de placa de microtitulación<sup>84</sup>. Según las recomendaciones, menciona que en la interpretación de los resultados, para una mejor valoración de la producción de biopelículas se debe promediar y expresarse los valores medios de las

densidades ópticas obtenidas de todas las cepas ensayadas y controles. Por lo que podemos decir que en el presente trabajo se realizó una cuantificación de las biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* durante su formación así como en su evaluación en la fase madura.

La actividad del aceite de canela frente a biopelículas tanto de *Pseudomonas aeruginosa* como de *Staphylococcus aureus* podría deberse a la presencia de cinamaldehído como su principal componente. Según Hassan *et al.* el cinamaldehído inhibe la acetil coenzima A carboxilasa de las bacterias y es el responsable de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de canela<sup>77</sup>. También existe un posible efecto sinérgico entre el cinamaldehído y el eugenol, otro de los componentes del aceite esencial de canela, pues ambos componentes en conjunto inhiben la producción de enzimas esenciales de la bacteria causando daños en la membrana celular de las mismas<sup>85</sup>. Además de todo ello, el aceite esencial de canela presenta una gran hidrofobicidad por lo que posiblemente conduzca a la ruptura no solo de la membrana celular sino de la estructura de exopolisacáridos que conforman a las biopelículas, haciéndolas más permeables y conduciendo a la fuga de iones<sup>86</sup>.

## VI. CONCLUSIONES

- La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* frente a *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica y cepa ATCC 9027 fue de  $1,250 \pm 0 \mu\text{L}/\text{mL}$ , frente a *Staphylococcus aureus* cepa clínica fue de  $0,313 \pm 0 \mu\text{L}/\text{mL}$  y frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue de  $0,104 \pm 0,045 \mu\text{L}/\text{mL}$ .
- Se desarrolló la curva de crecimiento y viabilidad de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* tanto en la cepa clínica como en la cepa ATCC y se determinó que la concentración más efectiva del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* frente a *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica y cepa ATCC 9027 fue de  $5 \mu\text{L}/\text{mL}$ , frente a *Staphylococcus aureus* cepa clínica fue de  $1,25 \mu\text{L}/\text{mL}$  y frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue de  $0,625 \mu\text{L}/\text{mL}$ . Estas concentraciones equivalen al cuatro veces el CMI de cada una de las bacterias.
- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* presentó actividad en la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica en las 2, 4 y 8 horas fue de 27,94%, 22,51% y 14,07% respectivamente, siendo estos resultados con la mayor actividad del aceite esencial frente a la solución multipropósito “Renu Fresh®”; en las *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 en las 2, 4 y 8 horas fue de 14,9%, 18,32% y 22,88%, en el *Staphylococcus aureus* cepa clínica a las 2, 4 y 8 horas fue de 6,66%, 11,73% y 13,98% y en el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a las 2, 4 y 8 horas fue de 9,26%, 11,47% y 8,83% mejor que la solución multipropósito “Renu Fresh®” respectivamente.
- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* presentó actividad sobre las biopelículas maduras inducidas *in vitro* en lentes de contacto blandos, reduciendo el porcentaje de la concentración de biopelículas en comparación a la solución multipropósito y se obtuvo un 18,52% en

*Pseudomonas aeruginosa* cepa clínica, 21,6% en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, 14,24% en *Staphylococcus aureus* cepa clínica y un 24,85% en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mejor que la solución multipropósito “Renu Fresh®”.

## VII. RECOMENDACIONES

- De acuerdo a lo obtenido en el presente trabajo se recomienda evaluar la actividad de cada uno de los componentes del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* frente a biopelículas para poder ser utilizarlos en una posterior formulación.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Instituto Nacional de Estadística e Informática. *Perú, enfermedades transmisibles y no transmisibles*. Vol. 53. 2015.
2. Campos B, et al. *Prevalencia y causas de ceguera en Perú : encuesta nacional*. Rev Panam Salud Publica. 2014;36(3):283–9.
3. Fernandez S, et al. *Causas más frecuentes de consulta oftalmológica. Most frequent causes of ophthalmological visits*. Medisan. 2009;13(3):1–11.
4. Willcox M, et al. *Bacterial interactions with contact lenses; effects of lens material, lens wear and microbial physiology*. Biomaterials. 2001;22(24):3235–47.
5. Patel A, Hammersmith K. *Contact lens-related microbial keratitis: recent outbreaks*. Curr Opin Ophthalmol. 2008;19(4):302–6.
6. Willcox M. *Microbial adhesion to silicone hydrogel lenses: a review*. Eye Contact Lens. 2013;39(1):61–6.
7. Ifejika C, et al. *Efficacy of a contact lens cleaning device and its enhancement of the performance of contact lens care products*. Br J Ophthalmol. 2000;84(5):539–41.
8. Wu Y, et al. *Removal of biofilm from contact lens storage cases*. Investig Ophthalmol Vis Sci. 2010;51(12):6329–33.
9. Santos L, et al. *Lens material and formulation of multipurpose solutions affects contact lens disinfection*. Contact Lens Anterior Eye. 2011;34(4):179–82.
10. World Health Organization (WHO). *Monographs on selected medicinal plants*. Vol. 1, Essential Medicines and Health Products Information Portal. Geneva; 1999. 183-194 p.
11. Rao P, Gan S. *Cinnamon: A multifaceted medicinal plant*. Evidence-based Complement Altern Med. 2014;2014:12. Doi: 10.1155/2014/642942
12. Díaz M, Suárez M. *Preparaciones Farmacéuticas Elaboradas con Base en Productos Naturales Regulación Sanitaria* [Tesis]. Santa Fe de Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Jurídicas y Socioeconómicas; 2000.
13. Alcalde M. *Cosmética natural y ecológica. Regulación y clasificación*. Ámbito Farm Cosmética. 2008;27(9):96–104.
14. Ccahuana-Vasquez R, et al. *Antimicrobial activity of Uncaria tomentosa against oral human pathogens*. Braz Oral Res. 2007;21(1):46–50.
15. Cayunao C, et al. *Estudio de la actividad antimicrobiana de un alcaloide oxindólico y actividad antioxidante de diferentes extractos de Uncaria tomentosa ( Willd .) DC*. Medicina Naturista. 2004;4(2):152–4.
16. Prieto R, et al. *Estudio fitoquímico de hojas de Uncaria guianensis y evaluación*

- de actividad antibacteriana. *Acta Amaz.* 2011;41(2):303–10.
17. Salamanca S, Galiano M. *Actividad antimicrobiana de cuatro especies del género Piper y elucidación estructural de sus aceites esenciales* [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2016.
  18. Zainal-abidin Z, et al. *Anti-Bacterial Activity of Cinnamon Oil on Oral Pathogens*. *Open Conf Proc J.* 2013;4:12–6.
  19. Rojas R, et al. *Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants*. *J Ethnopharmacol.* 2003;88(2–3):199–204.
  20. Soto H. *“Efecto Antibacteriano y Antifúngico comparativo de los extractos acuosos del Zea Mays L . (maíz morado), Rubus glaucus (mora andina); Opuntia soherensii (ayrampo) y Diseño de un gel de limpieza cutánea”* [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
  21. Costerton W, et al. *Bacterial biofilms in nature and disease*. *Ann Rev Microbiol.* 1987;41:435–64.
  22. Caldwell D, et al. *Germ theory vs Community theory in understanding and controlling the Proliferation of Biofilms*. *Adv Dent Res.* 1997;11(1):4–13.
  23. Oyola D. *Evaluación de la influencia del meropenem en la formación de piocianina y alginato en Pseudomonas aeruginosa formadora de biopelícula* [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
  24. Salazar M. *Prevalencia de genotipos de pili tipo iv y factores de virulencia asociados en aislados clínicos de pseudomonas aeruginosa* [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
  25. Argueta Z, Vasquez M. *Aplicacion del metodo Mitscher en la determinacion de la actividad antimicrobiana de un preservante natural patentado sobre Staphylococcus aureus, Pseudomona aeruginosa y Candida albicans* [Tesis]. San Salvador: Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia; 2009.
  26. Izco J. *Botánica*. 2da Edición. Mcgraw-Hill S.A. Madrid; 2004. 920 p.
  27. Lima M, et al. *Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de Cinnamomum zeylanicum Blume ( Lauraceae)*. *Acta Amaz.* 2005;35(3):363–6.
  28. Mohammad N, et al. *Antimicrobial activity of cinnamon oil against bacteria that cause skin infections*. *J Sci Res Dev.* 2016;3(2):1–6.
  29. Raeisi M, et al. *Antimicrobial Effect of Cinnamon Essential Oil Against Escherichia Coli and Staphylococcus aureus*. *Heal Scope.* 2015;4(4):0–4.
  30. García E, et al. *Actividad Antifúngica de Aceites Esenciales de Canela*

- (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y Orégano (*Origanum vulgare* L.) y su Efecto sobre la Producción de Aflatoxinas en Nuez Pecanera [*Carya illinoensis* (F.A. Wangerh) K. Koch]. Rev Mex Fitopatol. 2006;24(1):8–12.
31. Lasa I, et al. *Biofilms bacterianos e infección*. An Sist Sanit Navar. 2005;28(2):163–75.
  32. Robertson D, et al. *Disruption of Contact Lens – Associated Pseudomonas aeruginosa Biofilms Formed in the Presence of Neutrophils*. Immunol Microbiol. 2017;52(5):2844–50.
  33. Donlan R. *Biofilms : Microbial Life on Surfaces*. Emerg Infect Dis. 2002;8(9):881–90.
  34. Mah T, O’Toole G. *Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents*. Trends in Microbiology. 2001;9(1):34–9.
  35. Nazar J. *Biofilms bacterianos*. Rev Otorrinolaringol y Cirugía cabeza y cuello. 2007;67(1):61–72.
  36. Le K, et al. *Molecular determinants of staphylococcal biofilm dispersal and structuring*. Front Cell Infect Microbiol. 2014;4:167.
  37. Palleroni N. *The Pseudomonas Story*. Environ Microbiol. 2010;12(6):1377–83.
  38. Filiatrault M, et al. *Identification of Pseudomonas aeruginosa Genes Involved in Virulence and Anaerobic Growth*. Infect Immun. 2006;74(7):4237–45.
  39. Rasamiravaka T, et al. *The Formation of Biofilms by Pseudomonas aeruginosa : A Review of the Natural and Synthetic Compounds Interfering with Control Mechanisms*. Biomed Res Int. 2015;2015:1–17.
  40. Lucchetti-Miganneh C, et al. *Pseudomonas aeruginosa Genome Evolution in Patients and under the Hospital Environment*. Pathogens. 2014;3:309–40.
  41. Cervantes E, García R, Salazar P. *Características generales del Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clínica y Med Lab. 2014;61(1):28–40.
  42. Esteban M. *Manejo de las Infecciones por Organismos Multi-resistentes*. Infectología crítica a distancia. 2009;1:20.
  43. Archer N, et al. *Staphylococcus aureus biofilms: properties, regulation, and roles in human disease*. Virulence. 2011;2(5):445–59.
  44. Boyd K. Contact Lens Types - American Academy of Ophthalmology [Internet]. 2016 [cited 2017 Aug 9]. Available from: <https://www.aao.org/eye-health/glasses-contacts/contact-lens-types>
  45. Gorrochotegui M, et al. *Lentes de contacto: Historia, tipos y complicaciones de su uso*. Inf Med. 2009;11(2):79–101.
  46. Food Drugs and Administration. Four lens group. Tyler’s Q Soft Contact Lens Param Guid. 1999;16(11).

47. Henriques M, et al. *Adhesion of Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus epidermidis to silicone-hydrogel contact lenses*. Optom Vis Sci. 2005;82(6):446–50.
48. Bonanno J. *Effects of contact lens-induced hypoxia on the physiology of the corneal endothelium*. Optom Vis Sci. 2001;78(11):783–90.
49. Neira O. *Complicaciones corneales infiltrativas asociadas al uso de lentes de contacto*. Imagen Óptica. 2007;9:24–33.
50. Carnt N, et al. *Solution toxicity in soft contact lens daily wear is associated with corneal inflammation*. Optom Vis Sci. 2007;84(4):309–15.
51. Ozkan J, et al. *Risk factors for corneal inflammatory and mechanical events with extended wear silicone hydrogel contact lenses*. Optom Vis Sci. 2010;87(11):847–53.
52. Stapleton F, et al. *Risk factors for moderate and severe microbial keratitis in daily wear contact lens users*. Ophthalmology. 2012;119(8):1516–21.
53. Parafita M, et al. *Infección ocular y lentes de contacto. Factores de riesgo y prevención*. Rev Española Contactología. 2006;13(8):3–16.
54. Mucci J, et al. *Recurrence rates of herpes simplex virus keratitis in contact lens and non-contact lens wearers*. Eye Contact Lens. 2009;35(4):185–7.
55. Klotz S, et al. *Fungal and Parasitic Infections of the Eye*. Clinical Microbiology Reviews. 2000;13(4):662–85.
56. Kilvington S, et al. *Development of a new contact lens multipurpose solution: Comparative analysis of microbiological, biological and clinical performance*. J Optom. 2010;3(3):134–42.
57. Amos C, Loveridge R. *No frotar, no enjuagar: Una nueva modalidad en soluciones multipropósitos*. Optician. 2001;26:1–9.
58. Carnt N, et al. *Contact lens-related adverse events and the silicone hydrogel lenses and daily wear care system used*. Arch Ophthalmol (Chicago, Ill 1960). 2009;127(12):1616–23.
59. Dixit S. *Specifications in the flavour & fragrance industry*. 2006;(June):1–5.
60. Instituto Nacional de Salud. *Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias*. Lima; 2005. 109 p.
61. Seija V. *Cocos gram positivos: Aspectos prácticos*. Rev Biomed. 2014;25(3):1–5.
62. Merck. Technical Data Sheet DNase Test Agar.
63. Pfaller M, Murray P, Rosenthal K. *Microbiología Médica*. Elsevier S.A. Madrid; 2006. 974 p.
64. Freeman D, Falkiner F, Keane C. *New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci*. J Clin Pathol. 1989;42(8):872–4.

65. Mathur T, et al. *Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: An evaluation of three different screening methods*. Indian J Med Microbiol. 2006;24(1):25.
66. Villanueva G, Noel M. *Eficacia de dos soluciones multipropósito frente a biofilms de Pseudomonas aeruginosa inducidos in vitro en lentes de contacto blandos* [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2017.
67. Ruiz J. *Actividad Antifúngica In Vitro y Concentración Mínima Inhibitoria mediante Microdilución de ocho plantas medicinales* [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2013.
68. Lee J-H. *Comparative Analysis of Chemical Compositions and Antimicrobial Activities of Essential Oils from Abies holophylla and Abies koreana*. J Microbiol Biotechnol. 2009;19(4):372–7.
69. CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility. Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard — Ninth Edition*. Vol. 32, CLSI document M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012. 88 p.
70. Liu M, et al. *Colorimetric broth microdilution method for the antifungal screening of plant extracts against yeasts*. Methods. 2007;42(4):325–9.
71. Wiegand I, Hilpert K, Hancock R. *Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances*. Nat Protoc. 2008;3(2):163–75.
72. Paredes P, et al. *Screening of Bioactivities and Toxicity of Cnidocolus quercifolius Pohl*. Evidence-based Complement Altern Med. 2016;2016.
73. Holetz F, et al. *Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases*. 2002;97(7):1027–31.
74. Artini M, et al. *Evaluation of contact lens multipurpose solutions on bacterial biofilm development*. Eye Contact Lens Sci Clin Pract. 2015;41(3):177–82.
75. Campbell R, et al. *Clinical benefits of a new multipurpose disinfecting solution in silicone hydrogel and soft contact lens users*. Eye Contact Lens. 2012;38(2):93–101.
76. Hadri Z, Allem R, Marin G. *Effect of essential oil of Cinnamomum zeylanicum on some pathogenic bacteria*. African J Microbiol Res. 2014;8(10):1026–31.
77. Hussein H, Abaas I, Ali R. *Antibacterial activities of cinnamon zeylanicum syzygium aromaticum essential oil*. Int J Pharm Pharm Sci. 2014;6(5):165–8.
78. Diaz C. *Adherencia y Colonización de Pseudomonas fluorescens sobre sustratos sólidos: Influencia de la topografía y composición química de la superficie* [Tesis]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas; 2011.
79. Borràs V. *Investigación en los mecanismos de mejora de la adhesión superficial de polietileno mediante técnicas de alto rendimiento medioambiental basadas en*

*plasma atmosférico* [Tesis] Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ingeniería Mecánica y de Materiales; 2012.

80. Vallejo B, Perilla J. *Elementos conceptuales para estudiar el comportamiento bioadhesivo en polímeros*. Rev Colomb Cienc Quim Farm. 2008;37(1):33–61.
81. Harraghy N, et al. *Advances in in vitro and in vivo models for studying the staphylococcal factors involved in implant infections*. Int J Artif Organs. 2006;29(4):368–78.
82. Arciola C, et al. *Detection of slime production by means of an optimised Congo red agar plate test based on a colourimetric scale in Staphylococcus epidermidis clinical isolates genotyped for ica locus*. Biomaterials. 2002;23(21):4233–9.
83. Deighton M, et al. *Methods for studying biofilms produced by Staphylococcus epidermidis*. Methods Enzymol. 2001;336(1996):177–95.
84. Stepanovic S, et al. *Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci*. Apmis. 2007;115(8):891–9.
85. Burt S. *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review*. Int J Food Microbiol. 2004 Aug;94(3):223–53.
86. Ultee A, Bennik M, Moezelaar R. *The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action against the Food-Borne Pathogen Bacillus cereus The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action against the Food-Borne Pathogen Bacillus cereus*. Appl Environ Microbiol. 2002;68(4):1561–8.

## **IX. ANEXOS**

**ANEXO 1**  
**FICHA TÉCNICA DEL ACEITE ESENCIAL**



Essential Oils Peru  
EopPeru.com

## MATERIAL SAFETY DATA SHEET Cinnamon leaf Oil MSDS

### 1. Identificación

**Identificación del producto:**

**Nombre Comercial:** Aceite Esencial de Canela 100%

**Nombre científico:** Cinnamon zeylanicum

**Número CAS:** 8010-91-6

**Número de Identificación:** EOP-03-3314

**Método de Extracción:** Destilación por arrastre de vapor

**Detalles del proveedor de la Ficha de Seguridad**

**EMPRESA:**

Essential Oils Peru SAC  
Viñedos 312 – La Molina  
Lima – PERU

consultas@eopperu.com  
Telf. contacto: (+51) 9617 88345  
Informes: (+51) 01 736 9840

### 2. identificación de Peligros

**Clasificación de la sustancia**

**Inflamable:** Líquido inflamable categoría 3.

**Peligro:** Puede causar daño en caso de ingestión si penetra en las vías respiratorias.

**Irritante:** Puede causar irritación cutánea. Puede causar reacción alérgica en la piel.

**Peligroso al ambiente:** Puede ser tóxico para organismos acuáticos.

**Información concerniente a peligros para el hombre y el ambiente:** No aplica.

**Seguridad:**

Mantener alejado de fuentes de calor, chispas o llama abierta.

Evitar contacto con la piel.

Usar guantes y lentes de protección.

Si se ingiere, no inducir al vómito. Consultar a un médico inmediatamente.

**Sustancias Peligrosas**

Cinamaldehido

Acetato de cinamilo

Eugenol

### 3. Primeros Auxilios

**Inhalación:** Ventilar la habitación. En caso de desmayo, colocar al paciente de costado.

**Irritación cutánea:** Aplicar aceite vegetal, no lavar con agua.

**Contacto con los ojos:** Lavar con abundante agua por varios minutos. Consultar con un doctor.

**Ingestión:** No inducir al vómito. No suministrar nada si la persona sigue consciente.

### 4. Manipuleo y Almacenaje

**Precauciones:**

Usar guantes y protección para los ojos.

Evitar inhalación y contacto con la piel

Lave con agua y jabón cualquier ropa expuesta.

No se requieren medidas especiales.

**Medios de extinción:** CO<sub>2</sub>, espuma y polvo. No usar agua.

**Almacenaje:** Se recomienda mantener en lugar fresco, seco y bien ventilado. Mantener en contenedores originales, alejados de la luz.

### 5. Propiedades Físico-Químicas:

**Información General:**

Apariencia: Líquido, ligeramente espeso.

Color: Amarillo ambar.

Olor: característico.

pH: No determinado.

Punto de fusión: No determinado.

Punto de ebullición: No determinado.

Temperatura de Ignición: No determinado.

Peligro de explosión: El producto no es explosivo. Sin embargo la formación de vapor explosivo es posible.

Densidad a 20 °C: 1.03-1.059

Solubilidad en agua: insoluble.

Viscosidad: No determinado.

Índice de Refracción a 20 °C: 1.527-1.540

**ANEXO 2**  
**INSERTO DE LA SOLUCIÓN MULTIPROPÓSITO RENU FRESH ®**

- Vacíe y enjuague siempre el estuche con renu fresh solución multipropósito después de cada uso y permítale que seque al aire.
- Reemplaza su estuche mensualmente.

**PRESENTACIÓN:** BAUSCH + LOMB renu fresh solución multipropósito está disponible para su venta en frascos de plásticos estériles de 60 ml, 120 ml, 240 ml, 355 ml, 500 ml. Los frascos y la caja de cartón están marcados con el número de lote y fecha de caducidad.

En México llame al: 30 67 46 00

®/™ **Denotan marcas registradas de Bausch & Lomb incorporated.**

©Bausch & Lomb incorporated Patente EEUU 5, 858, 937

Fabricado por: Bausch & Lomb incorporated, 8507 Pelham Road, Greenville SC 29615-9598 E.U.A./

EE.UU. Distribuido por: Bausch & Lomb Inc., 1400 N. Goodman Street Rochester, NY 14609 E.U.A

// EE.UU. Hecho en E.U.A./EE.UU

Importado y distribuido en México por: Bausch & Lomb México, S.A. de C.V., Rancho 4 Milpas km 1 Módulos 10 Carretera Tepetzotlán - La Aurora MDC Fase II Sección D Col. Ex Hacienda San Miguel, C.P.

Importado y distribuido en Argentina por: BAUSCH & LOMB ARGENTINA S.R.L., Avda. Juan B.

Justo 2781 CABA, Argentina D.T.C. Belzoni, Farm. Autorizado por ANMAT PM N° 1087-22.

Venta libre en Argentina.

## BAUSCH + LOMB **RENU FRESH™**

**Solución multipropósito  
Desinfecta, Limpia, Enjuaga, Conserva y Remueve Proteínas.**

Todos los pasos para cuidado de sus lentes de contactos blandos en un solo frasco.

**INSTRUCCIONES:** Siga las instrucciones para limpiar, desinfectar y remover proteínas diariamente. Este régimen diario está recomendado por BAUSCH + LOMB para una experiencia saludable y cómoda de uso de lentes de contacto:

**PASO 1:** Coloque 3 gotas de renu fresh solución multipropósito en la superficie de ambos lados del lente y frota suavemente durante 20 segundos.

**PASO 2:** Enjuague abundantemente cada lado de los lentes durante 5 segundos con renu fresh solución multipropósito.

**PASO 3:** Coloque los lentes de contactos limpios en el estuche para lentes y llénelo con renu fresh solución multipropósito. Asegúrese de que los lentes se mantenga inmersos durante al menos 4 horas. Recuerde utilizar siempre una nueva cantidad de solución – nunca reutilice la solución.

Siga siempre las instrucciones de su profesional de la visión. Este puede recomendarle el uso de productos o procedimientos adicionales con base en las propiedades químicas de sus lágrimas y en su programa de uso de los lentes.

**ALMACENAMIENTO:** Puede almacenar sus lentes en el estuche para lentes sin abrirlo hasta el momento del uso por un máximo de 30 días.

**CONTENIDO:** Solución isotónica estéril que contiene HYDRANATE® (hidroxiálquilsulfonato), ácido bórico, edetato y sodio, poloxamina, borato de sodio y cloruro de sodio, DYMED® (poliaminopropil biguanida) 0.0001% como conservador.

**ACCIONES:** Desprende y limpia la película formada por la acumulación de las proteínas y residuos en los lentes de contacto blandos. La eliminación de proteínas es más efectiva si se utiliza diariamente. Elimina los microorganismos dañinos en la superficie de los lentes. Enjuaga, conserva y humecta los lentes antes de su colocación. Formulada para su uso en la desinfección y almacenamiento de los lentes hasta por 30 días después de la desinfección.

**Indicaciones (Usos):** BAUSCH + LOMB renu fresh solución multipropósito está indicada para su uso diario en la limpieza, eliminación de los depósitos de proteínas, enjuague, desinfección y almacenamiento de los lentes de contacto blandos (hidrofílicos) de acuerdo con las recomendaciones de su profesional de la salud visual.

**CONTRADICCIONES (Razones para no usar el producto):** No utilice el producto si es alérgico a cualquier ingrediente de la fórmula.

**ADEVERTENCIA: LOS PROBLEMAS CON LOS LENTES DE CONTACTOS Y CON LOS PRODUCTOS PARA EL CUIDADO DE LENTES DE CONTACTO PUEDE DERIVAR EN LESIONES GRAVES EN EL OJO.**

Es esencial que siga las indicaciones del profesional de la visión y todas las instrucciones de la etiqueta para el uso y cuidado apropiado de sus lentes de contacto y de los productos para el cuidado de éstos, incluyendo el estuche para lentes de contacto. Los problemas de visión, incluyendo úlceras en la córnea, pueden desarrollarse con rapidez y derivar en la pérdida de visión. Los lentes para uso diario no están indicados para su uso durante toda la noche y no deben portarse al dormir. Estudios clínicos han demostrado que el riesgo de reacciones adversas graves se incrementa cuando los lentes se utilizan durante toda la noche. Los lentes para su uso prolongado deben retirarse periódicamente para su limpieza y desinfección o para su desecho y reemplazo siguiendo el programa indicado por su profesional de la visión. Estudios clínicos han demostrado que existe un aumento en la incidencia de reacciones adversas graves en usuarios que utilizan lentes de contacto diariamente. Estos estudios también demuestran que el riesgo de reacciones adversas graves se incrementa con el aumento en la duración del uso de los lentes antes de retirarlo para su limpieza y desinfección o para su desecho o reemplazo. Los estudios también demuestran que los fumadores presentan una mayor incidencia de reacciones adversas. Si usted experimenta incomodidad en el ojo, lagrimeo excesivo, cambios en la visión o enrojecimiento del ojo, retire inmediatamente sus lentes y comuníquese con su profesional de la visión. Se recomienda que los usuarios de lentes de contacto consulten a su profesional de la salud visual dos veces al año, o con mayor frecuencia si su profesional de la visión lo indica.

Usted debe rellenar el estuche para sus lentes con una solución recién extraída del frasco cada vez que almacene sus lentes; nunca rellene el estuche sin haber vaciado la solución anterior o reutilice la solución. No debe exponer o almacenar sus lentes o enjuagarlos con cualquier tipo de agua, incluyendo agua corriente, embotellada o estilada, ni con cualquier otra solución no estéril. Vacíe, limpie y enjuague su estuche con renu fresh solución multipropósito. Deje secar el estuche al aire cada vez que retire sus lentes. Para permitir que drene la solución excedente drene, puede invertir el estuche mientras se seca al aire. Reemplace su estuche mensualmente. **Siempre desecha la solución del estuche de los lentes después de cada uso, o si utiliza agua para sus lentes, éstos pueden contaminarse y causar daño ocular y posiblemente pérdida de la visión. Consulte las instrucciones anexas para conocer información adicional importante de seguridad. Información importante sobre la seguridad:**

- Siga siempre las indicaciones del uso de producto. No seguir las indicaciones pueden derivar en la pérdida de la visión.
- Visite al profesional de la visión con regularidad.
- Lave y seque sus manos antes de manipular los lentes.
- No utilice agua corriente, agua embotellada o saliva con los lentes o con el estuche.

- Utilice únicamente solución recién extraída del frasco para limpiar y desinfectar los lentes de contacto.
- Deseche siempre cualquier solución remanente en su estuche después de cada ciclo de desinfección.
- Las gotas humectantes o de solución salina no desinfectan sus lentes.
- Reemplace siempre sus soluciones, lentes y estuches como se indica.
- Para evitar la contaminación, evite el contacto de la punta del frasco con cualquier superficie.
- Vuelva a colocar la tapa después de cada uso.
- Este producto no está indicado para su uso con desinfección mediante calor (térmica).

**Precauciones:**

- Deseche siempre la solución del estuche después de cada uso.
- Mantenga el frasco bien cerrado cuando no lo utilice.
- Utilice la solución antes de la fecha de caducidad marcada en la caja y el frasco.
- Deseche la solución remanente a los 90 días después de abrir el frasco por primera vez.
- Mantenga la solución fuera del alcance de los niños.
- Almacene a temperatura ambiente (25°C a 30°C).

**REACCIONES ADVERSAS (Qué hacer en caso de problemas):**

Pueden presentarse los siguientes problemas: picazón, comezón o ardor (irritación), comodidad menor que cuando se utilizaron los lentes por primera vez, sensación de cuerpo extraño (rasguño), lagrimeo excesivo del ojo, secreciones oculares inusuales, enrojecimiento del ojo, agudeza de la visión reducida (agudeza visual pobre), visión borrosa, arcosiris o halos alrededor de los objetos, sensibilidad a la luz (fotofobia) u ojos secos.

Si nota alguno de los anteriores:

**RETIRE INMEDIATAMENTE LOS LENTES.**

- Si la incomodidad o el problema o desaparece, observe los lentes de cerca.
- Si los lentes están dañados, NO los vuelva a utilizar. Coloque los lentes en el estuche y comuníquese con su profesional de la visión.
- Si el lente presenta una suciedad, una pestaña u otro cuerpo extraño, o si el problema desaparece y los lentes no muestran evidencias de daño, limpie, enjuague y desinfecte permanentemente los lentes y luego vuelva a colocárselos.
- Si el problema persiste, retire **INMEDIATAMENTE** los lentes y consulte a su profesional de la salud visual.

Si ocurre cualquiera de los síntomas anteriores, puede estar presente una condición seria, tal como una infección, úlcera corneal, neovascularización o iritis. Busque inmediatamente un diagnóstico profesional sobre el problema y tratamiento oportuno para evitar un daño grave en el ojo.

**BUENAS PRÁCTICAS EN EL CUIDADO DE LOS LENTES:**

- Lave y enjuague siempre sus manos antes de manipular los lentes.
- Limpie, enjuague y desinfecte sus lentes cada vez que se los retire.
- Manipule siempre el mismo lente, el derecho o el izquierdo, para evitar confundirlos.

**ANEXO 3**  
**INSERTO DE LOS LENTES DE CONTACTO BLANDO DE**  
**ETAFILCON A – 1 DAY ACUVUE MOIST ®**

**IMPORTANT: Veiller à lire attentivement et  
conserver ces informations**

**IMPORTANTE: leggere attentamente le seguenti  
informazioni e conservarle per un uso futuro**

**IMPORTANTE: Por favor lea atentamente esta  
información y guárdela para futuras consultas**

**IMPORTANTE: Por favor, leia atentamente esta  
informação e conserve-a para futura utilização**

**Importante:** Lea atentamente esta información y guárdela para futuras consultas. Este prospecto está dirigido a los profesionales del cuidado de la visión, pero deberá ofrecerse a los pacientes que lo soliciten. Este prospecto contiene información importante sobre el uso correcto de ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses, cuyos tipos se enumeran en la Tabla 1, así como información sobre las reacciones adversas y contraindicaciones.

Johnson & Johnson S.A. proporciona una guía de instrucciones para los pacientes de ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses que contiene información adicional para los usuarios de lentes de contacto. El profesional del cuidado de la visión proporcionará al paciente la guía de instrucciones correspondiente a la lente que le ha sido prescrita.

# ACUVUE® and SUREVUE® Brand Contact Lenses

Notice/Foglietto illustrativo/  
Prospecto/Folheto informativo



Tabla 1

Tipo de lente y nombre de la marca	Uso y reemplazo indicado			Indicador de lente invertida	Material	Contenido de polímero/agua (%)	Solución de envasado
	Uso diario: un solo uso	Uso diario: reemplazo frecuente	Uso prolongado				
<b>ACUVUE® Brand Contact Lenses Esféricas- tinte de visibilidad con filtro ultravioleta</b>							
ACUVUE® 2® Brand Contact Lenses	☐	☐	☐		etafilcon A	42/58	1
1•DAY ACUVUE® Brand Contact Lenses	☐	☐	☐		etafilcon A	42/58	1
1•DAY ACUVUE® MOIST® Brand Contact Lenses	☐	☐	☐		etafilcon A	42/58	3
SUREVUE® Brand Contact Lenses	☐	☐	☐		etafilcon A	42/58	1
ACUVUE® ADVANCE® Brand Contact Lenses with HYDRACLEAR®	☐	☐	☐		galyfilcon A	53/47	2
ACUVUE® OASYS® Brand Contact Lenses with HYDRACLEAR® PLUS	☐	☐	☐		senofilcon A	62/38	2
1•DAY ACUVUE® TruEye® Brand Contact Lenses	☐	☐	☐		narafilcon A	54/46	2
ACUVUE® ADVANCE® PLUS Brand Contact Lenses with HYDRACLEAR®	☐	☐	☐		galyfilcon A	53/47	2
1•DAY ACUVUE® DEFINE™ Brand Contact Lenses with LACREON®	☐	☐	☐		etafilcon A	42/58	3
<b>ACUVUE® Brand Contact Lenses para ASTIGMATISMO - tinte de visibilidad con filtro ultravioleta</b>							
1•DAY ACUVUE® MOIST® Brand Contact Lenses for ASTIGMATISM	☐	☐	☐		etafilcon A	42/58	3
1•DAY ACUVUE® Brand Contact Lenses for ASTIGMATISM	☐	☐	☐		etafilcon A	42/58	1
ACUVUE® ADVANCE® Brand Contact Lenses for ASTIGMATISM with HYDRACLEAR®	☐	☐	☐		galyfilcon A	53/47	2
ACUVUE® OASYS® Brand Contact Lenses for ASTIGMATISM with HYDRACLEAR® PLUS	☐	☐	☐		senofilcon A	62/38	2
<b>ACUVUE® Brand Contact Lenses para PRESBICIA - tinte de visibilidad con filtro ultravioleta</b>							
ACUVUE® BIFOCAL Brand Contact Lenses	☐	☐	☐		etafilcon A	42/58	1
ACUVUE® OASYS® Brand Contact Lenses for PRESBYOPIA with HYDRACLEAR® PLUS	☐	☐	☐		senofilcon A	62/38	2
1•DAY ACUVUE® MOIST® MULTIFOCAL Brand Contact Lenses	☐	☐	☐		etafilcon A	42/58	3

Código - Solución de envasado: 1 Salina tamponada 2 Salina tamponada con éter metílico de celulosa 3 Salina tamponada con povidona Contenido del material: 4 El material de la lente contiene silicona y cumple los estándares de absorción de filtro UV de Clase 1 con una transmisión inferior al 1% de la radiación UVB 280-315nm) e inferior al 10% de la radiación UVA (316-380nm). Todos los productos de material etafilcon A cumplen los estándares de absorción de filtro UV de Clase 2 con una transmisión inferior al 5% de la radiación UVB e inferior al 50% de la radiación UVA.

Los siguientes símbolos pueden aparecer en las etiquetas o cajas de ACUVUE® o SUREVUE® Brand Contact Lenses

SÍMBOLO	DEFINICIÓN	SÍMBOLO	DEFINICIÓN
	Consulte el folleto de instrucciones		Fabricado por o en
	Fecha de caducidad	Consulte la lista de marcas de la tabla 1	
	Número de lote		Orientación correcta de la lente
	Esterilización mediante vapor o calor seco		Orientación incorrecta de la lente (invertida)
<b>DIA</b>	<b>Diámetro</b>	<b>Sólo para Lentes de contacto para ASTIGMATISMO</b>	
<b>BC</b>	<b>Radio base</b>	<b>CYL</b>	Potencia cilíndrica
<b>D</b>	<b>Dioptrías (potencia de la lente)</b>	<b>AXIS</b>	Eje
	<b>Filtro ultravioleta</b>	<b>Sólo para ACUVUE® OASYS® Brand Contact Lenses for PRESBYOPIA with HYDRACLEAR® PLUS y 1•DAY ACUVUE® MOIST® MULTIFOCAL</b>	
<b>CE 0086</b>	<b>Símbolo de certificación del sistema de calidad</b>	<b>LOW</b>	Adición de cerca "baja" (de +0,75 a +1,25)
	<b>Solapa trasera desplegable</b>	<b>MID</b>	Adición de cerca "media" (de +1,50 a +1,75)
	<b>Impuesto de gestión de residuos</b>	<b>HGH</b>	Adición de cerca "alta" (de +2,00 a +2,50)
		<b>Sólo para 1•DAY ACUVUE® DEFINE™ Brand Contact Lenses with LACREON®</b>	
		<b>SH</b>	NATURAL SHIMMER™
	<b>ADVERTENCIA:</b> La venta o pedido de este artículo está limitada a los profesionales del cuidado de la visión de acuerdo con la Ley Federal de los EE.UU.	<b>Sp</b>	NATURAL SPARKLE™
		<b>Sólo para 1•DAY ACUVUE® TruEye® Brand Contact Lenses</b>	
			No reutilizar (Un único uso)
	<b>"Marca de identificación" de los envoltorios y envases de papel</b>		"Marca de identificación" de los materiales compuestos

## CONTENIDO

ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses se suministran en una solución salina taponada (consulte la Tabla 1 para ver la solución de envasado) en envases blíster (o de burbuja) estériles individuales. NO UTILIZAR si el blíster estéril está abierto o dañado.

## USO INDICADO

### ACUVUE® y SUREVUE® Spherical Brand Contact Lenses

Están indicadas solo para el uso diario o prolongado, como se muestra en la Tabla 1, para la corrección óptica de ametropías refractivas (miopía e hipermetropía) en personas fáticas o afáticas con ojos sanos, y con un máximo de 1,00 D de astigmatismo.

1•DAY ACUVUE® DEFINE™ Brand Contact Lenses with LACREON® también están indicadas para mejorar o alterar la apariencia del ojo.

### ACUVUE® Brand Contact Lenses para Astigmatismo

Están indicadas solo para el uso diario o prolongado, como se muestra en la Tabla 1, para la corrección óptica de ametropías refractivas (miopía e hipermetropía) en personas fáticas o afáticas con ojos sanos y que tienen astigmatismo.

### ACUVUE® Brand Contact Lenses para Presbicia

Están indicadas para el uso diario o prolongado, como se muestra en la **Tabla 1**, para la corrección óptica de la visión lejana y cercana en personas presbítas, fáticas o afáticas con ojos sanos y un máximo de 0,75 D de astigmatismo.

Además, ACUVUE® OASYS® Brand Contact Lenses también están indicadas para uso terapéutico como lentes de vendaje para los siguientes trastornos oculares agudos y crónicos:

- Para proteger la córnea de alteraciones que afectan a la córnea o al párpado, como el entropión, la triquiasis, las cicatrices tarsales y las erosiones corneales recurrentes. También están indicadas como protección frente a suturas o malformación, degeneración o parálisis de la estructura ocular, a fin de evitar la exposición o la irritación continua de la córnea.

- Para aliviar el dolor de la córnea en trastornos como la queratopatía bullosa, la erosión y la abrasión epitelial, la queratitis filamentososa y tras la queratoplastia.
- Para actuar como protección durante el proceso de curación de defectos epiteliales, como los defectos epiteliales crónicos, la úlcera de córnea, la queratitis neurotrófica y neuroparalítica y las quemaduras químicas.
- Para condiciones post-quirúrgicas donde está indicado el uso de lentes de vendaje, como tras la cirugía refractiva, los implantes laminares, los colgajos corneales y otras condiciones de cirugía ocular.
- Para proteger y proporcionar estabilidad estructural en la fijación de lentes superpuestas donde la córnea y las superficies asociadas son demasiado irregulares para permitir la colocación de lentes corneales rígidas permeables al gas (LPG). Además, el uso de lentes puede prevenir la irritación y la abrasión en trastornos donde existe un desnivel en la unión de injerto/huésped o tejido cicatrizante.

ACUVUE® OASYS® Brand Contact Lenses prescritas con fines terapéuticos pueden ser de uso diario o prolongado.

ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses tienen protección UV lo que ayuda a proporcionar protección a la córnea y el interior del ojo de la dañina radiación ultravioleta.

**ADVERTENCIA: Las lentes de contacto con filtro UV no son sustitutivas de los protectores oculares contra los rayos ultravioleta, tales como las gafas de protección o gafas de sol que absorben los rayos ultravioleta, ya que no cubren completamente el ojo y la zona circundante. Como norma, se recomienda que siga utilizando protectores oculares contra los rayos ultravioleta.**

**Nota:** La exposición prolongada a la radiación ultravioleta es uno de los factores de riesgo asociados a las cataratas. La exposición se ve afectada por una serie de factores como las condiciones del entorno (la altitud, la geografía, la nubosidad) y los factores personales (alcance y naturaleza de las actividades al aire libre). ACUVUE® Brand Contact Lenses y SUREVUE® Contact Lens con protección UV ayudan a proteger la córnea y el interior del ojo de la dañina radiación ultravioleta. Sin embargo, no se han realizado estudios clínicos que demuestren que llevar lentes de contacto con protección UV reduzca el riesgo de desarrollar cataratas u otros trastornos oculares. Para obtener más información, consulte a su profesional del cuidado de la visión.

## FORMA DE USO

Es el profesional del cuidado de la visión quien debe determinar la forma de uso y el reemplazo. Al inicio de su uso, los pacientes tienden a llevar las lentes más tiempo del

indicado. El profesional del cuidado de la visión deberá hacer hincapié en la importancia de ajustarse al tiempo máximo inicial. También son muy importantes las revisiones regulares, según determine el profesional del cuidado de la visión.

#### **Uso diario: un solo uso**

ACUVUE® Brand Contact Lenses prescritas para el uso diario de un solo uso (menos de 24 horas, sin usar durante el sueño), como se muestra en la **Tabla 1**, están indicadas para un único uso diario y, una vez retiradas, han de desecharse. Si se utilizan de este modo, no es necesario limpiarlas ni desinfectarlas.

Las lentes de contacto de marca **1•DAY ACUVUE® TruEye®** Brand Contact Lenses no han sido desarrolladas para su uso con limpiadores o sistemas desinfectantes. Las lentes deberían desecharse después de su uso. Comience cada período de uso con una lente fresca y nueva.

#### **Uso diario: reemplazo frecuente**

ACUVUE® Brand Contact Lenses prescritas para el uso diario con reemplazos frecuentes (menos de 24 horas, sin usar durante el sueño), como se indica en la **Tabla 1**, han de desecharse y sustituirse cada dos semanas.

SUREVUE® Brand Contact Lens prescritas para el uso diario con reemplazos frecuentes (menos de 24 horas, sin usar durante el sueño), como se indica en la **Tabla 1**, han de desecharse y sustituirse cada cuatro semanas.

ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses que figuran en la **Tabla 1** bajo el encabezado **Uso diario**: reemplazo frecuente deben limpiarse, aclararse y desinfectarse cada vez que la lente se extrae del ojo, utilizando únicamente un sistema de desinfección química.

#### **Uso prolongado**

ACUVUE® Brand Contact Lenses prescritas para el uso prolongado (más de 24 horas, incluidas las horas de sueño), tal como se muestra en la **Tabla 1**, pueden utilizarse de manera continua hasta 7 días/6 noches y deben desecharse una vez extraídas. Si se utilizan de esta forma, **no se requiere limpieza ni desinfección**.

Se recomienda que los nuevos usuarios de lentes de contacto sean evaluados primero en un régimen de uso diario: reemplazo frecuente. Si el profesional del cuidado de la

visión considera que el paciente es un candidato aceptable para el uso prolongado, se recomienda a dicho profesional que determine el régimen de uso en función de la respuesta del paciente.

Una vez extraída, se recomienda que la lente permanezca fuera del ojo durante toda la noche como mínimo. El profesional del cuidado de la visión debe examinar al paciente durante las fases iniciales de un uso prolongado.

#### **CONTRAINDICACIONES**

Cuando prescriba lentes de contacto para ametropías refractivas, **NO UTILICE** ACUVUE® o SUREVUE® Brand Contact Lenses si se da alguna de las siguientes condiciones.

- Infección o inflamación aguda o subaguda de la cámara anterior del ojo.
- Cualquier enfermedad, lesión o anomalía ocular que afecte a la córnea, a la conjuntiva o a los párpados.
- Insuficiencia severa de la secreción lacrimal (ojo seco).
- Hipoestesia corneal (sensibilidad corneal reducida).
- Cualquier enfermedad sistémica que pueda afectar al ojo o que pueda agravarse con el uso de lentes de contacto.
- Reacciones alérgicas de las superficies o anexos oculares que puedan producirse o agravarse con el uso de lentes de contacto o soluciones para lentes de contacto.
- Alergia a ingredientes como el mercurio o el timerosal en soluciones que vayan a utilizarse para el cuidado de las lentes prescritas en un régimen de reemplazo frecuente.
- Cualquier infección corneal activa (bacteriana, micótica, protozoica o viral).
- Si los ojos se enrojecen o se irritan.

**El profesional del cuidado de la visión puede prescribir ACUVUE® OASYS® Brand Contact Lenses CON FINES TERAPÉUTICOS para ayudar en el proceso de curación de determinados trastornos oculares, entre los que se pueden incluir los citados anteriormente.**

#### **ADVERTENCIAS**

(Uso Diario = menos de 24 horas, sin dormir; Uso Prolongado = más de 24 horas, incluidas las horas de sueño).

Un uso y un cuidado adecuados de las lentes de contacto y de sus productos, incluidos los estuches portales, es esencial para el uso seguro de los mismos. Los

problemas derivados del uso de lentes de contacto o de productos para el cuidado de las lentes pueden ocasionar lesiones serias en el ojo.

Los pacientes deben ser informados de las siguientes advertencias con relación a las lentes de contacto†:

- Los problemas con las lentes de contacto o los productos de mantenimiento pueden ocasionar lesiones serias en el ojo. Se debe advertir a los pacientes que el uso y cuidado adecuados de las lentes de contacto y los productos de mantenimiento, incluidos los estuches portales, resulta esencial para un uso seguro de estos productos.
- Problemas oculares, incluidas úlceras corneales, se pueden desarrollar rápidamente y ocasionar una pérdida de visión.
- Diversos estudios han demostrado que la incidencia de queratitis ulcerosa es mayor en los usuarios en régimen prolongado que en los usuarios en régimen diario.
- Cuando los pacientes de uso diario llevan las lentes durante la noche (al margen de la indicación aprobada), el riesgo de queratitis ulcerosa es mayor que entre aquellos que no las utilizan por la noche.
- El riesgo general de queratitis ulcerosa puede verse reducido si se siguen cuidadosamente las instrucciones para el cuidado de las lentes, incluida la limpieza de los estuches.
- Diversos estudios han demostrado que el riesgo de queratitis ulcerosa entre los usuarios que fuman es mayor que entre los no fumadores.

Si los pacientes experimentan molestias oculares, un exceso de lagrimeo, cambios en la visión, enrojecimiento del ojo u otros problemas, deberán extraerse inmediatamente las lentes de contacto y el paciente deberá consultar lo antes posible a su profesional del cuidado de la visión. Se recomienda que los usuarios de lentes de contacto acudan a su profesional del cuidado de la visión de forma regular.

† *New England Journal of Medicine*, 21 de Septiembre de 1989, 321 (12), pág. 773-783

## PRECAUCIONES

### Qué hacer si aparecen problemas

**ACONSEJE INMEDIATAMENTE A SU PACIENTE LA RETIRADA DE LAS LENTES DE CONTACTO Y QUE SIGA LAS RECOMENDACIONES DE SU PROFESIONAL DEL CUIDADO DE LA VISIÓN.**

**Precauciones especiales para los profesionales del cuidado de la visión**

Debido al reducido número de pacientes que participan en estudios clínicos sobre lentes, todas las capacidades de refracción, las configuraciones de diseño o los parámetros de la lente que intervienen en el material de las lentes no se evalúan en cantidades significativas. En consecuencia, cuando se selecciona un diseño y unos parámetros de lente apropiados, el profesional del cuidado de la visión debe tener en cuenta todas las características de la lente que puedan afectar al comportamiento de la lente y a la salud ocular, incluyendo la transmisibilidad del oxígeno, la humectabilidad, el grosor central y periférico y el diámetro de la zona óptica.

El impacto potencial de estos factores en la salud ocular del paciente debe compensarse cuidadosamente con su necesidad de corrección refractiva; por ello, el profesional del cuidado de la visión debe supervisar con mucha atención y de forma continua su salud ocular y el comportamiento de la lente en el ojo.

- Debido a la reducción de la transmitancia de luz con las lentes de contacto con tinte cosmético algunos pacientes pueden experimentar síntomas visuales mientras llevan puestas las lentes I•DAY ACUVUE® DEFINE™ Brand Contact Lenses with LACREON®. Además algunos pacientes pueden notar que perciben la periferia debido al patrón de iris opaco.

Es posible que los pacientes que llevan ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses para corregir la presbicia mediante la monovisión o corrección con multifocal no alcancen la mejor agudeza visual corregida en la visión lejana o la cercana. Las necesidades visuales varían con cada individuo y deben tenerse en cuenta a la hora de seleccionar el tipo de lente adecuado para cada paciente.

- La fluoresceína, que es un tinte amarillo, no debe utilizarse mientras las lentes estén en los ojos. Las lentes absorben este tinte y se decoloran. Si se utiliza fluoresceína en los ojos, estos se deberán aclarar con una solución salina estéril recomendada para uso ocular.

Los profesionales del cuidado de la visión deben aconsejar al paciente la retirada inmediata de las lentes si los ojos se enrojecen o se irritan.

- Los profesionales del cuidado de la visión deben dar a los pacientes instrucciones muy precisas sobre el régimen de mantenimiento y las precauciones de seguridad.

## Precauciones en la manipulación

• Antes de abandonar la consulta del profesional del cuidado de la visión, el paciente debe ser capaz de extraer las lentes con facilidad o debe tener a alguien disponible para ayudarle a retirarlas.

- **NO UTILIZAR** si el blíster estéril está abierto o dañado.

• Antes de tocar las lentes, lávese siempre las manos. No exponga los ojos ni las lentes a cosméticos, lociones, jabones, cremas, desodorantes ni aerosoles. Es

- Después del régimen de uso recomendado, deseche siempre las lentes usadas tal y como prescribe el profesional del cuidado de la visión.

#### **Precauciones para la solución**

- No siempre pueden combinarse soluciones distintas y no todas las soluciones resultan seguras para todas las lentes. Utilice únicamente las soluciones recomendadas.
- El paciente no debería cambiar de soluciones sin consultar a su Profesional del Cuidado de la Visión
- No utilice nunca soluciones recomendadas para lentes de contacto rígidas permeables al gas (RGP).
- Utilice siempre lentes y soluciones nuevas para el cuidado de lentes que no hayan caducado.
- Siga siempre las instrucciones de uso de los prospectos para las soluciones de lentes de contacto.
- Utilice únicamente sistemas de cuidado de lentes químicos (no de calor). El uso de sistemas de cuidado de calor (térmicos) puede dañar las ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses.
- Las soluciones estériles sin conservantes, cuando se utilicen, deben descartarse una vez transcurrido el tiempo indicado en las instrucciones.
- No emplee la saliva ni ninguna otra sustancia que no sean las soluciones recomendadas para lubricar o humedecer las lentes.
- Cuando no lleve puestas las lentes, consérvelas siempre completamente sumergidas en la solución de almacenamiento recomendada. Los períodos de secado prolongados reducen la capacidad de la superficie de la lente para volver al estado humectante. Si la lente se seca, siga las instrucciones para su cuidado en “Cómo actuar en caso de lente seca (deshidratada)”.

#### **Precauciones para los estuches portales**

Los estuches portales pueden ser una fuente de reproducción bacteriana; es necesario tratarlos adecuadamente, limpiarlos y cambiarlos a intervalos regulares siguiendo las recomendaciones del fabricante del estuche portales o del profesional del cuidado de los ojos.

#### **Otros aspectos que hay que tratar con los pacientes**

- Antes de utilizar cualquier tipo de medicamento para los ojos, consulte al profesional del cuidado de la visión.

mejor ponerse las lentes antes de maquillarse. Normalmente, los cosméticos con base de agua son menos dañinos para las lentes que los productos con base de aceite.

- No toque las lentes de contacto con los dedos ni las manos sin haberlas liberado de materiales extraños, ya que estas pueden sufrir arañazos microscópicos que distorsionarían la visión y/o dañarían el ojo.
- Siga atentamente las instrucciones de manipulación, inserción, extracción, limpieza, desinfección, almacenaje y uso de la “Guía de instrucciones para el paciente” de ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses, así como las prescritas por el profesional del cuidado de la visión.
- Trate siempre las lentes con cuidado y evite que se le caigan.
- No utilice nunca pinzas ni ningún otro instrumento para sacar las lentes de su recipiente si no están indicadas específicamente para ese uso. Vierta la solución de envasado y la lente en la mano.
- No toque la lente con las uñas.
- Todas las ACUVUE® OASYS® Brand Contact Lenses que se utilizan para fines terapéuticos requieren una supervisión constante. Todos los medicamentos para los ojos que se utilicen durante los tratamientos con lentes de vendaje deben someterse a la atenta supervisión del profesional del cuidado de la visión. Existen determinadas condiciones oculares en las que solo el profesional del cuidado de la visión colocará y quitará las lentes. En estos casos, se deben dar instrucciones a los pacientes para que no manipulen las lentes ellos mismos.

#### **Precauciones en el uso de las lentes**

- Si la lente se pega al ojo (no se mueve), siga las recomendaciones de “Cómo actuar en caso de lente adherida”. La lente debe moverse con libertad dentro del ojo para que este no se dañe. Si la lente continúa inmóvil, deberán darse instrucciones al paciente para que consulte inmediatamente a su profesional del cuidado de la visión.
- No lleve nunca las lentes durante un período de tiempo mayor al recomendado por el profesional del cuidado de la visión.
- Si se usan productos en aerosol, como la laca para el pelo, mientras lleva las lentes, actúe con precaución y no abra los ojos hasta que el aerosol se haya asentado.
- Mientras lleve puestas las lentes, evite todos los humos y vapores nocivos o irritantes.
- El profesional del cuidado de la visión debe aconsejar al paciente sobre el uso de lentes de contacto durante la práctica de actividades deportivas, especialmente la natación y otros deportes acuáticos. La exposición de las lentes de contacto al agua durante la natación o en una sauna puede incrementar el riesgo de infección ocular por microorganismos.

Se debe indicar al paciente que realice un sencillo autoexamen en tres partes como mínimo una vez al día. Deben realizarse las siguientes preguntas:

- ¿Qué sensación me producen las lentes?
- ¿Qué aspecto tienen mis ojos?
- ¿He notado algún cambio en mi visión?

Si el paciente informa de algún problema, se le debe aconsejar la **RETIRADA INMEDIATA DE LALENTE**. Si cesa la incomodidad o el problema, el paciente debe examinar la lente con detenimiento. Si la lente ha sufrido algún daño, el paciente **NO DEBE** volver a colocársela en el ojo. El paciente debe desechar la lente y colocar en el ojo una nueva.

Si la lente está sucia o tiene una pestaña o un cuerpo extraño, o si el problema cesa y la lente aparece intacta, se le deberá indicar al paciente que la deseche y se coloque una nueva. Si el problema persiste, el paciente **NO DEBE** volver a colocarse la lente en el ojo, sino **CONSULTAR INMEDIATAMENTE A SU PROFESIONAL DEL CUIDADO DE LA VISIÓN**.

También se deben dar instrucciones al paciente de que **NO** recurra a una lente nueva como forma de tratarse el mismo el problema. Se debe advertir al paciente de que, cuando se da cualquiera de los síntomas anteriores, puede deberse a un problema serio como una infección, una úlcera de la córnea, una neovascularización o una iritis. Se debe indicar al paciente que consulte inmediatamente a un profesional para que identifique el problema y le recomiende un tratamiento con el que evitar daños oculares serios.

Durante el uso terapéutico, los efectos adversos pueden deberse a la enfermedad o lesión original o a los efectos de llevar una lente de contacto. Existe la posibilidad de que la enfermedad o condición anterior se agrave al utilizar una lente de contacto blanda con fines terapéuticos para tratar un ojo ya enfermo o dañado. Se debe indicar al paciente que, si los síntomas se intensifican mientras lleva puesta la lente, se ponga en contacto con el profesional del cuidado de la visión para evitar lesiones oculares serias.

#### Indicaciones sobre el cuidado de las lentes

Cuando se dispensan las lentes, el profesional del cuidado de la visión debe dar al paciente las advertencias e instrucciones adecuadas para su tipo de lente y régimen de uso particulares. El profesional del cuidado de la visión debe recomendar un sistema de cuidado que esté hecho a la medida de las necesidades particulares del paciente.

- Ciertos medicamentos, tales como antihistamínicos, descongestionantes, diuréticos, relajantes musculares, tranquilizantes y los fármacos que previenen el mareo, pueden causar sequedad ocular, mayor sensibilidad a las lentes o visión borrosa. Si se dan tales circunstancias, se deberán prescribir medidas adecuadas para remediarlas. Dependiendo de la intensidad, se podría determinar el uso de gotas lubricantes indicadas para utilizar con lentes de contacto blandas o la interrupción temporal del uso de las lentes de contacto mientras se emplee dicha medicación.
- Las usuarias de anticonceptivos orales podrían experimentar cambios visuales o cambios en la tolerancia de las lentes cuando se utilizan lentes de contacto. Esto es algo sobre lo que se debe informar a las pacientes.
- Como ocurre con cualquier lente de contacto, es necesario que se realicen visitas regulares para garantizar la salud continuada de los ojos del paciente. Se debe recomendar al paciente un programa de seguimiento.

#### ¿Qué personas deben saber que el paciente lleva lentes de contacto?

- Informe a su médico (profesional de la salud) de que usa lentes de contacto.
- Informe siempre en su trabajo de que es usuario de lentes de contacto. Algunos trabajos pueden requerir algún tipo de protección ocular o que el paciente no utilice lentes de contacto.

#### REACCIONES ADVERSAS

Se deberá informar al paciente de que el uso de ACUVUE® o SUREVUE® Brand Contact Lenses puede derivar en los siguientes problemas:

- Ardor, pinchazos y/o picor en el ojo.
- Menor comodidad que cuando la lente se colocó por primera vez en el ojo.
- Sensación de tener algo en el ojo (un cuerpo extraño, una zona arañada).
- Puede desarrollarse algún deterioro temporal debido a infiltrados periféricos, úlceras corneales periféricas y erosión corneal. Pueden desarrollarse otras observaciones fisiológicas, como edemas locales o generalizados, neovascularizaciones corneales, tinciones corneales, inyecciones, anomalías de tarsales, iritis y conjuntivitis, algunas de las cuales son clínicamente aceptables si son de carácter leve.
- Pueden darse lagrimeo excesivos, secreciones oculares inusuales o enrojecimientos del ojo.
- Si las lentes se usan de forma continua o durante un período de tiempo demasiado prolongado, se puede experimentar poca agudeza visual, visión borrosa, arco iris o halos alrededor de los objetos, fotofobia u ojos secos.

Si no se siguen las instrucciones adecuadas de cuidado de las lentes, puede causar daños en el ojo, tal como se describe en la sección “**Advertencias**”. Para obtener información completa sobre la manipulación, el cuidado, la limpieza, la desinfección y el almacenamiento de las lentes de contacto, consulte la Guía de instrucciones para el paciente de ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses.

En los casos en los que se recomienda el reemplazo frecuente para ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses (consulte la **Tabla 1**), las lentes deben limpiarse y desinfectarse después de su extracción antes de volver a utilizarse. Las lentes solo pueden desinfectarse mediante un sistema de desinfección química (por ejemplo, un sistema de peróxido de hidrógeno o uso múltiple).

El profesional del cuidado de la visión debe revisar con su paciente las instrucciones de mantenimiento de las lentes, incluida la información básica sobre la limpieza del estuche, así como las instrucciones específicas sobre el régimen de mantenimiento recomendado para el paciente. Debido a que algunos materiales de lentes contienen sílicona, tal como indica la **Tabla 1**, su humectabilidad puede variar en función de los productos empleados para su mantenimiento.

#### **Cómo actuar en caso de lentes adheridas (que no se mueven)**

Si la lente se adhiere (no se mueve), se deberá indicar al paciente que aplique directamente en el ojo unas gotas de la solución lubricante o humectante recomendada y que espere a que la lente comience a moverse con libertad dentro del ojo antes de extraerla. Si la lente continúa inmóvil transcurridos unos minutos, el paciente deberá consultar inmediatamente a su profesional del cuidado de la visión.

#### **Cómo actuar en caso de lentes secas (deshidratadas)**

Si ACUVUE® o SUREVUE® Brand Contact Lenses están fuera del ojo durante un tiempo prolongado, su superficie puede secarse y perder gradualmente la humedad. Si esto ocurre, deseche la lente y utilice una nueva.

#### **EMERGENCIAS**

En el caso de que productos químicos de cualquier clase (productos de limpieza del hogar, soluciones para jardinería, químicos de laboratorio, etc) salpiquen el ojo se debe informar al paciente de que deberá: **LAVARSE INMEDIATAMENTE LOS OJOS CON AGUA DEL GRIFO Y CONTACTAR RÁPIDAMENTE CON SU PROFESIONAL DEL CUIDADO DE LA VISIÓN O ACUDIR AL HOSPITAL DE GUARDIA SIN DEMORA.**

#### **INFORME DE REACCIONES ADVERSAS**

Todas las experiencias y reacciones adversas observadas en pacientes que utilizan ACUVUE® y SUREVUE® Brand Contact Lenses deben comunicarse a:

Johnson & Johnson S. A.

Pso. de las Doce Estrellas, 5-7, Campo de las Naciones. 28042 Madrid, España

Teléfono: 900-228400 Fax: 900-303040

Correo electrónico: [clientes@csces.jnj.com](mailto:clientes@csces.jnj.com)

#### **Información adicional**

Si desea obtener información adicional con relación a ACUVUE® o SUREVUE® Brand Contact Lenses y solicitar gratuitamente las guías de instrucciones del paciente, póngase en contacto con el Servicio de atención al cliente en la dirección anterior.

#### **Fabricante:**

Consulte el envase para ver el lugar de fabricación

#### **USA:**

Johnson & Johnson Vision Care, Inc.

7500 Centurion Parkway

Jacksonville

Florida, 32256

USA

#### **IRELAND:**

Johnson & Johnson Vision Care (Ireland)

The National Technology Park

Limerick

Ireland

#### **Representante autorizado en la UE:**

Johnson & Johnson Medical Limited

Pinewood Campus

Nine Mile Ride

Wokingham

RG40 3EW

United Kingdom

[www.acuvue.com](http://www.acuvue.com)