

1-1-2017

Evaluación de la actividad antimicrobiana de dos soluciones multipropósitos comercializadas en Colombia frente a las cepas de staphylococcus aisladas de la microbiota conjuntival

Henao Ávila
Universidad de La Salle

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

Citación recomendada

Henao Ávila. (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana de dos soluciones multipropósitos comercializadas en Colombia frente a las cepas de staphylococcus aisladas de la microbiota conjuntival. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/optometria/252>

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

**EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DOS SOLUCIONES
MULTIPROPOSITOS COMERCIALIZADAS EN COLOMBIA FRENTE A LAS
CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AISLADAS DE LA MICROBIOTA
CONJUNTIVAL**

YISEL HENAO AVILA

**C.C 1094945988 de Armenia
Cód. 50132011**

AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN

DIRECTORA

**MARTHA FABIOLA RODRÍGUEZ ÁLVAREZ
BACTERIOLOGA, MSc**

**MODALIDAD DE GRADO: PARTICIPACIÓN EN PROYECTO DE
INVESTIGACIÓN: *BIOCOMPATIBILIDAD DE LA SOLUCIÓN MULTISOLUTION
OXI CON LA SUPERFICIE OCULAR Y LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE
DOS MULTISOLUCIONES.***

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VISION
BOGOTÁ, 2017**

DEDICATORIA

Dedico mis logros a Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor. A mi familia por apoyarme cada segundo, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien y a mi novio por estar cuando más lo necesito, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

AGRADECIMIENTOS

No sé cómo expresar mi gratitud a todas esas personas que han hecho lo posible para que pudiera terminar mi trabajo de grado. Me considero muy afortunada de haber trabajado con una de las mejores profesionales y le doy muchas gracias a mi directora, La Doc Martha Fabiola Rodríguez por dedicarme su tiempo, por enseñarme, por estar incondicionalmente cuando la necesite y por haberle puesto la mejor dedicación a mi trabajo. A mi familia, por su apoyo constante, a mi papá por siempre estar hay con migo, a mi hermano por abrazarme cuando lo necesitaba, a mi mamá que aunque está lejos, nunca dejo de darme su apoyo, y a yusafi que siempre estuvo presente. Nunca deja de maravillarme estar rodeada de gente que me quiere incondicionalmente. No puedo dejar de agradecer a mi novio Alejandro Muñoz que cuando estaba desesperada buscando las soluciones multipropósito que utilicé, me dio su apoyo y me ayudo a buscar la mejor solución, y por su puesto a mis queridas compañeras Luz Rodríguez y Juliana Granados, que con su ayuda pude llegar al final, gracias.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	1
AGRADECIMIENTOS	2
LISTA DE TABLAS	4
LISTA DE FIGURAS	5
RESUMEN	6
INTRODUCCION	7
MARCO TEORICO	10
MATERIALES Y METODOS.....	13
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES	23
BIBLIOGRAFIA	24

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas de la conjuntiva de sujetos sin patología ocular.

Tabla 2. Reducción de bacterias por soluciones multipropósito comercializadas en Colombia.

Tabla 3. Porcentaje reducción de bacterias por soluciones multipropósito comercializadas en Colombia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diseño del estudio *in vitro* antimicrobiano (norma ISO 14729 Criterio primario o prueba independiente) con las SMP comercializadas en Colombia.

Figura 2. Eficacia antibacteriana de las dos SMP comercializadas en Colombia (azul: OXI, naranja: PLUS) frente a cepas de bacterias aisladas de la microbiota conjuntival.

RESUMEN

El uso de lentes de contacto puede ser un factor de riesgo para las infecciones del segmento anterior del ojo, principalmente cuando hay un uso incorrecto de los lentes de contacto, una higiene inadecuada, y la reducción de la eficacia de la solución de cuidado de lentes de contacto. Las soluciones multipropósito (SMP) para lentes de contacto (LC) blandos tienen un papel fundamental en la inhibición o muerte de agentes potencialmente patógenos, que pueden contaminar los LC. **OBJETIVO:** Evaluar la actividad antimicrobiana de dos SMP comercializadas en Colombia compuestas por Polyhexametileno Biguanidina (PHMB) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* aisladas de la conjuntiva de sujetos sanos. **METODOLOGÍA:** Para el ensayo *in vitro* se siguió la norma ISO 14729. **RESULTADOS:** Las dos SMP reducen en más de 3 log las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias aisladas de la microbiota conjuntival. **CONCLUSIONES:** Las SMP a base de PHMB cumplen con los criterios antimicrobianos de la norma ISO 14729, frente a cepas aisladas de la microbiota conjuntival.

Palabras clave: *Lentes de contacto, Polyhexametileno Biguanidina, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Microbiota, Conjuntivitis, Blefaritis.*

INTRODUCCION

Las enfermedades infecciosas oculares son responsables de un alto grado de morbilidad y ceguera visual en todo el mundo. Más del 70% de las infecciones oculares por bacterias están asociadas con *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, especies de *Moraxella*. La frecuencia y la patología pueden fluctuar según la edad, el género, el clima, el acceso a la atención médica y la frecuencia de cultivo ¹

La patogénesis de las infecciones oculares está determinada por múltiples causas: la virulencia intrínseca del microorganismo, la respuesta natural del huésped y la estructura anatómica, fisiológica y bioquímica del ojo ²⁻³. Las infecciones pueden originarse externamente afectando las zonas directas de contacto.³⁻⁴

La mucosa conjuntival hospeda microorganismos que hacen parte de la microbiota ocular como *Staphylococcus epidermidis* o *Staphylococcus aureus*; con menos frecuencia pueden recuperarse algunas *Corynebacterias*, *Neisserias* no patógenas y *Streptococcus pyogenes*.⁴⁻⁵⁻⁶⁻⁷⁻⁸⁻⁹

Estos microorganismos pueden ser causantes de diversas infecciones oculares, entre las cuales se encuentran: conjuntivitis, blefaroconjuntivitis, dacriocistitis, queratitis entre otras; además, dependiendo del tiempo de evolución de la infección y del tratamiento instaurado inicialmente, se pueden generar complicaciones severas que conducirían a pérdida parcial o total la visión o incluso a septicemia. ¹⁰

La superficie ocular está compuesta por la córnea y su tejido suprayacente, la conjuntiva. Por lo tanto, la microbiota de la superficie ocular se refiere a los microorganismos residentes que colonizan la conjuntiva y la córnea y, de manera importante, excluye el párpado. Las especies identificadas con mayor frecuencia de las superficies conjuntivales en humanos sanos son la Coagulasa Negativa *Staphylococcus* sp (CNS sp), que incluye *Staphylococcus epidermidis*. La

caracterización de la microbiota de la superficie ocular utilizando métodos basados en el cultivo fue dominada por especies Gram-positivas, especialmente *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, y *Propionibacterium*. Entre las especies microbianas menos frecuentes se encuentran *Propionibacterium* sp (*P. acnes*), *Corynebacterium* sp, *S. aureus*, *Streptococcus* sp, *Micrococcus* sp, *Bacillus* sp y *Lactobacillus* sp.¹⁰ Estos microorganismos pueden ser causantes de diversas infecciones oculares, entre las cuales se encuentran: conjuntivitis, blefaroconjuntivitis, dacriocistitis, queratitis entre otras; además, dependiendo del tiempo de evolución de la infección y del tratamiento instaurado inicialmente, se pueden generar complicaciones severas que conducirían a pérdida parcial o total la visión o incluso a septicemia.²⁻¹¹

Las bacterias de la microbiota ocular representan el 73 % del total de patógenos oportunistas en estas infecciones.¹¹ *S. aureus* es la especie patógena del género *Staphylococcus*, una bacteria Gram-positiva aeróbica, pero se puede aislar en menor frecuencia de la piel y mucosas de personas sanas como parte de la microbiota⁶⁻⁷⁻⁸⁻⁹⁻¹²⁻¹³⁻¹⁴. *S. aureus* es la principal causa de infecciones bacterianas en los usuarios de lentes de contacto que induce una ulceración periférica.¹⁵ Las otras especies de *Staphylococcus* son patógenos oportunistas siendo *S. epidermidis* el que se encuentra con mayor frecuencia, entre el 50% y más del 80% de los aislamientos de la ojos con y sin infección en la superficie ocular⁵⁻⁶⁻¹⁶⁻¹⁷⁻¹⁸.

Staphylococcus epidermidis, *S. aureus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, y *Serratia marcescens* son las bacterias más comúnmente aisladas en los lentes de contacto (LC) y estuche, las cuales frecuentemente se asocian a queratitis microbianas, ojo rojo y úlceras periféricas por el uso de LC.¹⁹⁻²⁰⁻²¹⁻²². Las soluciones multipropósito son productos de desinfección de lentes de contacto que posee actividad bactericida (mata, destruye y / o inactiva las bacterias) están formuladas para permitir la combinación de funciones de limpieza, enjuague y desinfección. Las soluciones multipropósito (SMP) se prescriben en un 80% en todo el mundo. Muchos de estos

productos no requieren el uso de otros componentes auxiliares en el proceso de cuidado de los lentes. La desinfección de lentes de contacto es un proceso químico o físico para reducir el número de microorganismos viables.²³⁻²⁴⁻²⁵

Las SMP para el mantenimiento de los lentes de contacto, rígidos o blandos (sistemas de una botella), están formuladas para permitir la combinación de funciones de limpieza, enjuague y desinfección.²⁶ La mayoría de las soluciones multipropósito contienen un surfactante, un agente antimicrobiano para desinfección, el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como quelante para remover iones de calcio e incrementar el efecto antimicrobiano, agentes buferizantes para mantener el pH estable y agentes tensioactivos como tiloxapol, poloxamina o poloxámero.²⁷⁻³¹ Los agentes desinfectantes o biocidas que actualmente usan las SMP son: peróxido de hidrógeno, Polyhexametilén biguanida (PHMB), Alexidina, Polyquaternarium-1 (PQ-1) y Amidoamina (Aldox).²⁸⁻²⁹⁻³⁰

El Polihexametileno biguanida(PHMB), es un agente microbicida especialmente útil por su amplio espectro de actividad bactericida y fungicida a bajas concentraciones unido a una muy baja toxicidad cuando se utiliza con lentes de contacto del tipo blando. Las composiciones que contienen PHMB y borato se han comercializado en diversos productos incluyendo soluciones multi-propósito, a niveles relativamente bajos, de aproximadamente 1 ppm o menos, para su utilización con lentes de contacto blandas.³¹ El modo de acción de se relaciona con el hecho de que se une a los fosfolípidos cargados negativamente que se encuentran en las membranas plasmáticas microbianas, causando disrupción de la membrana y la lisis celular. La membrana externa de las células microbianas tiene expuesto los grupos de fosfolípidos con la que se une fácilmente PHMB. Se ha demostrado que La naturaleza polimérica de cadena larga de PHMB proporciona una actividad antimicrobiana óptima, lo que permite múltiples sitios a lo largo de la molécula para unirse a la pared celular microbiana. Esto crea un gran dominio de gran volumen en la membrana citoplasmática microbiana, causando la interrupción y, finalmente, la lisis celular.³²⁻³³⁻³⁴⁻³⁵

Dentro de los factores de riesgo de infecciones en los usuarios de lentes de contacto es la falta de una desinfección adecuada, el lavado de las manos antes de manipular las lentes y la colonización de los lentes por las bacterias ambientales y la microbiota ocular³⁶. Lo anterior implica la necesidad de una buena solución multipropósito que garantice una buena desinfección de los lentes, en el caso de no ser desechables. La evaluación de la eficacia antimicrobiana de las SMP se realiza mediante norma internacional ISO 14729 “ISO 14729 *Ophthalmic optics Contact lens care products Microbiological requirements and test methods for products and regimens for hygienemanagement of contact lenses*”, el estándar de la FDA.³⁷ Con cepas de microorganismos establecidos (ATCC), reconocidos genéticamente y como los principales agentes que contaminan los LC, que pueden ocasionar queratitis microbiana: *Pseudomona aeuriginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcensce*, *Candida albicans* y *Fusarium solani*. Estas cepas tienen una susceptibilidad frente a los antimicrobianos, definida genéticamente lo cual hace que estos estudios sean comparables a nivel mundial.

37

Sin embargo, a pesar de las ventajas de realizar este tipo de evaluaciones, no se tiene en cuenta los microorganismos asilados a nivel ocular, sobre todos aquellos que hacen parte de la microbiota ocular, que como ya se mencionó representan los patógenos oportunistas más frecuentes en las infecciones de la superficie ocular. Por lo cual algunos estudios los incluyen, siendo de gran interés sobre toda a nivel regional, donde este tipo de trabajos dan un valor agregado a la seguridad y eficacia que ofrecen las SMP en el país donde se comercializan dichos productos.

MARCO TEORICO

Todas las SMP que se comercializan deben cumplir los mínimos estándares de eficacia antimicrobiana y biocompatibilidad para lo cual se utilizan. ³² Así de

acuerdo al tipo de antimicrobiano utilizado las SMP que contienen PHMB han mostrado tener buena actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.³⁸⁻³⁹

En un estudio realizado en el “Institute for Biotechnology and Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar, Braga, Portugal, en el 2011” se probó la actividad antibacteriana de dos soluciones disponibles comercialmente (Opti-Free (®) Express (®) y Renu (®) Multiplus) y una solución retirada (Complete (®) MoisturePlus™), siguiendo el estándar 14729, que establece las pautas para evaluar las soluciones desinfectantes LC. Demostró que para la mayoría de las bacterias adheridas, Opti-Free (®) fue capaz de reducir la concentración celular en 4 log.⁴⁰ En un estudio similar realizado en el año 2015 en Sapienza University, Rome, Italy se evaluó la actividad antibiofilm de tres soluciones multipropósito (MPS) diferentes: Regard, Biotrue y OPTI-FREE PureMoist en cuatro especies bacterianas (*Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*). Como resultado muestran que las SMP son capaces de inhibir por completo la formación de biofilm de especies de *Staphylococcus* y de *S. marcescens* después de solo 4 horas de incubación. Además, se observó una reducción de la formación de biopelículas por *Pseudomonas*, inhibió por completo la formación de biopelículas por *S. epidermidis* y ralentizó el desarrollo de biopelículas por *P. aeruginosa*.⁴¹

En el 2012 en “University of Medical Science, Tehran” se evaluó tres soluciones multipropósito para lentes de contacto disponibles en Irán, frente a aislados clínicos y la norma ISO cepas ATCC de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, basado en el Organización Internacional de Normalización (ISO) 14729 directrices. Las soluciones que se evaluaron fueron ReNu MultiPlus (Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA), Solo Care Aqua (CIBA Visión, Duluth, GA, USA), All-Clean Soft (Avizor, Spain) utilizando la medida de reducción logarítmica mínima recomendada para el tiempo de desinfección de 4 horas para cada solución. Los resultados probaron en el presente estudio, la norma ISO que mostró las diferencias en la susceptibilidad a la lente de contacto de las tres

soluciones multipropósito entre los aislados de las cepas de *P. aeruginosa* y *S. aureus*.⁴² De acuerdo con estudios previos, una de las hipótesis de la prueba fue que los aislados clínicamente serían más resistentes que las cepas de laboratorio. Como lo mencionan en la investigación: “ Soft contact lens disinfection solution efficacy: clinical *Fusarium* isolates vs. ATCC 36031” , realizada en Australia-2009⁴³, “Efficacy of contact lens multipurpose solutions against *serratia marcescens*”, realizada en Australia.2007 ⁴⁴ , “Testing MPS Lens Care Solutions Against *Staphylococcus aureus*” , en el 2007 ⁴⁵, “*Fusarium* and *Candida albicans* biofilms on soft contact lenses: model development, influence of lens type, and susceptibility to lens care solutions”.

En el 2009 se realizó un estudio in vitro de la capacidad de germinación de *aspergillus fumigatus* en los materiales de lentes de contacto blandos y eficacia de las soluciones multipropósito contra este microorganismo, en Bogotá-Colombia. Donde se trabajaron dos soluciones que contenían PolyaminopropilBiguanida (PAPB): PAPB y DYMED (PAPB0, 0001% y Poloxamina 1%). Adicional-mente se incluyeron soluciones como POLYQUAD (Polyquad 0,001% y Poliqua-ternium 1), ALDOX (miristamidopropildi-metilamina) y Trimetoprim (0,01%). Comocontrol se utilizó peróxido de hidrógeno al 3,7% (Dioxogen – JGB®). Las cinco soluciones evaluadas, tres que contenían PAPB; DYMEDPAPB Y POLYQUAD presentaron efectofungistático. ¹¹

En este estudio, de acuerdo con la norma ISO 14729, los antimicrobianos, la citotoxicidad y el rendimiento clínico de una nueva solución de lente de contacto blanda de usos múltiples (Complete® RevitaLens) basado en policuaternio-1 y diclorhidrato de alexidina (NuMPS) en el 2010 donde NuMPS mostró una amplia eficacia EPT antimicrobiana, incluyendo *Acanthamoeba*, dando una reducción de 3-4 log 10 en la viabilidad después de 6 horas de tiempo de contacto.⁴⁶

MATERIALES Y METODOS

TIPO DE ESTUDIO: Descriptivo de corte transversal.

Diseño del estudio: Ensayo in vitro para evaluación de actividad antimicrobiana.

BACTERIAS: Se utilizaron 8 cepas de bacterias aisladas de la microbiota ocular de sujetos sin patología ocular aparente: *Staphylococcus epidermidis*, seleccionada por ser la más frecuente *Staphylococcus aureus*, seleccionada por ser la especie patógena del género que se encontró como parte de la microbiota ocular. En la tabla 1 se presenta el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de las 8 cepas evaluadas.

Tabla 1. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas de la conjuntiva de sujetos sin patología ocular

MO	C	O	G	Ci	L	M	E	Cl	Q/D	Li	T	V	Mi	Te	N	R	T/S
<i>S. aureus 1</i>	NEG	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
<i>S. epidermidis 1</i>	NEG	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>S. aureus 2</i>	NEG	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
<i>S. epidermidis 2</i>	--	S	R	R	--	--	R	--	--	--	--	S	--	R	--	--	--
<i>S. aureus 3</i>	NEG	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	I	S	S
<i>S. epidermidis 3</i>	POS	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	I	S	S	S
<i>S. aureus 4</i>	POS	R	S	S	S	S	R	R	R	--	R	R	I	S	R	R	S
<i>S. epidermidis 4</i>	POS	S	S	S	--	--	I	--	--	--	--	S	--	S	--	--	--

R: resistente, S: susceptible, I: resistencia intermedia. C: Cefoxitina, O: Oxacilina, G: Gentamicina, Ci: Ciprofloxacina, L: Levofloxacina, M: Moxifloxacina, E: Eritromicina, Cl: Clindamicina, Q/D: Quinopristina/Dalfoprisitna, Li: Linezolid T: Teicoplanina, V: Vancomicina, Mi: Minociclina, Te: Tetraciclina, N: Nitrofurantoina, R: Rimfapicina, T/S: Trimetoprima/Sulfametoxazol.

SOLUCIONES MULTIPROPOSITO (SMP): Se utilizaron 2 SMP producidas y comercializadas en Colombia, la solución 1 está diseñada para el mantenimiento de lentes de contacto blandos, contiene solución isotónica estéril, con Poloxamer

407, Carbonilamida, agentes lubricantes y ácido bórico, preservado con EDTA y Polyhexamethylenebiguanida; la solución 2 está diseñada para el mantenimiento de lentes de contacto blandos y de Hidrogel de silicona, contiene solución isotónica estéril con 4 agentes humectantes, contiene povidona (polivinilpirrolidona), preservado con EDTA y Polyhexamethylenebiguanida; de cada solución se evaluaron 11 lotes diferentes.

Actividad antimicrobiana: Se utilizó la norma ISO 14729 Criterio primario o prueba independiente con dos soluciones multipropósito. Cada cepa se cultivó en agar Trypticase de soya (Difco) para las bacterias por 24 horas a 30-35°C y 7 días a temperatura ambiente respectivamente. Cada cepa se ajustara a una concentración de 10^7 MO/ml con tampón fosfato salino, sus siglas en inglés (PBS) de Dulbecco (Sigma-Aldrich) para tener una concentración final en el reto de 10^5 MO /ml para las bacterias. Posteriormente se realizara la neutralización de la SMP con caldo neutralizante (Sigma-Aldrich) por 10 minutos obteniendo una concentración final de 10^4 y 10^3 para las bacterias. Se procederá a sembrar en placa por triplicado para el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC) (figura 1). El control de crecimiento se realizó en cada ensayo teniendo en cuenta la dilución en la cual previamente se estableció un recuento de colonias entre 30 y 300 UFC.

Porcentaje de inhibición: Para cada bacteria se tuvo en cuenta una reducción promedio de crecimiento en $3,0 \log_{10}$ al tiempo recomendado de desinfección y una reducción mínima promedio de $5 \log_{10}$ para todas las dos bacterias.

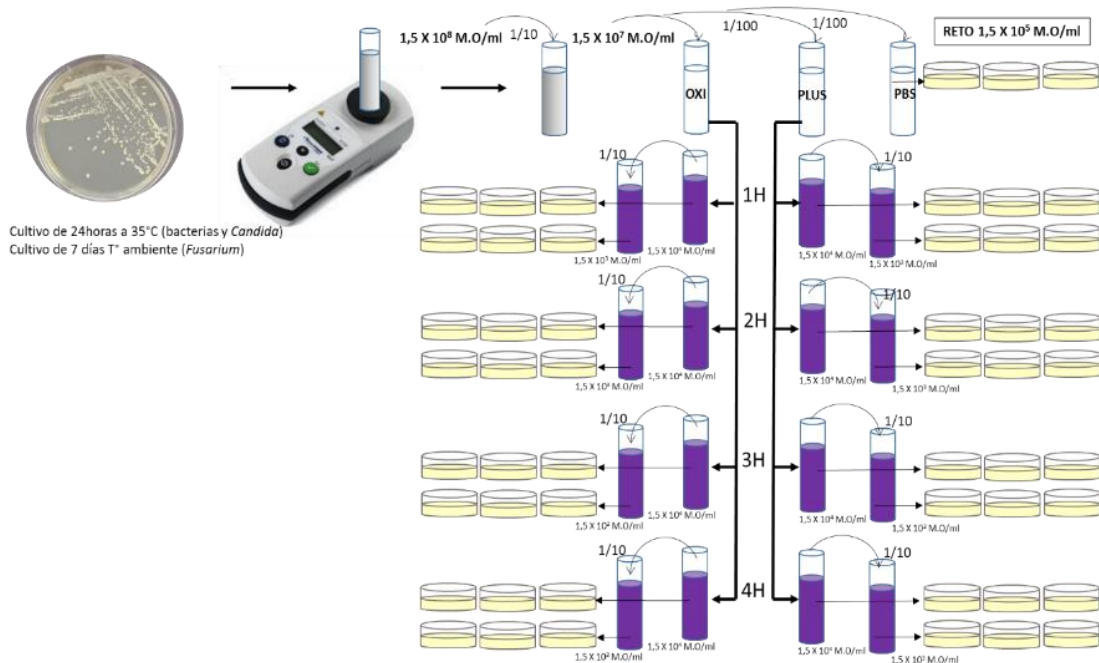


Figura 1. Diseño del estudio *in vitro* antimicrobiano (norma ISO 14729 Criterio primario o prueba independiente) con las SMP comercializadas en Colombia. (cortesía Martha Fabiola Rodriguez)

Análisis estadístico: se utilizó la fórmula provista en la norma para determinar el log de inhibición del crecimiento bacteriano frente a las SMP.

Las unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas después de la incubación con el antimicrobiano se multiplicaron por el factor de dilución de cada paso 10^5 (dilución del reto) $\times 10^2$ (dilución del caldo neutralizante) $\times 10$ (cantidad sembrada en las cajas de Petri). Una vez se obtuvo el número de MO por ml. Se obtuvo el promedio de las tres repeticiones tanto en el control de crecimiento como en cada uno de los ensayos, se obtuvo el logaritmo en base 10 y se procedió a restar el log obtenido después de incubar las bacterias con cada SMP del log de crecimiento obtenido en los controles de crecimiento sin SMP.

El porcentaje de reducción se obtuvo en comparación de la reducción de bacterias por soluciones multipropósito comercializadas en Colombia y la reducción \log_{10} de bacterias, siendo el 100% 0 UFC y teniendo en cuenta el logaritmo en base 10 del crecimiento bacteriano, realizando así una regla de 3 para hallar el resultado en porcentaje.

RESULTADOS

En la tabla 2 se observa que la reducción bacteriana a las 4H (100%) es de 0 UFC cumpliendo el criterio de desinfección; sin embargo el crecimiento de algunas cepas bacterianas a la 1H (25%), 2H (50%) y 3H (75%) fue notorio.

Tabla 2. Reducción de bacterias por soluciones multipropósito comercializadas en Colombia.

REDUCCIÓN UFC DE BACTERIAS						
BACTERIA	NUMERO DE LOTE SMP	CONTROL 10^3 UFC	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA UFC			
			1 HORA	2 HORA	3 HORA	4 HORA
<i>S. aureus</i> 1	Solución 1 Lote 1 #16012	49.6	0	0	0	0
	Solución 2 Lote 2 #16022		0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i> 1	Solución 1 Lote 3 #16013	54	0	0	0	0
	Solución 2 Lote 4 #16001		0.33	0	0	0
<i>S. aureus</i> 2	Solución 1 Lote 5 #15023	278	1.66	0	0	0
	Solución 2 Lote 6 #15052		1.33	1.00	0	0
<i>S. epidermidis</i> 2	Solución 1 Lote 7 #15012	60	0	0	0	0
	Solución 2 Lote 8 #15017		0	0	0	0
<i>S. aureus</i> 3	Solución 1 Lote 9 #17151	227	34	0	0	0
	Solución 2 Lote 10 #17082		26.6	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	Solución 1		0	0	0	0

3	Lote 9 #17151	87.3				
	Solución 2 Lote11#16024		1.6	7.6	10.6	0
<i>S. aureus</i> 4	Solución 1 Lote 9 #17151	179.3	0	0	0	0
	Solución 2 Lote10#17082		0	0	0	0
<i>S.epidermidis</i> 4	Solución 1 Lote 9 #17151	67.3	0	0	0	0
	Solución 2 Lote11#16024		0	0	0	0

Referencia propia.

S: *Staphylococcus* #: Numero UFC: Unidades formadora de colonias SMP: Soluciones multipropósitos.

El promedio del log de reducción de las bacterias al 25 %, 50%, 75% y 100% del tiempo mínimo de desinfección recomendado por la casa comercial (4 horas) de las dos SMP se describe en la tabla 3.

Tabla 3. Porcentaje reducción de bacterias por soluciones multipropósito comercializadas en Colombia.

BACTERIA	NUMERO DE LOTE SMP	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA			
		1 HORA	2 HORA	3 HORA	4 HORA
<i>S. aureus</i> 1	Solución 1 Lote 1 #16012	100%	100%	100%	100%
	Solución 2 Lote 2 #16022	100%	100%	100%	100%
<i>S. epidermidis</i> 1	Solución 1 Lote 3 #16013	100%	100%	100%	100%
	Solución 2 Lote 4 #16001	81.7%	100%	100%	100%
<i>S. aureus</i> 2	Solución 1 Lote 5 #15023	61.8%	100%	100%	100%
	Solución 2 Lote 6 #15052	60.6%	61%	100%	100%

<i>S. epidermidis</i> 2	Solución 1 Lote 7 #15012	100%	100%	100%	100%
	Solución 2 Lote 8 #15017	100%	100%	100%	100%
<i>S. aureus</i> 3	Solución 1 Lote 9 #17151	88.8%	100%	100%	100%
	Solución 2 Lote10#17082	87.4%	100%	100%	100%
<i>S. epidermidis</i> 3	Solución 1 Lote 9 #17151	100%	100%	100%	100%
	Solución 2 Lote11#16024	74.9%	84.7%	86.7%	100%
<i>S. aureus</i> 4	Solución 1 Lote 9 #17151	100%	100%	100%	100%
	Solución 2 Lote10#17082	100%	100%	100%	100%
<i>S. epidermidis</i> 4	Solución 1 Lote 9 #17151	100%	100%	100%	100%
	Solución 2 Lote11#16024	100%	100%	100%	100%

Referencia: Propia.

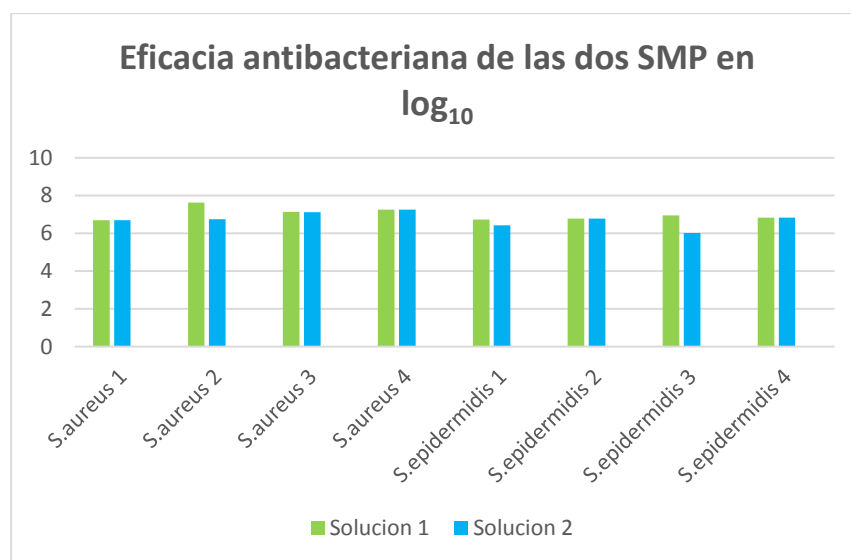


Figura 2. Eficacia antibacteriana de las dos SMP comercializadas en Colombia frente a cepas de bacterias aisladas de la microbiota conjuntival (Referencia: Propia).

En la gráfica se evidencia la eficacia bacteriana donde la numeración vertical es la reducción logarítmica en base 10 (\log_{10}), las soluciones utilizadas se distinguen por unos colores específicos. Solución 1 (verde) y la solución 2 (azul).

De acuerdo a la norma ISO 14729, las dos SMP cumplen el criterio para ser una solución desinfectante con un promedio de reducción \log_{10} de las UFC mayor de 3,0 en las cepas ATCC de las bacterias que incluye la norma.

DISCUSIÓN

Las SMP tienen como principal función la desinfección de los LC, aunque la mayoría tiene agentes antimicrobianos de amplio espectro, los estudios microbiológicos de los estuches y LC de pacientes que usan las SMP han reportado un alto porcentaje de contaminación, principalmente por bacilos Gram negativos no fermentadores y bacterias del género *Staphylococcus*. El Polihexametilenebiguanida (PHMB), es un agente microbicida que pertenece a la nueva generación de preservantes para soluciones de lentes de contacto, las soluciones que se usaron para este proyecto tenían este agente microbicida que es eficaz para acabar con las bacterias resistentes a los antibióticos.

El aumento de bacterias resistentes a los antibióticos es un factor para adquirir alguna patología por mal uso de los lentes de contacto. Una alternativa eficaz es el uso de agentes antimicrobianos, que presentan menos probabilidades de generar resistencia, y más si son de alto espectro, como son las soluciones multipropósito. Como se puede observar en la tabla número 2 las dos SM comercializadas en Colombia fueron evaluadas con 6 cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, obteniendo como resultado que a las 4h (100%) de haber sembrado la bacteria, el crecimiento bacteriano fue igual 0 UFC cumpliendo con el criterio para ser una solución desinfectante, de acuerdo a la norma ISO 14729.

EVALUACION DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS SEGÚN SU RESISTENCIA

Algunas bacterias demostraron crecimiento antes de las 4h requeridas por la casa comercial, se realizó un control de cada cepa bacteriana, para luego realizar la comparación de crecimiento cada hora, esta siembra se realizó con una concentración de 10^5 10^4 y 10^3 , pero el análisis se realizó con una concentración de 10^3 debido a que las concentraciones 10^5 y 10^4 al realizar el conteo bacteriano (señala la magnitud de la población total bacteriana) las bacterias son incontables.

S. aureus 1, como se muestra en la tabla 1, tiene una resistencia a la Tetraciclina y Cefoxitina, resistencia intermedia (cuando el éxito del antibiótico es imprevisible) a la Ciprofloxacina y Levofloxacina, con un control de crecimiento y concentración 10^3 de 49,6 UFC; se observó que para la solución 1 y 2 en los tiempos de 1H, 2H, 3H y 4H no hubo formación de colonias. *S. aureus* 2, es resistente a la Tetraciclina y Cefoxitina, tiene resistencia intermedia a la Levofloxacina, con un control de crecimiento de 278 UFC, para la solución 1 mostro crecimiento bacteriano de 1.66 UFC para la 1H; para la 2H, 3H y 4H el crecimiento fue de 0 UFC, pero en la solución 2 el crecimiento fue de 1.33 UFC a la 1H y 1.00 UFC a la 2H, sin embargo a la 3H y 4H no hubo crecimiento. *S.aureus* 3 tiene una resistencia a la Cefoxitina, Oxacilina, Vancomicina y Tetraciclina; resistencia intermedia a la Nitrofurantoina, con un control de crecimiento de 227UFC, para la solución 1 mostro crecimiento bacteriano de 34UFC para la 1H; para la 2H, 3H y 4H el crecimiento fue de 0UFC, en la solución 2 el crecimiento fue de 26.6 UFC a la 1H y a la 2H, 3H y 4H no hubo crecimiento. *S. aureus* 4 no mostros crecimiento en ninguna de las horas estipuladas, con ninguna de las dos soluciones, tuvo un control de crecimiento de 179.3 UFC, y tiene resistencia a la Oxacilina, Eritromicina, Clindamicina, Quinopristina/Dalfoprisitna, Teiclopanina, Vancomicina, Nitrofurantoina y Rimfapicina.

S. epidermidis 1 tiene una resistencia a la Oxacilina y Eritromicina, con un control de crecimiento 10^3 de 54UFC, en la solución 1 no mostro crecimiento bacteriano

en ninguna de las 4H, pero en la solución 2 mostro crecimiento a la 1H de 0.33UFC, en la 2H, 3H y 4H, no hubo crecimiento de bacterias. *S. epidermidis* 2 con un control de 60UFC, no tuvo crecimiento bacteriano en las 4H para ninguna de las dos soluciones; tiene una resistencia a la Gentamicina, Ciprofloxacina, Eritromicina y Tetraciclina. *S. epidermidis* 3 con un control de 87.3 UFC, tiene una resistencia a la Oxacilina, Eritromicina, Clindamicina y Teicoplanina; resistencia intermedia a la Tetraciclina, en la solución 1 el crecimiento bacteriano para las 4H fue de 0UFC, pero para la solución 2 el crecimiento de la 1H fue de 1.6 UFC, 2H 7.6 UFC, 3H 10.6 UFC y para la 4H fue 0 UFC. *S. epidermidis* 4 no tuvo crecimiento en ninguna de las dos soluciones sobre las horas estipuladas, con un control de crecimiento de 67.3 UFC, tiene resistencia intermedia a la Eritromicina. Los resultados evidenciaron, que el crecimiento bacteriano está ligado a la resistencia de cada bacteria, de igual manera a la capacidad de crecimiento de esta misma.

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE LAS SOLUCIONES MULTIPROPOSITO FRENTE A LAS CEPAS DE *S. AUREUS* Y *S. EPIDEMIDIS*

De acuerdo con estudios previos⁴²⁻⁴³⁻⁴⁴, una de las hipótesis fue que los aislados clínicamente serían más resistentes que las cepas de laboratorio. Dentro de los estudios realizados desde Artini Marco⁴⁰ a Hume EB⁴² se probó la actividad antibacteriana de soluciones multipropósito disponibles comercialmente siguiendo el estándar 14729, utilizando cepas ATCC. En el presente estudio, la prueba se realizó con bacterias aisladas de la microbiota conjuntival normal, mostrando diferencias en la susceptibilidad de las dos soluciones multipropósito, pero cumpliendo con el criterio para ser una solución desinfectante, de acuerdo a la norma ISO 14729, igual que las cepas ATCC.

La solución multipropósito 1, contiene solución isotónica estéril, con Poloxamer 407, Carbonilamida, agentes lubricantes y ácido bórico, preservado con EDTA y Polyhexamethylenebiguanida; esta solución mostro tener más eficacia en las primeras horas, para la reducción del crecimiento bacteriano. En *S. aureus* 1 y *S. aureus* 4, *S. epidermidis* 1, *S. epidermidis* 2, *S. epidermidis* 3, *S. epidermidis* 4, no

mostro tener crecimiento en ninguna de las 4 horas; en cambio *S. aureus* 2 mostro tener crecimiento a 1H de 1.66 UFC y *S. aureus* 3 mostro tener crecimiento a 1H de 34 UFC. La solución multipropósito 2 contiene solución isotónica estéril con 4 agentes humectantes, contiene povidona (polivinilpirrolidona), preservado con EDTA y Polyhexamethylenebiguanida. En el *S. aureus* 1, *S. aureus* 4, *S.epidermidis* 2, *S.epidermidis* 4 no mostro tener crecimiento en ninguna de las 4 horas; para *S. epidermidis* 1 se obtuvo 0.33 UFC a la 1H, *S. aureus* 2 en la 1h obtuvo 1.33 UFC y a la 2H 1.00UFC. Es importante que las soluciones tengan un antimicrobiano de alto espectro, ya que las bacterias con el uso inadecuado de los antibióticos van formando su propia resistencia, y los usuarios de lentes de contacto que no tengan una buena asepsia son propensos a tener alguna infección ocular, y dañar la integridad de sus ojos.

De acuerdo con los resultados, aunque hubo presencia de bacterias en las horas estipuladas, la norma dice que la solución es efectiva, si a las 4H no hay UFC, esta es efectiva. Esto coincide con resultados de estudios anteriores, como Myriam Teresa Mayorga y Claudia Marcela Parra ²³, donde fue analizada una solución compuesta por PHMB al 0,001% que presento 100% de eliminación en el tiempo 0 y en el tiempo recomendado por el fabricante (4 ó 6 horas); por otro lado en el estudio realizado por Fernando Ballesteros y Martha Fabiola ⁴⁷ se evaluó la solución Multisolution OXI y la solución Multisolution PLUS que contienen PHMB, frente a especies de bacterias y hongos que más se relacionan con patología ocular (*Stafilococcus aureus*, *S. Epidermidis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomona aeruginosa*, *E. Coli*, *Candida albicans* y *Fusari solani*) por el uso de LC. En las pruebas antimicrobianas se observó una gran capacidad bactericida de la Multisolución OXI y Multisolution PLUS, al comprobar la reducción de más de 5 log de UFC de bacterias para pruebas con *Stafilococcus aureus*, *S. Epidermidis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomona aeruginosa*, *E. coli* y en la reducción de al menos 1.0 log para los hongos *candida* y *Fusarium*. La evaluación de la actividad antimicrobiana de la dos soluciones multipropósitos comercializadas en Colombia, reducen, en el tiempo sugerido por el fabricante, en más de 3.0 log las UFC de cada una de las cepas bacterianas con un promedio de reducción logarítmica para

las dos bacterias mayor de 5.0 como lo exige la norma ISO 14729, que corresponde a una reducción mayor al 99.9 % de las bacterias en el reto. Los estudios de la actividad antimicrobiana con otras SMP que tiene PHMB como agente antimicrobiano cumplen con el criterio primario de la norma ISO 14729.

CONCLUSIONES

1. De acuerdo a la norma ISO 14729, las dos SMP cumplen el criterio para ser una solución desinfectante con un promedio de reducción \log_{10} de las UFC mayor de 3,0 en las cepas de *S. aureus* y *S. epidermidis* aisladas de la microbiota conjuntival.
2. Es importante que las SMP cumplan con los criterios debido a que la mala asepsia de los usuarios de lentes de contacto están propensos a alguna infección.

BIBLIOGRAFIA

1. Miller D. Update on the Epidemiology and Antibiotic Resistance of Ocular Infections. *Middle East African Journal Of Ophthalmology*, October 25, 2017; 24(1): 30-42.
2. Hernández P, Quintero G. Etiología bacteriana de infecciones oculares externas. *Nova-Publicación Científica*. 2003; 1(1):1-16.
3. Evans, D. J., McNamara, N. a, & Fleiszig, S. M. J. Life at the front: dissecting bacterial-host interactions at the ocular surface. *The Ocular Surface*, (2007); 5(3), 213–27.
4. Meek, B. The ocular humoral immune response in health and disease. *Progress in Retinal and Eye Research*, (2003); 22(3), 391–415.
5. Dong, Q., Brulc, J. M., Iovieno, A., Bates, B., Garoutte, A., Miller, D., ... Shestopalov, V. I. Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, (2011); 52(8), 5408–5413.
6. Hsu, H. Y., Lind, J. T., Tseng, L., & Miller, D. Ocular flora and their antibiotic resistance patterns in the midwest: A prospective study of patients undergoing cataract surgery. *American Journal of Ophthalmology*, (2013); 155(1), 36–44.
7. Martin, V., Jaimes, V., & Rodríguez, M. F. Caracterización de la microbiota conjuntival transitoria y residente de adultos jóvenes. *Revista Ciencia Y Tecnología Para La Salud Visual Y Ocular*, (2017); 15(1), 10–15.
8. Sthapit, P., & Tuladhar, N. Conjunctival Flora of Normal Human Eye. *JSM Ophthalmology*, (2014); 2(2), 1021–1026
9. Willcox, M. D. P. Characterization of the normal microbiota of the ocular surface. *Experimental Eye Research*, (2013); 117, 99–105.

10. Lu, L. J., & Liu, J. Human Microbiota and Ophthalmic Disease. *The Yale Journal of Biology and Medicine*. (2016); 89(3), 325–330.
11. Hernández P, Quintero G, Mesa D, Molano L, Hurtado P. Prevalencia de *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* en pacientes con conjuntivitis. *Universitas Scientiarum*. 2005; 10 (2):47-54.
12. Dong, Q., Brulc, J. M., Iovieno, A., Bates, B., Garoutte, A., Miller, D., ... Shestopalov, V. I. Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, (2011); 52(8), 5408–5413.
13. Matsen, F. A. Phylogenetics and the human microbiome. *Systematic Biology*, (2015); 64(1), e26-41.
14. Morgan, X. C., Segata, N., & Huttenhower, C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends in Genetics*, (2013); 29(1), 51–58.
15. Pachigolla G, Blomquist P, Cavanagh HD. Keratitis pathogens and antibiotic susceptibilities: a 5-year review of cases at an urban county hospital in north Texas. *Eye Contact Lens* (2007); 33: 45–49.
16. Bharathi, M. J., Ramakrishnan, R., Shivakumar, C., Meenakshi, R., & Lionalraj, D. Etiology and antibacterial susceptibility pattern of community-acquired bacterial ocular infections in a tertiary eye care hospital in south India. *Indian Journal of Ophthalmology*, (2010); 58(6), 497–507.
17. Cavuoto, K., Zutshi, D., Karp, C. L., Miller, D., & Feuer, W. Update on Bacterial Conjunctivitis in South Florida. *Ophthalmology*, (2008); 115(1), 51–56.
18. Hsu, J., Gerstenblith, A. T., Garg, S. J., & Vander, J. F. Conjunctival flora antibiotic resistance patterns after serial intravitreal injections without postinjection topical antibiotics. *American Journal of Ophthalmology*, (2014); 157(3), 514–518.e1.
19. Wu YT, Willcox M, Zhu H, Stapleton F. Contact Lens & Anterior Eye Contact lens hygiene compliance and lens case contamination: A review. *Contact Lens Anterior Eye*. (2015); 38(5):307–16.

20. Borazjani, R. N., Levy, B., & Ahearn, D. G. Relative primary adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* and *Staphylococcus aureus* to HEMA-type contact lenses and an extended wear silicone hydrogel contact lens of high oxygen permeability. *Contact Lens and Anterior Eye*, (2004); 27(1), 3–8.
21. Furuhashi, K., Ishizaki, N., Kawakami, Y., & Fukuyama, M. Bacterial contamination of stock solutions in storage cases for contact lens, and the disinfectant-resistance of isolates. *Biocontrol Science*. (2010).
22. Rasoulinejad, S. A., Sadeghi, M., Montazeri, M., Hedayati Goudarzi, H., Montazeri, M., & Akbarian, N. Clinical Presentation and Microbial Analyses of Contact Lens Keratitis; an Epidemiologic Study. *Emergency (Tehran, Iran)*, (2014); 2(4), 174–7.
23. Mayorga M, Parra M. Efecto antimicrobiano in vitro de cinco soluciones multipropósito para lentes blandos contra *Cándida albicans* y *Aspergillus fumigatus*. *Ciencia y tecnología para la salud visual* 2009; 7(1)
24. Santos, L., Oliveira, R., Oliveira, M. E. C. D. R., & Azeredo, J. Lens material and formulation of multipurpose solutions affects contact lens disinfection. *Contact Lens and Anterior Eye*, (2011); 34(4), 179–182.
25. Pinto-fraga, J., Blázquez, F., Urbano, R., & González-garcía, M. J. Evaluation of safety and efficacy of a new multipurpose disinfecting solution on silicone hydrogel contact lenses &. *Journal of Optometry*, (2015); 8(1), 40–47.
26. Efron, N. *Contact Lenses A-Z*. Elsevier Science. Butterworth-Heinemann. Philadelphia 2002.
27. Boost M, Lai S, Ma C, Cho P. Do multipurpose contact lens disinfecting solutions work effectively against non-FDA/ISO recommended strains of bacteria and fungi? *Ophthalmic & Physiological Optics* [serial on the Internet]. (2010); 30(1): 12-19
28. Szczotka-Flynn, L., Ahearn, D. G., Barr, J., Benjamin, W. J., Kiang, T., Nichols, J. J, Winterton, L. History, evolution, and evolving standards of

- contact lens care. *Contact Lens and Anterior Eye*, 36(SUPPL.), (2013). 4–S8.
29. González-Méijome, J. M., da Silva, A. C., Faria-Ribeiro, M., Lopes-Ferreira, D., & Peixoto-de-Matos, S. C. Multi-site clinical assessment of Complete Revitalens MPDS in 2981 contact lens wearers across Europe and USA. *Contact Lens and Anterior Eye*, (2013). 36(6), 289–293.
 30. Jones, L., & Christie, C. Soft Contact Lens Solutions Review: Part 2: *Optometry in Practice*, (2008). 9, 43–62.
 31. Bausch & Lomb incorporated One Bausch & Lomb Place Rochester, Agente de limpieza de lentes de contacto que contiene biguanida, tiloxapol y una poloxamina, 2004 Rochester, New York 14604-2701, US.
 32. Lyndon Jones, Michelle Senchyna PhD Soft Contact Lens Solutions Review Part 1: Components of Modern Care Regimens, *Optometry in Practice Vol 8* (2007) 45–56
 33. De Paula, G. F., Netto, G. I., & Mattoso, L. H. C. Physical and chemical characterization of poly(hexamethylene biguanide) hydrochloride. *Polymers*, (2011). 3(2), 928–941.
 34. Llorens, E., Calderón, S., Del Valle, L. J., & Puiggali, J. Polybiguanide (PHMB) loaded in PLA scaffolds displaying high hydrophobic, biocompatibility and antibacterial properties. *Materials Science and Engineering C*, (2015). 50, 74–84.
 35. Wessels, S., & Ingmer, H. Modes of action of three disinfectant active substances: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, (2013). 67(3), 456–467.
 36. Cope, J. R., Collier, S. A., Rao, M. M., Chalmers, R., Mitchell, G. L., Richdale, K., ... Beach, M. J. Contact Lens Wearer Demographics and Risk Behaviors for Contact Lens-Related Eye Infections--United States, 2014. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, (2015). 64(32), 865–70.
 37. ISO 14729: Ophthalmic optics -- Contact lens care products -- Microbiological requirements and test methods for products and regimens for hygienic management of contact lenses,(2001).

38. Fernando Ballesteros, Mary Fuentes, Biocompatibilidad de la solución multipropósito oxi con la superficie ocular, tinción corneal: lentes de contacto de hidrogel de silicona y soluciones multipropósito, Julio de 2016.
39. Siddiqui, R., Lakhundi, S., & Khan, N. A. Status of the effectiveness of contact lens solutions against keratitis-causing pathogens. *Contact Lens and Anterior Eye*, (2015),38(1), 34–38.
40. Artini, Marco Ph.D., M.D.; Cellini, Andrea; Scoarughi, Gian Luca Ph.D.; Papa, Rosanna Ph.D.; Tilotta, Marco; Palma, Stefano M.D.; Selan, Laura, Evaluation of Contact Lens Multipurpose Solutions on Bacterial Biofilm Development, (May 2015),41(3),177–182
41. Mohammadinia, M., Rahmani, S., Eslami, G., Ghassemi-Broumand, M., Aghazadh Amiri, M., Aghaie, G. Behgozin, A. Contact lens disinfecting solutions antibacterial efficacy: comparison between clinical isolates and the standard ISO ATCC strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Eye*, (2012), 26(2), 327–330
42. Hume EB, Flanagan J, Masoudi S, Zhu H, Cole N, Willcox MD. Soft contact lens disinfection solution efficacy: clinical *Fusarium* isolates vs. ATCC 36031. *Optom Vis Sci*. 2009 May;86(5):415-9
43. Hume EB, Zhu H, Cole N, Huynh C, Lam S, Willcox MD. Efficacy of contact lens multipurpose solutions against *Serratia marcescens*. *Optom Vis Sci*. 2007 Apr;84(4):316-20.
44. Groemminger SF, Norton S. Testing multi-purpose lens care solutions against *Staphylococcus aureus* *Contact Lens Spectrum* (2007).
45. Imamura Y, Chandra J, Mukherjee PK, Lattif AA, Szczotka-Flynn LB, Pearlman E, et al. *Fusarium* and *Candida albicans* biofilms on soft contact lenses: model development, influence of lens type, and susceptibility to lens care solutions. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52:171–182.
46. Kilvington, S., Huang, L., Kao, E., & Powell, C. H. Development of a new contact lens multipurpose solution: Comparative analysis of microbiological, biological and clinical performance. *Journal of Optometry*, 2010 3(3), 134–142.

47. Ballesteros F, Rodríguez MF, Evaluación del desempeño y confort de las soluciones multipropósito, Franja Visual, 2017.