

УДК: 617.713-002+617.7-76

Биоцидная эффективность многофункциональных растворов в отношении грамотрицательных организмов, провоцирующих образование инфильтратов роговицы

М. Дж. Ра,

д-р филос., д-р оптометр.,
сотрудник подразделения
контактной коррекции зрения
компании Bausch & Lomb Inc.
(Рочестер, США)

Д. Каллахан,

сотрудник подразделения
контактной коррекции зрения
компании Bausch & Lomb Inc.
(Рочестер, США)

К. Ковакс,

сотрудник подразделения
контактной коррекции зрения
компании Bausch & Lomb Inc.
(Рочестер, США)

Ш. Линч,

сотрудник подразделения
контактной коррекции зрения
компании Bausch & Lomb Inc.
(Рочестер, США)

Перевод: Е. А. Перфильева

Статья опубликована в журнале
Clinical and Experimental Optometry
(2017. Vol. 100, N 4. P. 357–364).
Перевод печатается с разрешения
правообладателя – компании
Bausch & Lomb Inc.

Аннотация

Актуальность. Причиной образования инфильтратов роговицы (ИР) могут стать бактерии на поверхности контактных линз, попавшие туда из загрязненного контейнера. В исследовании оценивается биоцидная эффективность пяти многофункциональных растворов (МФР) по отношению к грамотрицательным бактериям, которые могут вызывать появление ИР.

Методы. Тестируемые многофункциональные растворы содержат следующие комбинации дезинфектантов: полигексаметиленбигуанид (PHMB) и поликватерниум-1 (PQ-1; Bausch & Lomb Inc.: Biotrue), дигидрохлорид алексидина (алексидин) и PQ-1 (AMO: RevitaLens OcuTec), PQ-1 и мистриамидопропилдиметиламин (MAPD; Alcon: Opti-Free PureMoist, PQ-1/MAPD-1; Opti-Free RepleniSH, PQ-1/MAPD-2; Opti-Free Express, PQ-1/MAPD-3). Объектом исследования явились следующие бактерии, провоцирующие образование ИР: *Achromobacter xylosoxidans*, *Delftia acidovorans* и *Stenotrophomonas maltophilia*. Были исследованы контейнеры, наполненные МФР (до 7 дней), а также контейнеры, наполненные МФР, куда на 30 дней помещали контактные линзы из материала этафилкон А. Время дезинфекции соответствовало указанному производителями растворов. Результаты. В исследовании контейнеров для линз эффективность МФР, содержащих комбинации PHMB/PQ-1 и алексидин/PQ-1, была достоверно выше, чем МФР с комбинацией PQ-1/MAPD: *A. xylosoxidans* (все $p \leq 0,01$), *D. acidovorans* (все $p \leq 0,001$) и *S. maltophilia* (все $p \leq 0,05$). Оценка контейнеров при использовании растворов с сочетаниями PHMB/PQ-1 и алексидин/PQ-1 показала высокие результаты дезинфекции: снижение количества указанных микроорганизмов на более чем 3 лог. ед. за рекомендованное производителями время. Для аналогичного результата (более 3 лог. ед.) МФР с PQ-1/MAPD-1 требовалось 24 ч для *D. acidovorans*, с PQ-1/MAPD-1 и PQ-1/MAPD-3 – 7 дней для всех организмов. В контейнерах с линзами де-

зинфекция МФР с комбинациями РНМВ/PQ-1 и алексидин/PQ-1 обеспечила снижение количества патогенных бактерий более чем на 3 лог. ед. за указанное производителями время. Сопоставимого результата растворы с PQ-1/MAPD-1 и PQ-1/MAPD-3 достигли за 7 или более дней. Эффективность МФР с PQ-1/MAPD-2 не превысила 3 лог. ед. за все время исследования.

Выводы. Многофункциональные растворы на основе РНМВ и алексидина продемонстрировали более высокую биоцидную активность в отношении микроорганизмов, провоцирующих образование ИР, по сравнению с МФР, содержащими PQ-1/MAPD.

Ключевые слова: грамотрицательные микроорганизмы, многофункциональные растворы, миристамидпропилдиметиламин, полигексаметиленбигуанид

Введение

Инфильтраты роговицы (ИР) возникают в результате реакции отдельных иммунных клеток или нескольких кластеров (в первую очередь нейтрофилов, а также лимфоцитов и макрофагов), которые мигрируют из лимбальной сосудистой сети к роговице [1, 2]

Инфильтраты при ношении контактных линз могут быть небольшими – точечными, с бессимптомным течением, могут отмечаться поражения периферических участков роговицы, возможно образование стромальных язв в центральной зоне, которые сопровождаются болью и снижением остроты зрения [3]. Как бессимптомные, так и с проявлением клинической симптоматики, ИР влекут за собой затраты: в США в 2010 году был выявлен 32 031 случай инфильтратов роговицы при ношении контактных линз с нетяжелым течением (до 8 баллов из 10 по шкале симптомов и признаков Аасури (Aasuri), Венкаты (Venkata) и Кумара (Kumar); [6]) и 17 248 случаев с тяжелым клиническим течением (более 8 баллов из 10 по вышеназванной шкале [6]), общие затраты на их диагностику и лечение составили 58 млн долл. США [5, 6]. При появлении симптоматики пациент терпит неудобства: он вынужден временно отказаться от ношения контактных линз, посетить оптометриста, офтальмолога или и/или обратиться в отделение неотложной помощи в ущерб рабочему времени [5].

Некоторые факторы способствуют увеличению риска возникновения ИР, включая мужскую пол [7, 8], аметропии 5,00 дптр или более [3], плохую гигиену рук [9], наличие неоваскуляризации роговицы [10], курение [8,

11], возраст до 25 лет или старше 50 лет [3, 10], ночной сон в контактных линзах [3, 8, 9, 11, 12], ношение контактных линз шесть и более дней в неделю [9, 12], а также адгезию бактерий на поверхности контактных линз (био-пленки) [8, 12–15]. Эти факторы риска неоднократно показывали высокую степень корреляции с ИР.

Исследования показывают, что источниками контаминации линз могут быть контейнеры, при этом линза выступает переносчиком бактерий из контейнера на глазную поверхность [16–19]. В недавнем обзоре литературы (11 исследований за последние два десятилетия) есть данные об обнаружении био-пленок в контейнерах для линз в 24–81% случаев [17].

Биопленка – это защитная среда для бактерий, которая служит им связующим звеном с поверхностью контейнера и усиливает их устойчивость к действию антибиотиков и антисептиков. Наличие биопленки также является частой причиной недостаточно эффективной защиты поверхности контейнера для линз с помощью растворов [17, 18]. После формирования биопленки в ячейке контейнера проявляется невосприимчивость к биоцидному действию растворов для контактных линз, что может привести к возникновению на линзе колоний резистентных бактерий, которые затем могут попасть на глазную поверхность [1, 2]. В частности, биопленки склонны образовывать следующие грамотрицательные бактерии: *Delftia*, *Stenotrophomonas* и *Achromobacter* [18]. Оценка контейнеров для линз пациентов с ИР с помощью секвестрации гена 16S рибосомной РНК бактерий позволила обнаружить в контейнерах *Delft-*

Таблица 1

Многофункциональные растворы, выбранные для оценки биоцидной активности [23–27]

Раствор (название, производитель)	Состав	Время дезинфекции, рекомендуемое производителями, ч
PHMB*/PQ-1 (Biotrue, Bausch + Lomb)	Гиалуронат, сульфобетаин, полоксамин, борная кислота, борат натрия, натрия эдедат, хлорид натрия, двойная система дезинфекции: полиаминопропилбигуанид* 0,00013 % и поликватерниум 0,0001 %	4
Алексидин/PQ-1 (RevitaLens OcuTec, Abbott Medical Optics)	Алексидина дигидрохлорид 0,00016 % и поликватерниум-1 0,0003 %, борная кислота, борат натрия декагидрат, тетроник 904, динатрия эдедат, тринатрия цитрата дегидрат, хлорид натрия, очищенная вода	6
PQ-1/MAPD-1 (Opti-Free PureMoist, Alcon)	Цитрат натрия, хлорид натрия, борная кислота, сорбитол аминотетрапропанол, ЭДТА, два увлажняющих компонента [тетроник 1304 и увлажняющая матрица Hydraglyde (ЕОВА-41 – полиоксиэтилен-полиоксипропилен)], «Поликвад» (поликватерниум-1) 0,001 % и «Алдокс» (миристамидопропилдиметиламин) 0,0006 %	6
PQ-1/MAPD-2 (Opti-Free Replenish, Alcon)	Цитрат натрия, хлорид натрия, борат натрия, пропиленгликоль, увлажняющая система «Тетраглайд» (тетроник 1304), ЭДТА, «Поликвад» (поликватерниум-1) 0,001 % и «Алдокс» (миристамидопропилдиметиламин) 0,0005 %	6
PQ-1/MAPD-3 (Opti-Free Epress, Alcon)	Цитрат натрия, хлорид натрия, борная кислота, сорбитол, аминотетрапропанол, тетроник 1304, динатрия эдедат 0,05 %, «Поликвад» (поликватерниум-1) 0,001 % и «Алдокс» (миристамидопропилдиметиламин) 0,0005 %	6

* Дезинфектант полиаминопропилбигуанид является вариантом соединения полигексаметиленбигуанида (PHMB).

ia, *Stenotrophomonas* и *Achromobacter* в значительных количествах, в отличие от пациентов контрольной группы [18].

Ряд исследований показывает, что грамотрицательные изоляты демонстрируют устойчивость к действию многофункциональных растворов (МФР) с комбинацией поликватерниум-1 (polyquaternium-1 – PQ-1) / миристамидопропилдиметиламин (myristamidopropyl dimethylamine – MAPD) [20–22]. Первой работой, где было отмечено данное явление, было исследование Уилкокса (Willcox) и соавт. [22], в котором они использовали раствор с комбинацией PQ-1/MAPD. Также сравнивали МФР с комбинациями PQ-1/MAPD (PQ-1/MAPD-1, -2 и -3; табл. 1), МФР с полигексаметиленбигуанидом (polyhexamethylene biguanide – PHMB) и пероксидную систему. В результате было выявлено, что при использовании раствора с PQ-1/MAPD-2 уровень КОЕ грамотрицательных бактерий (*D. acidovorans*, *Stenotrophomonas maltophilia* и *Achromobacter* группы А) был значительно выше, чем в случае применения любого другого раствора [22].

Многофункциональные растворы должны уменьшать вероятность микробной контаминации глазной поверхности и эффективны в том случае, если удастся снизить передачу бактериальной флоры из контейнера через

линзы. В данном исследовании проводится оценка биоцидной эффективности различных МФР против трех грамотрицательных штаммов бактерий, которые вызывают образование ИР и могут обнаруживаться на контактных линзах и контейнерах для линз. Для оценки используются методы, принятые международным стандартом ИСО 14729.

Методы

Материалы

Многофункциональные растворы. Были протестированы растворы с тремя комбинациями дезинфектантов: PHMB и PQ-1 (Bausch + Lomb: Biotrue), дигидрохлорид алексидина (алексидин) и PQ-1 (АМО: RevitaLens OcuTec) и три варианта на основе комбинации PQ-1/MAPD (Alcon: Opti-Free PureMoist, PQ-1/MAPD-1; Opti-Free RepleniSH, PQ-1/MAPD-2; Opti-Free Epress, PQ-1/MAPD-3; см. табл. 1).

Штаммы бактерий. Для проведения тестов по стандарту stand-alone и изучения эффективности МФР в контейнере с линзами и без линз использовались штаммы бактерий, которые определяются у носителей мягких контактных линз (МКЛ) с инфильтратами роговицы: *Achromobacter xylosoxidans* (ATCC 27061), *Delftia acidovorans* (ATCC

17438) и *Stenotrophomonas maltophilia* (клинический изолят) [18]. Выделение и подготовка культур производились в соответствии с ISO 14729; использовалась питательная среда, рекомендованная стандартами ISO [28].

Контейнеры для контактных линз. В исследовании были использованы контейнеры, которые прилагаются производителем к многофункциональному раствору.

Контактные линзы. Контактные линзы для дневного ношения из материала этафилкон А (Johnson & Johnson Vision Care, Джексонвилл, Флорида, США) демонстрируют эквивалентную абсорбцию РНМВ и MAPD [29], что позволило использовать их для исследования биоцидной эффективности РНМВ и MAPD в отношении указанных выше микроорганизмов.

Измерения

Оценка биоцидной эффективности МФР. В качестве стандарта измерений для оценки биоцидной эффективности пяти многофункциональных растворов против трех штаммов грамотрицательных бактерий (*A. xylosoxidans*, *D. acidovorans* и *S. maltophilia*) использовался ISO 14729 (снижение количества бактерий на 3 лог. ед. и более). Исследуемые организмы выращивались на 10%-й питательной среде до достижения концентрации приблизительно $5,0 \times 10^5$ КОЕ/мл. Эффективность растворов оценивалась с учетом времени, рекомендованного производителем: использование комбинаций РНМВ/PQ-1 и алексидин/PQ-1 в течение 4 ч, а PQ-1/MAPD-1, PQ-1/MAPD-2, PQ-1/MAPD-3 – в течение 6 ч [23–27].

Оценка биоцидной эффективности МФР в контейнере для линз. Оценка биоцидной эффективности каждого МФР в отношении трех штаммов производилась в пластиковых контейнерах для линз, которые прилагались к растворам. В ячейки контейнера заливали 3 мл раствора, добавляли культуры *A. xylosoxidans*, *D. acidovorans* или *S. maltophilia*, выращенные на 10%-й питательной среде в концентрации $5,0 \times 10^5$ КОЕ/мл. Затем через 4, 6 и 24 ч из контейнеров брали образцы растворов по 1 мл, производили нейтрализацию с помощью среды Dey Engley (Remel, подразделение Thermo Fisher Scientific, Ленекса, Кан-

зас, США) и помещали образец на триптический соевый агар (Becton, Dickinson and Company, Спаркс, Мэриленд, США). Также оценку производили через 7 дней, за которые могут развиваться новые колонии. Количество выживших микроорганизмов было подсчитано, и сокращение числа колоний по сравнению с контрольным образцом было представлено в логарифмических единицах. Три образца каждого раствора тестировались трижды в разные дни.

Оценка биоцидной эффективности МФР в контейнере с контактными линзами. Использование контактных линз из материала этафилкон А для исследований основано на стандарте ISO 18259 [3]. Линзы помещали в полипропиленовые контейнеры, прилагавшиеся к МФР, куда добавляли по 0,1 мл изолятов с концентрацией $5,0 \times 10^5$ КОЕ / мл *A. xylosoxidans*, *D. acidovorans* или *S. maltophilia*, выращенных на 10%-й питательной среде. Контейнеры с линзами оставляли на 5–10 мин. Во время каждого эксперимента была задействована только одна ячейка контейнера (оценка через 4, 6 и 24 ч, 7 и 30 дней). Каждый контейнер был заполнен 3 мл МФР соответствующих производителей. Линзы были полностью погружены в раствор, контейнеры закрыты, чтобы избежать контаминации микроорганизмами из внешней среды. В указанное время контейнер встряхивали, линзы извлекали и брали образец раствора (1 мл) для исследования. Нейтрализация дезинфектантов производилась с помощью среды Dey Engley, для посева использовали триптический соевый агар. Количество выживших микроорганизмов подсчитывалось, и сокращение числа колоний по сравнению с контрольным образцом переводилось в логарифмические единицы. Все опыты повторяли трижды.

Расчеты и статистический анализ

Эффективность дезинфекции в логарифмических единицах рассчитывалась путем подсчета КОЕ, где от исходного значения вычиталось количество в растворе:

$$\begin{aligned} \text{Эффективность дезинфекции, лог. ед.} &= \\ &= \log_{10} (\text{исходное значение КОЕ}) - \\ &\quad - \log_{10} (\text{КОЕ в растворе}). \end{aligned}$$

Таблица 2

Результаты теста stand-alone для оценки эффективности в отношении штаммов бактерий, вызывающих инфильтраты роговицы, лог. ед.

Комбинация дезинфектантов в МФР	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	<i>Delftia acidovorans</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
РНМВ/PQ-1	2,90 ^{1*}	4,60 ^{3*}	3,50 ^{3*}
Алексидин/PQ-1	3,67 ^{2*}	4,80 ^{3*}	5,00 ^{NA}
PQ-1/MAPD-1	0,13	2,97	1,23
PQ-1/MAPD-2	-0,03	1,40	1,33
PQ-1/MAPD-3	0,20	2,93	1,20

Примечания: 1. Для РНМВ/PQ-1 производитель рекомендует для дезинфекции 4 ч, для всех других растворов – 6 ч. 2. Указано статистически значимое значение снижения в логарифмических единицах. 3. NA – для алексидина не было отклонений в результатах, чтобы вычислить среднее значение; отклонение $p \leq 0,05$ по сравнению с PQ-1/MAPD-1, -2, -3. 4. Значение p по сравнению с PQ-1/MAPD-1, -2, -3: ^{1*} – $p \leq 0,001$; ^{2*} – $p \leq 0,01$; ^{3*} – $p \leq 0,05$.

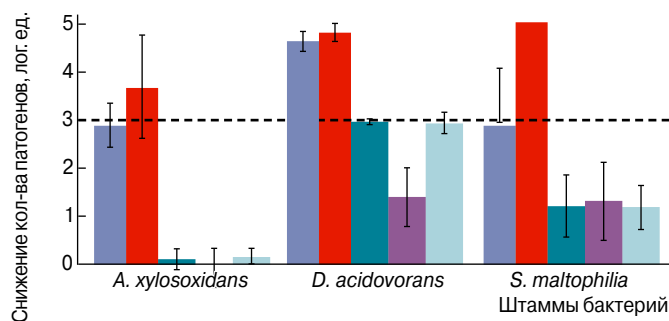


Рис. 1. Грамотрицательные микроорганизмы, способные вызвать появление инфильтратов роговицы, после инкубации в МФР в течение времени, рекомендованного производителем с комбинациями дезинфектантов:

■ – РНМВ/PQ-1; ■ – алексидин/PQ-1; ■ – PQ-1/MAPD-1; ■ – PQ-1/MAPD-2; ■ – PQ-1/MAPD-3

Пунктирной линией отмечен минимальный уровень снижения количества патогенов в логарифмических единицах по стандарту ISO 14729. Для раствора с комбинацией РНМВ/PQ-1 производитель рекомендует для дезинфекции 4 ч, для всех других растворов это время составляет 6 ч

Эффективность дезинфекции в логарифмических единицах для растворов с комбинациями РНМВ/PQ-1, алексидин/PQ-1, с одной стороны, и PQ-1/MAPD – с другой, была сопоставлена с помощью дисперсионного анализа. Статистическая значимость ошибки определялась двусторонним расчетом с допустимым отклонением $p = 0,05$ (допустимая ошибка 1-го порядка).

Результаты

В большинстве случаев в разных условиях и в разные моменты времени растворы с сочетаниями РНМВ/PQ-1 и алексидин/PQ-1 показали большую биоцидную активность по сравнению с тремя комбинациями PQ-1/MAPD. В целом сокращения количества патогенных организмов составило от 4,97 лог. ед. (отсутствие роста бактерий) до -0,87 лог. ед. (отмечался рост колоний).

Оценка эффективности дезинфекции МФР за время, рекомендованное производителем. При оценке эффективности дезинфектантов против грамотрицательных бактерий за время, рекомендованное производителем, при использовании раствора с комбинацией РНМВ/PQ-1 было отмечено сокращение количества *D. acidovorans* и *S. maltophilia* на более чем 3 лог. ед., а *A. xylosoxidans* – на 2,9 лог. ед., раствор с комбинацией алексидин/PQ-1 показал снижение количества всех трех видов микроорганизмов на более чем 3 лог. ед. Биоцидная

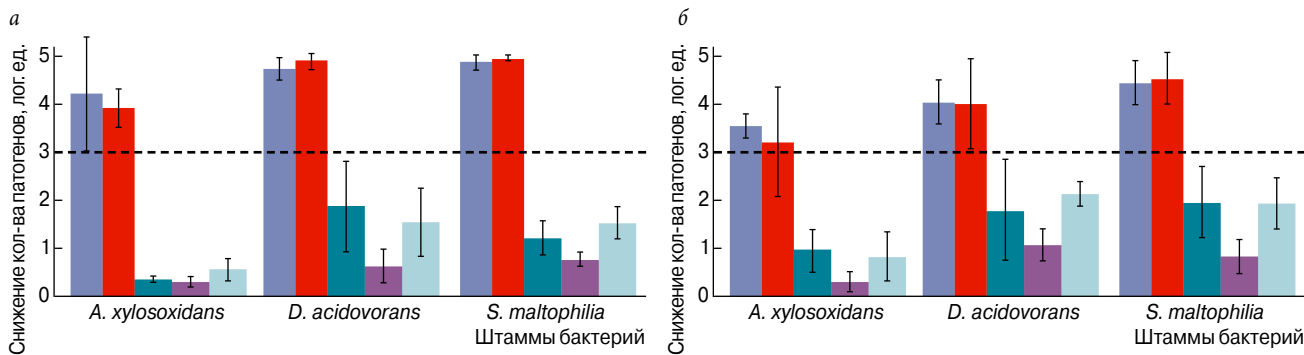


Рис. 2. Снижение количества бактерий *Achromobacter xylosoxidans*, *Delftia acidovorans* и *Stenotrophomonas maltophilia* после инкубации в многофункциональных растворах в контейнерах без линз (а) и с МКЛ из материала этафилкон А (б) в течение времени, рекомендованного производителем, при комбинациях дезинфектантов:

■ – РНМВ/PQ-1; ■ – алексидин/PQ-1; ■ – PQ-1/MAPD-1; ■ – PQ-1/MAPD-2; ■ – PQ-1/MAPD-3

Пунктирной линией отмечен минимальный уровень снижения количества патогенов в логарифмических единицах по стандарту ISO 14729. Для раствора с комбинацией РНМВ/PQ-1 производитель рекомендует для дезинфекции 4 ч, для всех других растворов это время составляет 6 ч

активность разных растворов с PQ-1/MAPD за рекомендованное производителем время оказалась менее 3 лог. ед. для всех штаммов; а в образцах раствора с PQ-1/MAPD-2 был выявлен рост *A. xylosoxidans* (табл. 2 и рис. 1).

Биоцидная эффективность МФР в контейнере для контактных линз за рекомендованное производителем и дополнительное время воздействия. При оценке эффективности действия против грамотрицательных бактерий, способных вызвать ИР, за рекомендованное производителем время снижение количества патогенных микроорганизмов более чем на 3 лог. ед. показали МФР с комбинациями РНМВ/PQ-1 и алексидин/PQ-1. Комбинации PQ-1/MAPD-1, -2, -3 не достигали снижения более чем на 3 лог. ед. ни с одним из штаммов за время, рекомендованное производителем (рис. 2, а и б). За более продолжительное время (24 ч и 7 дней) многофункциональные растворы с РНМВ/PQ-1 и алексидином/PQ-1 показали высокую эффективность – как и за время, рекомендованное производителями, а растворы с PQ 1/MAPD-1 и PQ-1/MAPD-3 продемонстрировали усиление дезинфицирующих свойств по сравнению с МФР с PQ-1/MAPD-2 (табл. 3 и рис. 3).

Биоцидная эффективность МФР в контейнере с контактными линзами за рекомендованное производителем и дополнительное время инкубации. При оценке эффективности многофункциональных растворов по отношению к грамотрицательным микроорганизмам, вызывающим появление ИР, в присутствии в контейнере контактной линзы из материала этафилкон А растворы с РНМВ/PQ-1, равно как и с алексидином/PQ-1, продемонстрировали снижение патогенных бактерий на более чем 3 лог. ед. во все указанные периоды (рис. 4). Единственным исключением было снижение количества *A. xylosoxidans* на 2,73 лог. ед. в растворе с сочетанием алексидин/PQ-1 за 4 ч (дезинфекция осуществлялась меньше рекомендуемого производителем времени). Три раствора с вариантами комбинаций PQ-1/MAPD продемонстрировали более низкую биоцидную эффективность, особенно в начале эксперимента (до 24 ч) (табл. 4).

Таблица 3

Оценка эффективности действия МФР против бактерий, вызывающих появление инфильтратов роговицы, в контейнерах для линз, лог. ед.

Комбинация дезинфектантов в МФР	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	<i>Delftia acidovorans</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Длительность инкубации – 4 ч</i>			
РНМВ/PQ-1	4,23 ^{1*}	4,73 ^{1*}	4,87 ^{3*}
Алексидин/PQ-1	4,50 ^{2*}	4,33 ^{1*}	4,97 ^{3*}
PQ-1/MAPD-1	0,53	1,80	0,93 ^{6*}
PQ-1/MAPD-2	0,40	0,33	0,70
PQ-1/MAPD-3	0,33	1,77	1,07 ^{7*}
<i>Длительность инкубации – 6 ч</i>			
РНМВ/PQ-1	4,93 ^{3*}	4,90 ^{2*}	4,97 ^{2*}
Алексидин/PQ-1	3,93 ^{2*}	4,90 ^{2*}	4,97 ^{2*}
PQ-1/MAPD-1	0,33	1,87	1,20
PQ-1/MAPD-2	0,27	0,60	0,73
PQ-1/MAPD-3	0,53	1,53	1,50 ^{6*}
<i>Длительность инкубации – 24 ч</i>			
РНМВ/PQ-1	4,93 ^{2*}	4,90 ^{8*}	4,97 ^{1*}
Alexidine/PQ-1	4,93 ^{2*}	4,90 ^{8*}	4,97 ^{1*}
PQ-1/MAPD-1	1,70 ^{4*}	3,10 ^{6*}	2,53 ^{6*}
PQ-1/MAPD-2	0,13	0,07	0,67
PQ-1/MAPD-3	1,83 ^{4*}	2,37 ^{4*}	2,47 ^{6*}
<i>Длительность инкубации – 7 дней</i>			
РНМВ/PQ-1	4,93 ^{5*}	4,90 ^{7*}	4,97 ^{5*}
Алексидин/PQ-1	4,93 ^{5*}	4,90 ^{7*}	4,97 ^{5*}
PQ-1/MAPD-1	4,93 ^{5*}	3,83 ^{5*}	4,97 ^{5*}
PQ-1/MAPD-2	-0,1	-0,87	-0,27
PQ-1/MAPD-3	4,93 ^{5*}	4,07 ^{5*}	4,97 ^{5*}
Примечания: 1. Указано статистически значимое значение снижения в логарифмических единицах. 2. Значения p по сравнению с PQ-1/MAPD-1, -2, -3: ^{1*} – p ≤ 0,05; ^{2*} – p ≤ 0,01; ^{3*} – p ≤ 0,001; по сравнению с PQ-1/MAPD-2: ^{4*} – p ≤ 0,01; ^{5*} – p ≤ 0,001; ^{6*} – p ≤ 0,05; по сравнению с PQ-1/MAPD-1, -2: ^{7*} – p ≤ 0,05; по сравнению с PQ-1/MAPD-2, -3; ^{8*} – p ≤ 0,01.			

Обсуждение

Несмотря на то что появляется все больше доказательств того, что ИР у пользователей контактных линз могут возникать в результате реакции на токсины, ферменты и продукты метаболизма бактерий, которые накапливаются на контактных линзах [8, 30], наше понимание роли этих микроорганизмов в процессе образования инфильтратов еще далеко не полное. Микроорганизмы обнаруживаются примерно в 22% случаев у пациентов с ИР [4].

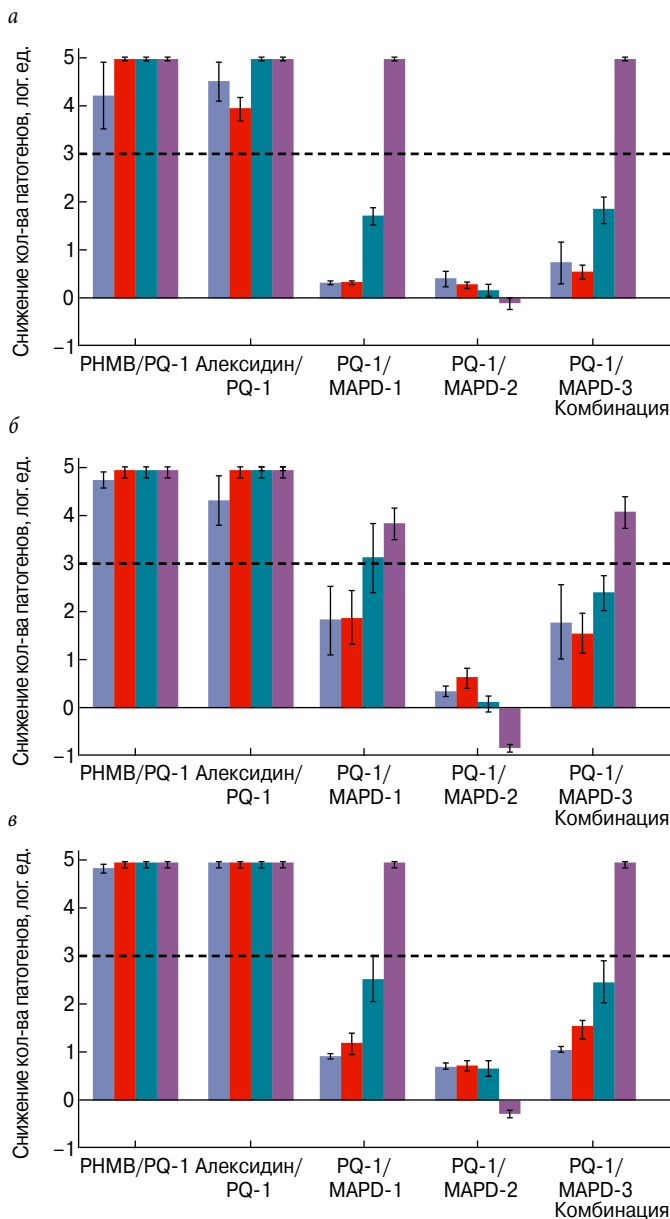


Рис. 3. Снижение количества *Achromobacter xylosoxidans* (а), *Delphi acidovorans* (б) и *Stenotrophomonas maltophilia* (в) после инкубации в многофункциональных растворах в контейнерах для линз в течение разных временных периодов:

■ – 4 ч; ■ – 6 ч; ■ – 24 ч; ■ – 7 дней

Пунктирной линией отмечен минимальный уровень снижения количества патогенов в логарифмических единицах по стандарту ISO 14729

Исследование, проведенное Чуном (Cheung) с коллегами [31], показало, что и *S. maltophilia*, и *D. acidovorans* были устойчивы к многофункциональным растворам с PQ-1/MAPD и менее устойчивы к МФР с RHMB/PQ-1, RHMB, алексидином/PQ-1 или к перок-

сидным системам. Чун и соавт. [31] изучили по три штамма бактерий *S. maltophilia* и *D. acidovorans* и действие на них распространенных МФР и пероксидных систем. Инкубация в растворе с PQ-1/MAPD-2 в течение 6 ч привела к снижению количества *S. maltophilia* на менее чем 1 лог. ед., а по истечении 7 дней – к началу размножения колоний двух других штаммов. Также было отмечено уменьшение количества *D. acidovorans* на менее чем 1 лог. ед. за 24 ч и существенный их рост за период 7–14 дней. Напротив, воздействие растворов с комбинациями алексидин/PQ-1, RHMB/PQ-1, МФР на основе RHMB, а также пероксидных систем в течение 4 ч привело к снижению числа бактерий на 4 лог. ед. и более, без роста колоний до 21 дня. Жизнестойкость исследуемых штаммов и способность реплицироваться в растворах с PQ-1/MAPD, возможно, связаны с образованием биопленок в контейнерах для контактных линз [31].

При оценке эффективности дезинфекции пяти МФР в отношении штаммов *A. xylosoxidans*, *D. acidovorans* и *S. maltophilia* за время, рекомендованное производителями, растворы продемонстрировали разную степень биоцидной активности. Раствор с RHMB/PQ-1 показал уменьшение количества *D. acidovorans* и *S. maltophili* на более чем на 3 лог. ед., а *A. xylosoxidans* – на 2,9 лог. ед. Эффективность действия раствора с алексидином/PQ-1 составила более 3 лог. ед. против всех трех организмов. Ни один из растворов на основе MAPD не показал снижения более 3 лог. ед. Интересно, что растворы с комбинациями RHMB/PQ-1 и алексидин/PQ-1 достигли уровня снижения более 3 лог. ед. за рекомендованное производителями время в отношении всех трех грамотрицательных микроорганизмов, способных вызывать инфильтрацию роговицы, в исследовании контейнеров как без линз, так и с линзами. При этом МФР с MAPD в исследовании контейнеров с линзами и без линз не обеспечили снижения количества патогенных микроорганизмов на 3 лог. ед. или более за указанное производителями время (см. табл. 3 и 4).

За более длительный период исследования (24 ч или больше) – до 7 дней для контейнера без линз и до 30 дней для контейнера с лин-

зами – растворы с РНМВ/РQ-1 и алексидином/РQ-1 показали снижению на более чем 3 лог. ед. для каждого штамма в любое указанное в эксперименте время. Несмотря на способность материала этафилкон А абсорбировать как РНМВ, так и MAPD, результаты этого исследования показали, что общая биоцидная активность растворов значительно не отличалась в оценке эффекта в контейнере с линзами и без линз. Однако раствор с алексидином/РQ-1 показал более низкий уровень биоцидной активности в отношении *A. xylosoxidans* за 4 ч, хотя затем достиг снижения их количества на более чем 3 лог. ед. за 6 ч, то есть за время, рекомендованное производителем. Замедление реакции может быть обусловлено задержкой дезинфектанта материалом контактной линзы, что отмечалось в других исследованиях [32].

Все тестируемые растворы содержат дезинфектант РQ-1 в разных концентрациях: 0,001 % (все три варианта состава РQ-1/MAPD) или ниже (алексидин/РQ-1 – 0,0003 %, РНМВ/РQ-1 – 0,0001 %; см. табл. 1), и это позволяет предположить, что биоцидная эффективность связана с другими дезинфектантами, входящими в МФР [32]. Многофункциональные растворы с РНМВ и алексидином демонстрируют более высокую биоцидную эффективность по сравнению с растворами с MAPD, особенно в отношении грамотрицательных бактерий, способных вызвать появление инфильтратов роговицы: *A. xylosoxidans*, *D. acidovorans* и *S. maltophilia*. Низкая биоцидная эффективность МФР на основе MAPD относительно указанных микроорганизмов, вследствие чего требуется более длительная выдержка в растворе, позволяет предположить устойчивость исследуемых штаммов к данному дезинфектанту.

В настоящем исследовании не учитывалось, что пациенты могут многократно использовать раствор в контейнере, помещая туда линзы, а также могут при этом долить свежий раствор к тому, что уже есть в контейнере, а это может способствовать увеличению количества микроорганизмов. Из-за методики проведения нашего исследования (оно было количественное) также нельзя исключить вероятность того, что контейнеры, предло-

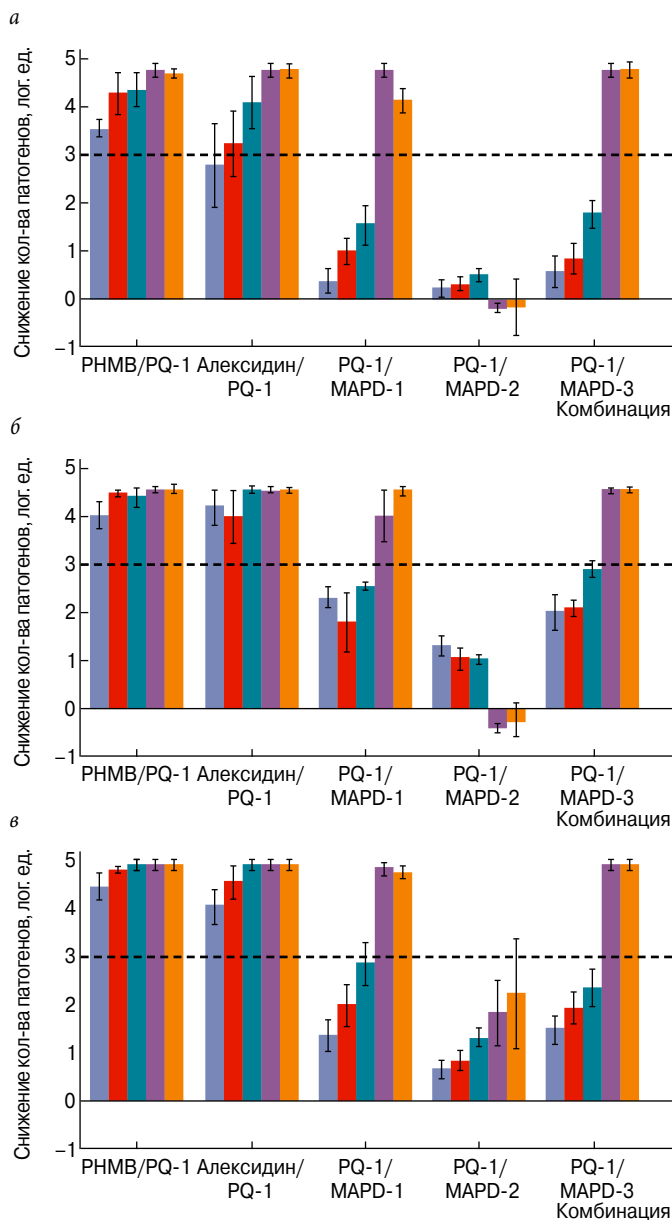


Рис. 4. Снижение количества *Achromobacter xylosoxidans* (а), *Delfia acidovorans* (б) и *Stenotrophomonas maltophilia* (в) после инкубации в многофункциональных растворах в контейнерах с линзами из материала этафилкон А в течение разных временных периодов:

■ – 4 ч; ■ – 6 ч; ■ – 24 ч; ■ – 7 дней; ■ – 30 дней

Пунктирной линией отмечен минимальный уровень снижения количества патогенов в логарифмических единицах по стандарту ISO 14729

женные производителями, могли быть в той или иной степени контаминированы бактериями, и это могло повлиять на результаты исследования [33]. Для проведения исследования с линзами были использованы гидрогелевые МКЛ дневного ношения из матери-

Таблица 4
Оценка эффективности действия МФР против бактерий, вызывающих появление инфильтратов роговицы, в контейнерах с контактными линзами

Комбинация дезинфектантов в МФР	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	<i>Delftia acidovorans</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Длительность инкубации – 4 ч</i>			
РНМВ/PQ-1	3,53 ^{1*}	4,03 ^{2*}	4,43 ^{2*}
Алексидин/PQ-1	2,73 ^{4*}	4,533 [*]	4,03 ^{2*}
PQ-1/MAPD-1	0,33	2,334 [*]	1,33
PQ-1/MAPD-2	0,17	1,30	0,63
PQ-1/MAPD-3	0,53	2,00	1,47
<i>Длительность инкубации – 6 ч</i>			
РНМВ/PQ-1	4,27 ^{2*}	4,50 ^{3*}	4,77 ^{3*}
Алексидин/PQ-1	3,20 ^{3*}	4,00 ^{7*}	4,50 ^{2*}
PQ-1/MAPD-1	0,93	1,80	1,93
PQ-1/MAPD-2	0,27	1,03	0,80
PQ-1/MAPD-3	0,80	1,10 ^{4*}	1,90 ^{4*}
<i>Длительность инкубации – 24 ч</i>			
РНМВ/PQ-1	4,33 ^{2*}	4,40 ^{2*}	4,87 ^{3*}
Алексидин/PQ-1	4,07 ^{3*}	4,57 ^{1*}	4,87 ^{3*}
PQ-1/MAPD-1	1,50	2,57 ^{6*}	2,80 ^{4*}
PQ-1/MAPD-2	0,47	1,03	1,27
PQ-1/MAPD-3	1,73 ^{4*}	2,90 ^{6*}	2,33
<i>Длительность инкубации – 7 дней</i>			
РНМВ/PQ-1	4,73 ^{5*}	4,57 ^{5*}	4,87 ^{4*}
Алексидин/PQ-1	4,73 ^{5*}	4,57 ^{5*}	4,87 ^{4*}
PQ-1/MAPD-1	4,73 ^{5*}	4,17 ^{5*}	4,80 ^{4*}
PQ-1/MAPD-2	-0,23	-0,40	1,80
PQ-1/MAPD-3	4,73 ^{5*}	4,57 ^{5*}	4,87 ^{4*}
<i>Длительность инкубации – 30 дней</i>			
РНМВ/PQ-1	4,67 ^{4*}	4,57 ^{6*}	4,87
Алексидин /PQ-1	4,73 ^{5*}	4,57 ^{6*}	4,87
PQ-1/MAPD-1	4,10 ^{6*}	4,57 ^{6*}	4,73
PQ-1/MAPD-2	-0,20	-0,23	2,20
PQ-1/MAPD-3	4,73 ^{5*}	4,57 ^{6*}	4,87

Примечания: 1. Указано статистически значимое значение снижения в логарифмических единицах. 2. Значения p по сравнению с PQ-1/MAPD-1, -2, -3: ^{1*} – p ≤ 0,001; ^{2*} – p ≤ 0,01; ^{3*} – p ≤ 0,05; по сравнению с PQ-1/MAPD-2: ^{4*} – p ≤ 0,05; ^{5*} – p ≤ 0,001; ^{6*} – p ≤ 0,01; по сравнению с PQ-1/MAPD-2, -3; ^{7*} – p ≤ 0,05.

ала этафилкон А (Johnson & Johnson Vision Care), которые в равной степени накапливают на поверхности РНМВ и MAPD [29]. Для дальнейших исследований может представлять интерес использование линз из силикон-

гидрогелевых материалов, способных в разной степени накапливать и выделять антибактериальные вещества.

В заключение стоит отметить, что растворы с РНМВ/PQ-1 и алексидином/PQ-1 показали более высокую и более быструю биоцидную активность в отношении исследуемых микроорганизмов в разные моменты времени. Многофункциональные растворы с РНМВ/PQ-1 и алексидином/PQ-1 продемонстрировали более высокие результаты по сокращению количества микроорганизмов по сравнению с тремя комбинациями PQ-1/MAPD за рекомендованное производителями минимальное время содержания в растворе (в данном исследовании – 4 и 6 ч) как в пробирках, так и в контейнерах для линз с МКЛ из этафилкона А и без линз. Только при увеличении времени воздействия (7 дней и более в контейнере с линзами и без них) два из трех МФР на основе MAPD оказались способны обеспечить уровень дезинфекции, сопоставимый с тем, что обеспечивают растворы, содержащие РНМВ/PQ-1 и алексидин/PQ-1.

Следует разработать правила ухода за контейнером для линз в соответствии с рекомендациями производителя, которых будут придерживаться пациенты. Оптометристы, офтальмологи и специалисты близких направлений должны консультировать пациентов по данному вопросу для более успешного ношения ими контактных линз с соблюдением правил гигиены и ухода за контактными линзами.

Список литературы

1. Silbert J. Inflammatory responses in contact lens wear. In: Silbert J ed. Anterior Segment Complications of Contact Lens Wear. Boston: Butterworth Heinemann, 2000. pp 109–131.
2. Basu PK, Minta JO. Chemotactic migration of leucocytes through corneal layers: an in vitro study. Can J Ophthalmol. 1976; 11: 235–240.
3. Chalmers RL, McNally JJ, Schein OD et al. Risk factors for corneal infiltrates with continuous wear of contact lenses. Optom Vis Sci 2007; 84: 573–579.
4. Efron N, Morgan PB, Hill EA et al. The size, location and clinical severity of corneal infiltrative events associated with contact lens wear. Optom Vis Sci 2005; 82: 519–527.

5. *Smith AF, Orsborn G.* Estimating the annual economic burden of illness caused by contact lens-associated corneal infiltrative events in the United States. *Eye Contact Lens* 2012; 38: 164–170.
6. *Aasuri MK, Venkata N, Kumar VM.* Differential diagnosis of microbial keratitis and contact lens-induced peripheral ulcer. *Eye Contact Lens.* 2003; 29 (Suppl 1): S60–S62.
7. *Morgan PB, Efron N, Brennan NA et al.* Risk factors for the development of corneal infiltrative events associated with contact lens wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 3136–3143.
8. *Szczotka-Flynn L, Lass JH, Sethi A et al.* Risk factors for corneal infiltrative events during continuous wear of silicone hydrogel contact lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 5421–5430.
9. *Radford CF, Minassian D, Dart JK et al.* Risk factors for nonulcerative contact lens complications in an ophthalmic accident and emergency department: a case-control study. *Ophthalmology* 2009; 116: 385–392.
10. *Ozkan J, Mandathara P, Krishna P et al.* Risk factors for corneal inflammatory and mechanical events with extended wear silicone hydrogel contact lenses. *Optom Vis Sci* 2010; 87: 847–853.
11. *Cutter GR, Chalmers RL, Roseman M.* The clinical presentation, prevalence and risk factors of focal corneal infiltrates in soft contact lens wearers. *CLAO J* 1996; 22: 30–37.
12. *Sankaridurg PR, Willcox MD, Sharma S et al.* Haemophilus influenzae adherent to contact lenses associated with production of acute ocular inflammation. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2426–2431.
13. *Sankaridurg PR, Sharma S, Willcox M et al.* Bacterial colonization of disposable soft contact lenses is greater during corneal infiltrative events than during asymptomatic extended lens wear. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4420–4424.
14. *Sankaridurg PR, Sharma S, Willcox M et al.* Colonization of hydrogel lenses with *Streptococcus pneumoniae*: risk of development of corneal infiltrates. *Cornea* 1999; 18: 289–295.
15. *Willcox M, Sharma S, Naduvilath TJ et al.* External ocular surface and lens microbiota in contact lens wearers with corneal infiltrates during extended wear of hydrogel lenses. *Eye Contact Lens* 2011; 37: 90–95.
16. *McLaughlin-Borlace L, Stapleton F, Matheson M et al.* Bacterial biofilm on contact lenses and lens storage cases in wearers with microbial keratitis. *J Appl Microbiol* 1998; 84: 827–838.
17. *Szczotka-Flynn LB, Pearlman E, Ghannoum M.* Microbial contamination of contact lenses, lens care solutions and their accessories: a literature review. *Eye Contact Lens* 2010; 36: 116–129.
18. *Wiley L, Bridge DR, Wiley LA et al.* Bacterial biofilm diversity in contact lens-related disease: emerging role of *Achromobacter*, *Stenotrophomonas* and *Delftia*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 3896–3905.
19. *Vijay AK, Sankaridurg P, Zhu H et al.* Guinea pig models of acute keratitis responses. *Cornea* 2009; 28: 1153–1159.
20. *Kilvington S, Shovlin J, Nikolic M.* Identification and susceptibility to multipurpose disinfectant solutions of bacteria isolated from contact lens storage cases of patients with corneal infiltrative events. *Cont Lens Anterior Eye* 2013; 36: 294–298.
21. *Nikolic A, Kilvington S, Cheung S et al.* Survival and growth of *Stenotrophomonas maltophilia* in multipurpose contact lens solutions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: E-Abstract 1540.
22. *Willcox MD, Carnt N, Diec J et al.* Contact lens case contamination during daily wear of silicone hydrogels. *Optom Vis Sci* 2010; 87: 456–464.
23. *Abbott Medical Optics.* Revitalens OcuTec Multi-Purpose Disinfecting Solution. Abbott Laboratories Inc; [about 16 screens]. Available at: <http://www.amo-inc.com/products/corneal/multi-purposesolution/revitalens-ocutec-multi-purpose-disinfecting-solution>. [Accessed 16 January 2015].
24. *Biotrue.* Rochester, NY: Bausch & Lomb Incorporated; 2012 Mar. Available at: <http://www.bausch.com/Portals/107/-/m/BL/United%20States/USFiles/Pack-age%20Inserts/Vision%20Care/biotrue-solution-pack-age-insert.pdf>. [Accessed 14 January 2015].
25. *Opti-Free Express.* Alcon; Fort Worth, Texas, USA: 2009. Available at: http://www.opti-free.com/pdfs/Opti-FreeXMPDS_us_en.pdf. [Accessed 16 January 2015].
26. *Opti-Free Puremoist.* Alcon; Fort Worth, Texas, USA: 2011. Available at: http://www.opti-free.com/pdfs/OFPureMoist_us_en.pdf. [Accessed 16 January 2015].
27. *Opti-Free Replenish.* Alcon; Fort Worth, Texas, USA: 2010. Available at: http://www.opti-free.com/pdfs/OFREplenishMPDS_us_en.pdf. [Accessed 16 January 2015].
28. *International Organization for Standardization.* Ophthalmic Optics – Contact Lens Care Products – Microbiological Requirements and Test Methods for Products and Regimens for Hygienic Management of Contact Lenses (ISO 14729). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2001.
29. *Powell CH, Lally JM, Hoong LD et al.* Lipophilic versus hydrodynamic modes of uptake and release by contact lenses of active entities used in multipurpose solutions. *Cont Lens Anterior Eye* 2010; 33: 9–18.

30. Pearlman E, Johnson A, Adhikary G et al. Tolllike receptors at the ocular surface. *Ocul Surf* 2008; 6: 108–116.
31. Cheung S, Kilvington S, Nikolic M et al. Biocidal efficacy of multipurpose contact lens care solutions against *Stenotrophomonas* and *Delftia*: resistance and regrowth. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: E-Abstract 5847.
32. Santos L, Oliveira R, Real Oliveira MECD et al. Lens material and formulation of multipurpose solutions affects contact lens disinfection. *Cont Lens Anterior Eye* 2011; 34: 179–182.
33. Boost M, Shi G, Cho P. Comparison of contamination rates of designs of rigid contact lenses.

Biocidal efficacy of multipurpose solutions against Gram-negative organisms associated with corneal infiltrative events

Background: Because corneal infiltrative events (CIEs) may result from bacterial components on contact lenses, which can come from contaminated lens cases, we evaluated the biocidal efficacy of five multipurpose solutions against Gram-negative commonly isolated and CIE-associated organisms.

Methods: Of the multipurpose solutions tested, one contained polyhexamethylene biguanide (PHMB) / polyquaternium-1 (PQ-1; Bausch & Lomb Incorporated: Biotrue), one contained alexidine dihydrochloride (alexidine) / PQ-1 (AMO: RevitaLens OcuTec) and three contained PQ-1 / myristamidopropyl dimethylamine (MAPD; Alcon: Opti-Free PureMoist, PQ-1/MAPD-1; Opti-Free RepleniSH, PQ-1/MAPD-2; Opti-Free Express, PQ-1/MAPD-3). Challenge organisms were CIE-associated *Achromobacter xylosoxidans*, *Delftia acidovorans* and *Stenotrophomonas maltophilia* at manufacturer-recommended durations (stand-alone), in lens cases without lenses (up to seven days) and in lens cases with etafilcon A lenses (up to 30 days).

Results: In stand-alone testing against CIE-associated organisms, PHMB/PQ-1 and alexidine/PQ-1 were significantly superior versus MAPD-based multipurpose solutions against *A. xylosoxidans* (all $p \leq 0.01$), *D. acidovorans* (all $p \leq 0.001$) and *S. maltophilia* (all $p \leq 0.05$). In lens cases, PHMB/PQ-1 and alexidine/PQ-1 achieved greater than 3-log reductions against all challenge organisms at all times evaluated. PQ-1/MAPD-1 achieved a greater than 3-log reduction against *D. acidovorans* at 24 hours; PQ-1/MAPD-1 and PQ-1/MAPD-3 achieved greater than 3-log reductions at seven days against all organisms. In lens cases with lenses, PHMB/PQ-1 and alexidine/PQ-1 achieved greater than 3-log reductions against all organisms at all times. PQ-1/MAPD-1 and PQ-1/MAPD-3 achieved greater than 3-log reductions at seven or more days against all organisms. PQ-1/MAPD-2 did not achieve a greater than 3-log reduction at any time; some regrowth was observed.

Conclusions: PHMB- and alexidine-based multipurpose solutions demonstrated significantly greater biocidal activity compared with PQ-1/MAPD-based agents against Gramnegative organisms commonly isolated and CIE-associated pathogens.

Keywords: gram-negative organisms, multipurpose solution, myristamidopropyl dimethylamine, polyhexamethylene biguanide

Марджори Дж. Ра (Marjorie J. Rah),

доктор философии, доктор оптометрии, сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании Bausch & Lomb Inc. (Рочестер, США)

1400 North Goodman Street Rochester, NY 14609, USA

Tel.: +1 (585) 413-63-97

E-mail marjorie.rah@bausch.com

Дэнис Каллахан (Denise Callahan),

сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании Bausch & Lomb Inc. (Рочестер, США)

Кристофер Ковакс (Christopher Kovacs),

сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании Bausch & Lomb Inc. (Рочестер, США)

Шон Линч (Shawn Lynch),

сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании Bausch & Lomb Inc. (Рочестер, США)