

SKIRTINGŲ SUDĖČIŲ KONTAKTINIŲ LĖŠIŲ TIRPALŲ ANTIMIKROBINĖS SAVYBĖS

Žaneta Maželienė^{1,2}, Ieva Dumšytė¹, Jolita Kirvaitienė^{1,3}, Ingrida Viliušienė¹

¹*Kauno kolegijos Medicinos fakultetas, Biomedicinos diagnostikos katedra,*

²*Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademija,*

Mikrobiologijos ir virusologijos institutas,

³*Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Visuomenės sveikatos fakultetas,
Aplinkos ir darbo medicinos katedra*

Raktažodžiai: kontaktinių lėšų tirpalai, akių infekcija, kontaktinių lėšų tirpalų antimikrobinis poveikis, bakterijos

Santrauka

Įvadas. Akies infekcijos rizika dažnėja didėjant kontaktinių lėšų nešiotųjų skaičiui. Kontaktinių lėšų tirpalai – priemonės, skirtos kontaktinių lėšų skalavimui, nešvarumų valymui, apnašų šalinimui, dezinfekcijai (mikroorganizmų sunaikinimui), drėkinimui bei laikymui. Kontaktinių lėšų tirpalų sudėtis nulemia skirtingas jų antimikrobinės savybės.

Tyrimo tikslas. Nustatyti kontaktinių lėšų skysčių antimikrobinį veikimą skirtinguose jų poveikio etaloninėms bakterijų kultūroms laiko intervaluose.

Tyrimo medžiaga ir metodai. Mikrobiologinio tyrimo metu nustatytas kontaktinių lėšų tirpalų antimikrobinis poveikis bakterijoms – *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 11778. Bakterijų kultūros buvo veikiamos skirtingais kontaktinių lėšų tirpalais 0,5 val., 1 val., 2 val., 4 val., 6 val., 8 val. ir po to nustatytas likęs gyvybingų bakterijų kiekis tiriamajame tirpale.

Rezultatai. Kontaktinių lėšų tirpalų antimikrobinės savybės lemia kelių sudedamųjų dalių sinergistinis antimikrobinis poveikis dažniausiai akims pavojingiems infekcinių ligų sukėlėjams. Silpniausiai bakterijas veikė poliheksametilenbiguanido 0,0001 proc. tirpalas. Poliheksametilenbiguanido tirpalo antimikrobinis poveikis stiprėjo didėjant jo koncentracijai ir į tirpalą pridėjus ramunėlių ar alavijo. Polihek-

sametilenbiguanido 0,0002 proc. tirpalas su alaviju ir kontaktinių lėšų tirpalas su boro rūgštimi veikia panašiai, kaip ir poliheksametilenbiguanido 0,0002 proc. tirpalas su alaviju, tačiau visos bakterijos buvo sunaikintos po 6-8 val. poveikio. Stipriausią antimikrobinį poveikį turėjo kontaktinių lėšų tirpalas su 3 proc. vandenilio peroksido, kuris per 30 min. – 1 val. sunaikino visas tirtas bakterijas.

Išvados. Akių infekcijos galima išvengti naudojant kontaktinių lėšų poliheksametilenbiguanido 0,0002 proc. tirpalą su alaviju ar kontaktinių lėšų tirpalus, kurių sudėtyje yra 3 proc. vandenilio peroksido. Lėšius tirpaluose reikia laikyti 2 – 4 val.

Įvadas

Kontaktiniai lėšiai populiarėja ne tik kaip akių korekcijos ar terapijos, bet ir akių kosmetikos priemonė. Populiarumą lemia lėšų pasirinkimo įvairovė, patogesnis naudojimas lyginant su akiniais, taip pat galimybė sukurti geidžiamą įvaizdį. Tačiau kontaktiniai lėšiai, be šių teigiamų savybių, gali turėti ir neigiamų. Su kontaktiniais lėšiais, nesilaikant jų vartojimo rekomendacijų ir higienos reikalavimų, į akis gali patekti įvairūs mikroorganizmai – ne tik saprofitiniai, bet ir sąlygiškai patogeniški. Bakterijų patekimo vietoje yra tikimybė atsirasti akies infekcinei patologijai. Labiausiai paplitusi kontaktinių lėšų nešiotųjų infekcija yra keratitas [1]. Kiekvienais metais, daugėjant žmonių, nešiojančių kontaktinius lėšius, skaičiui, didėja ir akių infekcijų rizika. 2018 m. atlikta mokslinės studijos, kuriose buvo vertinti apie 20000 kontaktinių lėšų nešiotųjų duomenys, kurie parodė, kad trečia dalis tiriamųjų buvo nauji kontaktinių lėšų nešiotojai ir dauguma jų – apie 89 proc. kontaktinius lėšius nešiojo 4 ar daugiau kartų per savaitę [2]. Šie duomenys

taip pat rodo, kad kontaktiniai lęšiai turi būti laikomi tam tikruose tirpaluose, skirtuose kontaktiniams lęšiams skalauti, nešvarumams valyti, nereikalingiems apnašams šalinti, dezinfekcijai. Tik laikantis kontaktinių lęšių tirpalams nurodytų jų vartojimo reikalavimų galima mažinti ragenos infekcijos riziką [2].

Tyrimo tikslas: nustatyti kontaktinių lęšių tirpalų antimikrobinį veikimą skirtinguose jų poveikio bakterijų kultūroms laiko intervaluose.

Tyrimo metodika

Ištirtas 5 komercinių skirtingų sudėčių kontaktinių lęšių tirpalų antimikrobinis aktyvumas: 0,0001 proc. poliheksametilenbiguanido (PHMB); 0,00015 proc. PHMB su ramunėlėmis; 0,0002 proc. PHMB su alaviju; kontaktinių lęšių tirpalo su boro rūgštimi ir kontaktinių lęšių tirpalo su 3 proc. vandenilio peroksidu. Tyrime naudotos etaloninės bakterijų kultūros, kurios yra žmogaus normali mikroflora (išskyrus *Bacillus cereus*), turi skirtingas biologines savybes ir gali sukelti akių infekcinius procesus: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923 – žmogaus šnervių mikroflora, gramteigiamosios bakterijos; *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) ATCC 12228 – žmogaus odos mikroflora, gramteigiamosios bakterijos; *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922 – žmogaus storosios žarnos mikroflora, gramneigiamosios bakterijos; *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) ATCC 13883 – žmogaus storosios žarnos mikroflora, gramneigiamosios bakterijos; *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps. aeruginosa*) ATCC 27853 – žmogaus mikroflora, gramneigiamosios bakterijos; *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ATCC 11778 – dirvožemio mikroflora, sudaro spora ir gali patekti į odą, gleivines. Etaloninės bakterijų kultūros buvo auginamos 20–24 val. 35–37°C temperatūroje triptozės sojos agarė (Oxoid LTD, Basingstoke, Hampshire, England). Etaloninių bakterijų suspensijos paruoštos steriliame fiziologiniame natrio chlorido (0,9 proc.) tirpale. Tyrime naudotos 0,5 McFarland drumstumo bakterijų suspensijos.

Kontaktinių lęšių tirpalų antimikrobinis aktyvumas nustatytas aseptinėse sąlygose. Tiriamojo tirpalo mėginys, kurį sudarė 10 ml tiriamojo kontaktinių lęšių tirpalas ir 5 ml tam tikrų bakterijų suspensija, buvo ruošiamas sterilioje 50 ml stiklinėlėje. Paruoštas mėginys laikomas kambario temperatūroje ir po 0,5 val., 1 val., 2 val., 4 val., 6 val. ir 8 val. iš stiklinaitės paimta po 1 ml tirpalo ir supilta į mėgintuvėlius su 9 ml sterilaus fiziologinio tirpalo, skiedžiant mėginį 1:10. Iš 0,5 val. tyrimo trukmės 1-ojo mėgintuvėlio (skiedimas 1:10) imamas 1 ml tirpalo ir pilamas į 2-ą mėgintuvėlį su 9 ml fiziologinio tirpalo (skiedimas 1:100), iš 2-o mėgintuvėlio imamas 1 ml tirpalo ir pilamas į 3-ą mėgintuvėlį su 9 ml fiziologinio tirpalo (skiedimas 1:1000), iš 3-o mėgintuvėlio

imamas 1 ml tirpalo ir pilamas į 4-ą mėgintuvėlį su 9 ml fiziologinio tirpalo (skiedimas 1:10000), iš 4-o mėgintuvėlio imamas 1 ml tirpalo ir pilamas į 5-ą mėgintuvėlį su 9 ml fiziologinio tirpalo (skiedimas 1:100000), iš 5-o mėgintuvėlio imamas 1 ml tirpalo ir pilamas į 6-ą mėgintuvėlį su 9 ml fiziologinio tirpalo (skiedimas 1:1000000). Tokia skiedimų seka paruošiami 1 val., 2 val., 4 val., 6 val. ir 8 val. tyrimo trukmės skiedimai. Kiekvienos etaloninės bakterijų kultūros kontrolė yra tiriamų bakterijų koncentracija iki poveikio kontaktinių lęšių tirpalais. Etaloninių bakterijų kultūrų kontroliniai mėginiai gauti sumaišius 5 ml bakterijų suspensijos su 10 ml fiziologinio natrio chlorido tirpalo, skiedimų metodika tokia pat kaip ir tiriamųjų tirpalų.

Iš kiekvieno 1-o, 2-o, 3-o, 4-o, 5-o ir 6-o mėgintuvėlių paimta po 1 ml tirpalo ir supilta į dvi sterias Petrio lėkšteles. Po to į kiekvieną Petrio lėkštelę su 1 ml tirpalo įpilta po 15 ml 45°C temperatūros Muellerio-Hintono agarė (Mueller-Hinton II Agar, BBL, Cockeysville, JAV) ir sumaišyta su tirpalu. Agarui sustingus Petrio lėkštelės inkubuojamos termostate 40–48 val., esant 35±1 °C temperatūrai. Po kultivavimo skaičiuojamos išaugusios bakterijų kolonijos tose Petrio lėkštelėse, kuriose yra išaugę nuo 30 iki 300 kolonijų. Apskaičiuojamas 2-se Petrio lėkštelėse išaugusių kolonijų vidurkis, kuris dauginamas iš skiedimo laipsnio. Įvertinant kontaktinių lęšių tirpalų antimikrobinį aktyvumą, lyginama išaugusių bakterijų skaičius tiriamuosiuose tirpaluose su kontrole.

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant SPSS programos paketą (versija SPSS 17.0). Duomenys laikyti statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$.

Rezultatai

Poliheksametilenbiguanido 0,0001 proc. (PHMB) tirpalas veikia antimikrobiškai ir jo intensyvumą lemia ne tik poveikio trukmė, bet ir bakterijų biologinių savybių ypatumai (1 pav.).

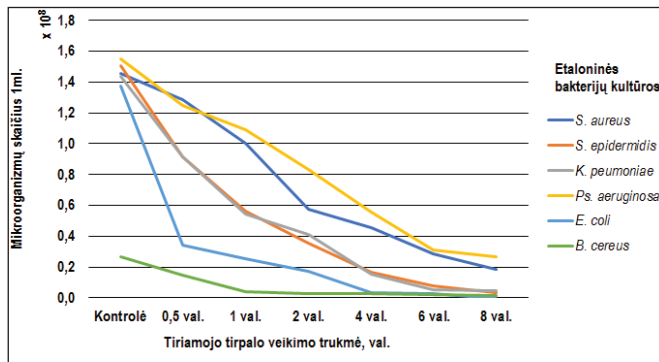
Tarp tirtų bakterijų PHMB tirpalui atspariausios yra *Ps. aeruginosa*. Po 30 min. poveikio, lyginant su kontrole ($1,57 \times 10^8$ bakterijų/ml), pseudomonų skaičius sumažėjo tik 1,23 k. (iki $1,27 \times 10^8$ bakterijų/ml). Po 1 val. poveikio trukmės pseudomonų žuvimas didėjo ir intensyviausias jų žuvimas buvo 4–6 poveikio val. – pseudomonų kiekis sumažėjo, lyginant su kontrole, apie 4,7 k. iki $3,31 \times 10^7$ bakterijų/ml. Po 6 val. nuo eksperimento pradžios bakterijų žuvimas lėtėjo ir po 8 val. buvo $2,87 \times 10^7$ bakterijų/ml.

Mažesnę atsparumą PHMB tirpalui, lyginant su *Ps. aeruginosa*, turėjo *S. aureus* (1 pav.). *S. aureus* skaičius lyginant su kontrole išaugusių stafilokokų skaičiumi ($1,47 \times 10^8$ bakterijų/ml) po 30 min. PHMB poveikio sumažėjo apie 1,12 karto (iki $1,31 \times 10^8$ bakterijų/ml). 1–2 val. poveikio

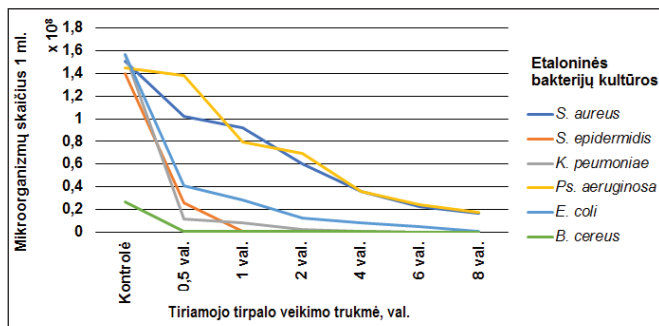
laikotarpiu bakterijų žuvinimas yra intensyviausias ir bakterijų skaičius pakito nuo $1,02 \times 10^8$ bakterijų/ml iki $5,98 \times 10^7$ bakterijų/ml, t.y. sumažėjo 1,7 k. Vėliau stafilokokų žuvinimas lėtėja ir po 4 val. poveikio lieka $4,76 \times 10^7$ bakterijų/ml, po 6 val. sumažėja iki $3,02 \times 10^7$ bakterijų/ml, o po 8 val. – iki $2,02 \times 10^7$ bakterijų/ml.

Jautriausios PHMB tirpalui buvo *Escherichia coli*. Jau po 30 min. poveikio, lyginant su kontrole ($1,39 \times 10^8$), statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$) *E. coli* kiekis sumažėjo apie 3,8 karto (iki $3,65 \times 10^7$ bakterijų/ml). 30 min. – 2 val. poveikio laikotarpiu *E. coli* skaičius mažėja lėčiau ir po 2 val. poveikio mažėja iki $1,92 \times 10^7$ bakterijų/ml. 2 – 4 val. poveikio bakterijų žuvinimas intensyvėjo ir *E. coli* sumažėjo, lyginant su kontrole, apie 24,5 k. (iki $5,67 \times 10^6$ bakterijų/ml). Po 8 val. poveikio tirpale liko tik $1,79 \times 10^6$ bakterijų/ml.

K. pneumoniae ir *S. epidermidis* turėjo panašų jautrumą PHMB tirpalui (1 pav.). Nuo tyrimo pradžios iki 2 val. poveikio bakterijų mažėjimo intensyvumas yra panašus: *S. epidermidis*, lyginant su kontrole ($1,53 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 4 k. iki $3,77 \times 10^7$ bakterijų/ml, o *K. pneumoniae*, lyginant su kontrole ($1,46 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 3,4 k. iki $4,28 \times 10^7$ bakterijų/ml. 2-ą – 4-ą poveikio val. bakterijų žuvinimas buvo intensyviau-



1 pav. 0,0001 proc. poliheksametenbiguanido (PHMB) antimikrobinio veikimo intensyvumo priklausomybės nuo PHMB poveikio trukmės.



2 pav. 0,00015 proc. poliheksametenbiguanido tirpalo su ramunėlėmis antimikrobinio veikimo intensyvumo priklausomybė nuo jo poveikio trukmės.

sias ir po 4 val. poveikio *S. epidermidis* sumažėjo 8,2 k. iki $1,85 \times 10^7$ bakterijų/ml, o *K. pneumoniae* – apie 7,9 k. iki $1,75 \times 10^7$ bakterijų/ml, lyginant su kontrole. Stafilokokų po 6 val. poveikio sumažėjo iki $9,94 \times 10^6$ ir po 8 val. liko $5,34 \times 10^6$ bakterijų/ml. *K. pneumoniae* po 6 val. poveikio buvo nustatyta $7,41 \times 10^6$ bakterijų/ml, o po 8 val. poveikio liko $6,75 \times 10^6$ bakterijų/ml.

B. cereus, lyginant su *S. aureus* ir *Ps. aeruginosa*, yra mažiau jautrios PHMB tirpalui (1 pav.). *B. cereus*, po 1 val. poveikio, lyginant su kontrole ($2,88 \times 10^7$ bakterijų/ml), sumažėjo 4,7 k. iki $6,10 \times 10^6$ bakterijų/ml. Po 1 val. poveikio bakterijų žuvinimas lėtėja: po 4 val. lieka tik 5×10^6 bakterijų/ml, o po 8 val. – $3,6 \times 10^6$ bakterijų/ml.

Poliheksametenbiguanido 0,00015 proc. tirpalo su ramunėlėmis antimikrobinis poveikis, lyginant su PHMB, yra stipresnis. Tiriamų bakterijų jautrumą šiam tirpalui lėmė ne tik poveikio trukmė, bet ir konkrečios bakterijų biologinės savybės (2 pav.).

Didžiausią atsparumą poliheksametenbiguanido 0,00015 proc. tirpalui su ramunėlėmis, kaip ir PHMB, turėjo *Ps. aeruginosa* ir *S. aureus* (2 pav.). Po 30 min. tirpalo poveikio *Ps. aeruginosa* kiekis, lyginant su kontrole – $1,49 \times 10^8$ bakterijų/ml, sumažėjo apie 1,07 k., o *S. aureus*, lyginant su kontrole – $1,5 \times 10^8$ bakterijų/ml, – apie 1,48 k. Šių bakterijų kiekis ilgėjant poveikio trukmei mažėjo tolygiai ir palaipsniui. *Ps. aeruginosa* po 2 val. poveikio liko $6,91 \times 10^7$ bakterijų/ml (sumažėjo 2,15 k. lyginant su kontrole), po 4 val. – $3,57 \times 10^7$ bakterijų/ml (sumažėjo 4,17 k. lyginant su kontrole), po 6 val. – $2,43 \times 10^7$ bakterijų/ml (sumažėjo 6,1 k. lyginant su kontrole), po 8 val. poveikio nustatyta $1,71 \times 10^7$ bakterijų/ml t.y. sumažėjo 8,7 k. lyginant su kontrole. *S. aureus* kiekis, lyginant su kontrole, po 2 val. tirpalo poveikio sumažėjo 2,5 k. (iki 6×10^7 bakterijų/ml), po 4 val. – sumažėjo 4,1 k. (iki $3,58 \times 10^7$ bakterijų/ml), po 6 val. – sumažėjo 6,6 k. (iki $2,25 \times 10^7$ bakterijų/ml), o po 8 val. poveikio sumažėjo 8,8 k. (iki $1,69 \times 10^7$ bakterijų/ml).

Tyrimo duomenys rodo, kad pirmosiomis poliheksametenbiguanido 0,00015 proc. tirpalo su ramunėlėmis poveikio minutėmis statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$) mažėjo *E. coli*, *K. pneumoniae* ir *S. epidermidis* koncentracija. Po 30 min. poveikio *E. coli* kiekis, lyginant su kontrole ($1,57 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 3,87 k. iki $4,06 \times 10^7$ bakterijų/ml. Stipriausias antimikrobinis poveikis 30 min. trukmėje buvo *K. pneumoniae* atžvilgiu: jau po 30 min. bakterijų kiekis, lyginant su kontrole sumažėjo 13,65 k. iki $1,15 \times 10^7$ bakterijų/ml. Ilgėjant poveikio trukmei *E. coli*, *K. pneumoniae* ir *S. epidermidis* koncentracija mažėja. *S. epidermidis* kiekis po 1 val. poveikio sumažėjo iki $7,64 \times 10^5$ bakterijų/ml, o po 2 val. poveikio nustatyta

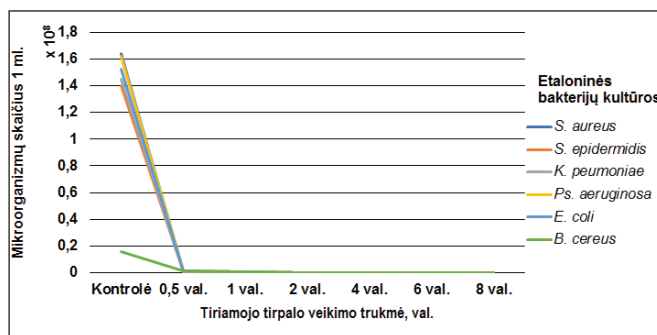
tik $2,55 \times 10^5$ bakterijų/ml. *K. pneumoniae* bakterijų kiekis po 1 val. poveikio sumažėjo iki $8,3 \times 10^6$ bakterijų/ml, po 2 val. – iki $2,1 \times 10^6$ bakterijų/ml ir po 4 poveikio sumažėjo iki 1×10^6 bakterijų/ml, lyginant su kontrolėje išaugusių bakterijų skaičiumi ($1,57 \times 10^8$ bakterijų/ml). Po 4 val. poliheksametilenbiguanido 0,00015 proc. tirpalo su ramunėlėmis poveikio neišaugo *S. epidermidis*, o po 6 val. poveikio neišaugo ir *K. pneumoniae* bakterijos. *E. coli* kiekio mažėjimas buvo silpnėsnis: po 1 val. poveikio sumažėjo iki $2,87 \times 10^7$ bakterijų/ml, po 2 val. – iki $1,27 \times 10^7$ bakterijų/ml, po 4 val. – iki $8,13 \times 10^6$ bakterijų/ml, o po 8 val. poveikio sumažėjo iki $1,12 \times 10^6$ bakterijų/ml. Sporinės bakterijos *B. cereus* yra jautrios poliheksametilenbiguanido 0,00015 proc. tirpalui su ramunėlėmis. *B. cereus* žuvinimas 30 min. poveikio intervale buvo intensyviausias, lyginant su *B. cereus* kontrole ($2,6 \times 10^7$ bakterijų/ml) bakterijų kiekis sumažėjo apie 26 k. iki 1×10^6 bakterijų/ml. Šių sporinių bakterijų kiekis po 2 val. tirpalo poveikio sumažėjo iki 6×10^5 bakterijų/ml, po 4 val. poveikio liko tik 4×10^5 bakterijų/ml. Po 6 val. poliheksametilenbiguanido 0,00015 proc. tirpalo su ramunėlėmis poveikio *B. cereus* neišaugo.

Poliheksametilenbiguanido 0,0002 proc. tirpalas su alaviju (3 pav.) turi stipriausią antimikrobinį poveikį, lyginant su poliheksametilenbiguanido 0,0001 proc. tirpalu (1 pav.) ir poliheksametilenbiguanido 0,00015 proc. tirpalu su ramunėlėmis (2 pav.). Tikriausiai didesnė poliheksametilenbiguanido koncentracija ir alavijas lėmė šio tirpalo stipriausią neigiamą poveikį tiriamoms bakterijoms.

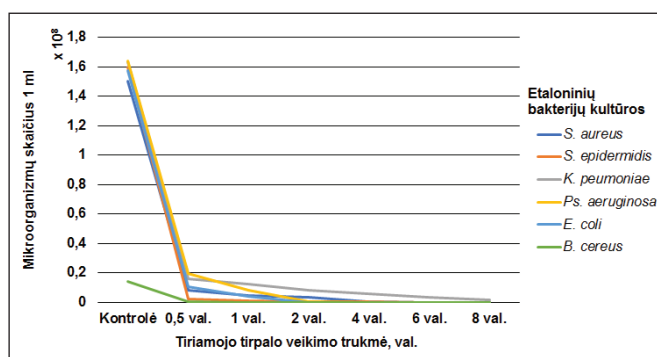
Visos tirtos bakterijos yra jautrios poliheksametilenbiguanido 0,0002 proc. tirpalui su alaviju. Jau po šio tirpalo 30 min. poveikio statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$) visų tiriamų bakterijų – *E. coli*, lyginant su kontrole ($1,53 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 109 k. iki $1,4 \times 10^6$ bakterijų/ml, *Ps. aeruginosa*, lyginant su kontrole ($1,62 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 162 k. iki 1×10^6 bakterijų/ml, *S. aureus*, lyginant su kontrole ($1,64 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 205 k. iki 8×10^5 bakterijų/ml, *S. epidermidis*, lyginant su kontrole ($1,4 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 175 k. iki 8×10^5 bakterijų/ml, *K. pneumoniae*, lyginant su kontrole ($1,45 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 362 k. iki 4×10^5 bakterijų/ml. *Ps. aeruginosa* ir *S. aureus* po 1 val. poliheksametilenbiguanido 0,0002 proc. tirpalo su alaviju poveikio sumažėjo iki 6×10^5 bakterijų/ml, *S. epidermidis* – iki 4×10^5 bakterijų/ml ir *E. coli* – iki 8×10^5 bakterijų/ml. *K. pneumoniae* neišaugo po 1 val. tirpalo poveikio, o *E. coli*, *S. epidermidis*, *Ps. aeruginosa* ir *S. aureus* neišaugo po 2 val. poliheksametilenbiguanido 0,0002 proc. tirpalo su alaviju poveikio. Sporinių bakterijų *Bacillus cereus* po 30 min. poveikio mažėjo iki 1×10^6 bakterijų/ml (apie 15 k.,

lyginant su kontrolėje išaugusių bakterijų skaičiumi – $15,4 \times 10^6$ bakterijų/ml), po 1 val. poveikio išaugo tik 6×10^5 bakterijų/ml, po 2 val. poveikio neišaugo nei viena bakterijų kolonija.

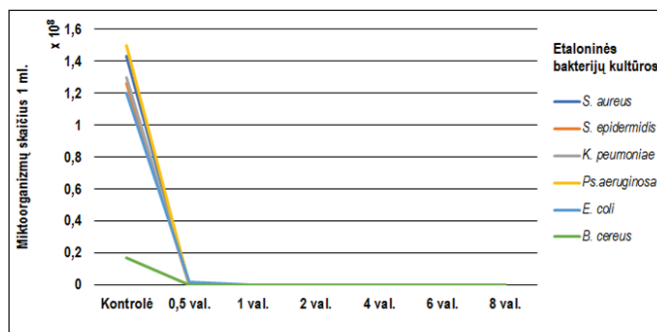
Kai kurių kontaktinių lęšių tirpalų sudėtyje yra antimikrobinį veikimą turinčios boro rūgštys. Tyrimo metu nustatyta, kad kontaktinių lęšių tirpalo su boro rūgštimi antimikrobinis poveikis tirtoms bakterijoms yra panašus. Stipriausias statistiškai



3 pav. 0,0002 proc. poliheksametilenbiguanido tirpalo su alaviju antimikrobinio veikimo intensyvumo priklausomybė nuo tirpalo poveikio trukmės.



4 pav. Kontaktinių lęšių tirpalo su boro rūgštimi antimikrobinio veikimo intensyvumo priklausomybė nuo tirpalo poveikio trukmės.



5 pav. Kontaktinių lęšių tirpalo su 3 proc. vandenilio peroksido antimikrobinio veikimo intensyvumo priklausomybė nuo tirpalo poveikio trukmės.

reikšmingai ($p < 0,05$) antimikrobinis veikimas nustatytas jau pirmosiomis poveikio minutėmis (4 pav.). Stipriausiai boro rūgštis veikė *S. epidermidis* ir *B. cereus*.

S. epidermidis koncentracija po 30 min. tirpalo su boro rūgštimi poveikio, lyginant su kontrolėje ($1,6 \times 10^8$ bakterijų/ml) išaugusių bakterijų skaičiumi, sumažėjo 80 k. iki 2×10^6 bakterijų/ml, po 1 val. – iki 1×10^6 bakterijų/ml, 2 val. – iki 6×10^5 bakterijų/ml ir 4 val. poveikio iki 2×10^5 bakterijų/ml, po 6 val. neišaugo nei viena *S. epidermidis* kolonija.

B. cereus koncentracija per 30 min. poveikio sumažėjo 69 k. iki 2×10^5 bakterijų/ml, lyginant su kontrolėje ($1,38 \times 10^7$ bakterijų/ml) išaugusių bakterijų skaičiumi. Po 1 val. tirpalo su boro rūgštimi poveikio neišaugo nei viena *B. cereus* kolonija.

Tirpalo su boro rūgštimi antimikrobinis poveikis per 30 min. *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli* ir *K. pneumoniae* atžvilgiu yra panašus – šių bakterijų kiekis tirpale mažėjo nuo 8,4 iki 19,2 k.

S. aureus kiekis po tirpalo su boro rūgštimi 30 min. poveikio, lyginant su kontrole ($1,5 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo iki $7,8 \times 10^6$ bakterijų/ml apie 19,2 k., po 1 val. poveikio – iki $4,2 \times 10^6$ bakterijų/ml, 2 val. – $3,2 \times 10^6$ bakterijų/ml ir po 4 val. tirpalo su boro rūgštimi poveikio sumažėjo iki 4×10^5 bakterijų/ml.

Ps. aeruginosa koncentracija po 30 min. poveikio, lyginant su kontrole ($1,64 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 8,4 k. iki $1,94 \times 10^7$ bakterijų/ml, po 1 val. poveikio – iki $8,14 \times 10^6$ bakterijų/ml ir po 2 val. tirpalo su boro rūgštimi poveikio sumažėjo iki $1,43 \times 10^5$ bakterijų/ml.

E. coli kiekis po 30 min. tirpalo su boro rūgštimi poveikio sumažėjo iki $1,02 \times 10^7$ bakterijų/ml – apie 15,4 k. lyginant su kontrolėje ($1,57 \times 10^8$ bakterijų/ml) išaugusių bakterijų kiekiu, po 1 val. poveikio sumažėjo iki $3,6 \times 10^6$ bakterijų/ml.

K. pneumoniae koncentracija po 30 min. tirpalo su boro rūgštimi poveikio, lyginant su kontrole ($1,63 \times 10^8$ bakterijų/ml), bakterijų sumažėja 10,2 k. iki 6×10^7 bakterijų/ml, po 1 val. poveikio rasta $1,2 \times 10^7$ bakterijų/ml, po 2 val. – 8×10^6 bakterijų/ml, po 4 val. – $5,6 \times 10^6$ bakterijų/ml, po 6 val. – 3×10^6 bakterijų/ml ir po 8 val. $1,2 \times 10^6$ bakterijų/ml.

K. pneumoniae, lyginant su *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli* ir *S. epidermidis* išauginta iš tiriamojo tirpalo po 8 val. tirpalo su boro rūgštimi poveikio, o *S. epidermidis* ir *S. aureus* neišaugo po 6 val. tirpalo su boro rūgštimi poveikio, *Ps. aeruginosa* – po 4 val. ir *E. coli* neišaugo po 2 val. tirpalo su boro rūgštimi poveikio.

Tirpalas, kurio sudėtyje yra 3 proc. vandenilio peroksido, stipriausiai statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$) antimikrobiškai veikia tyrime naudotas etalonines bakterijų kultūras (5 pav.).

Kontaktinių lęšių tirpalas su 3 proc. vandenilio peroksido 30 min. poveikio trukmėje sunaikino *S. aureus* (kontrolėje

išaugo $1,43 \times 10^8$ bakterijų/ml), *S. epidermidis* (kontrolėje išaugo $1,26 \times 10^8$ bakterijų/ml), *K. pneumoniae* (kontrolėje išaugo $1,3 \times 10^8$ bakterijų/ml), *Ps. aeruginosa* (kontrolėje išaugo $1,5 \times 10^8$ bakterijų/ml) ir *B. cereus* (kontrolėje išaugo $1,7 \times 10^7$ bakterijų/ml). *E. coli* kiekis po 30 min. poveikio, lyginant su kontrole ($1,2 \times 10^8$ bakterijų/ml), sumažėjo 75 k. iki $1,6 \times 10^6$ bakterijų/ml, o po 1 val. tirpalo su 3 proc. vandenilio peroksido poveikio neišaugo nei viena bakterijų kolonija.

Aptarimas

Žmonės, norėdami išvengti tam tikro diskomforto renkami ne akinius, o kontaktinius lęšius, kurie yra moderni bei šiuolaikinė regėjimo korekcijos priemonė, užtikrinanti gerą regėjimą ir savijautą. Kontaktiniai lęšiai yra sveikas ir patogus regėjimo korekcijos būdas, tačiau susijęs su tam tikrais pavojais – nemaloniais pojūčiais, akių dirginimu, alergija ir akių infekciniais pažeidimais. Todėl, norint išvengti neigiamų daugiadienių kontaktinių lęšių naudojimo pasekmių, būtina tam tikra lęšių priežiūra. Tinkamai kontaktinių lęšių priežiūrai rekomenduojami kontaktinių lęšių tirpalai, kurie valo per dieną susikaupusias apnašas, drėkina lęšius ir juos dezinfekuoja, t.y. sunaikina ant lęšių patekusias bakterijas.

Prieš dvidešimt metų lęšių valymas buvo daugiapakopis procesas, kurio kiekvienoje valymo pakopoje buvo vartojamos skirtingos valomosios ir dezinfekuojančiosios medžiagos, fiziologinis tirpalas nuplauti valomajai ar dezinfekuojančiai medžiagai nuo kontaktinių lęšių paviršiaus. Šiuo metu kontaktinių lęšių tirpalai, skirti kontaktinių lęšių priežiūrai, yra daugiaviečiai tirpalai.

Dauguma kontaktinių lęšių tirpalų turi panašias ar kiek skirtingas sudedamąsias dalis, tačiau visų tirpalų funkcijos ir pagrindiniai tikslai yra tokie patys. Kontaktinių lęšių tirpalai turi saugoti nuo mikrobinės taršos ir ją mažinti, šalinti apnašas ir paruošti kontaktinius lęšius naudojimui.

Kontaktinių lęšių sudėtyje antimikrobinė medžiaga dažniausiai yra poliheksametilenbiguanidas (PHMB), kurio koncentracija tirpaluose būna nuo 0,0001 proc. iki 0,0002 proc. PHMB tirpale gali būti ir augalinis ekstraktas, kaip ramunėlės, alavijas. Be šių antimikrobinų medžiagų veikti prieš bakterijas gali tirpalo sudėtyje esantis vandenilio peroksidas (3 proc.), boro rūgštis ar net kai kurie konservantai. Vienas iš dažniausiai esančių konservantų kontaktinių lęšių skysčiuose yra EDTA (dinatrioedentatas), kuris didina antimikrobinų medžiagų veiksmingumą gramneigiamųjų bakterijų atžvilgiu [4, 5].

Tirtų kontaktinių lęšių tirpalų priešbakterinį poveikį lemia tam tikros bakterijų biologinės savybės – ląstelės sienelės struktūra, kapsulė, sporų sudarymas ir kt., nurodytos straipsnio metodikoje.

Vertinant poliheksametilenbiguanido skirtingų koncen-

tracijų tirpalų antimikrobinį veikimą, nustatyta, kad stipriau antimikrobiškai veikia didesnės koncentracijos poliheksametilenbiguanido tirpalai, turintys savo sudėtyje ramunėlių ar alavijo. Poliheksametilenbiguanido 0,0001 proc. tirpalas pirmomis poveikio minutėmis stipriausiai veikė tik *E. coli*. Poliheksametilenbiguanido 0,00015 proc. tirpalas su ramunėlėmis stipriau antimikrobiškai veikė tiriamas bakterijas. Pirmomis poveikio minutėmis statistiškai reikšmingai sumažėjo *K. pneumoniae*, *S. epidermidis* ir *E. coli* kiekis. Manome, kad stipresnį antimikrobinį poveikį lėmė ne tik didesnė nežymiai poliheksametilenbiguanido koncentracija tirpale, bet ir tirpalo sudėtyje esančios ramunėlės, kurios mažina spazmus, turi priešuždegiminį, raminantį ir antimikrobinį veikimą. Dažniausiai naudojama vaistinė ramunė – *Matricaria recutita*. Mokslinėse studijose nustatyta, kad ramunėlės ekstraktai ir jų eteriniai aliejai turi antimikrobinį veikimą prieš gramteigiamąsias – *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* ir gramneigiamąsias – *Shigella shiga*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus spp.* bakterijas [6,7].

Stipriausią antimikrobinį poveikį turėjo 0,0002 proc. poliheksametilenbiguanido tirpalas su alaviju. 30 min. poveikio trukmėje statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$) sumažėjo nuo 109 iki 362 kartų tirtų nesporinių bakterijų kiekiai, sporinių bakterijų kiekis sumažėjo 15 k. Po 1 – 2 poveikio valandos neišaugo nei viena tirta bakterija. Šiame tirpale be abejonės antimikrobinį tirpalo veikimą sustiprino ir alavijas. Kontaktinių lęšių tirpaluose esantis alavijas (*Aloe vera*) veikia antiseptiškai, mažina uždegimą, turi priešmikrobinį veikimą. Alavijo ekstraktai veikia antimikrobiškai į gramteigiamąsias (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*) ir gramneigiamąsias *Escherichia coli* bakterijas [8, 9].

Stipriausiai antimikrobiškai veikė kontaktinių lęšių tirpalas su 3 proc. vandenilio peroksidu. Per pirmąsias 30 min. buvo sunaikintos *K. pneumoniae*, *S. epidermidis*, *B. cereus*, *Ps. aeruginosa* ir *S. aureus*, o *E. coli* žuvo per 1-ą poveikio valandą. Vandenilio peroksidas mažomis koncentracijomis (3 proc. ir mažesnė) gali būti naudojamas kaip antiseptikas žaizdų plovimui ir kt., o didesnėmis (6 proc.) – įvairių objektų paviršių sterilizavimui. Tyrimuose nustatyta, kad net ir mažos vandenilio peroksido koncentracijos turi antimikrobinį veikimą į bakterijas, o taip pat veikia ir į antibiotikams atsparias bakterijų padermes [10,11].

Kontaktinių lęšių tirpalas su boro rūgštimi į tirtas bakterijas veikė silpniau, lyginant su poliheksametilenbiguanido 0,0002 proc. tirpalu su alaviju. Tiriamų bakterijų kiekis 30 min. poveikio trukmėje sumažėjo statistiškai reikšmingai

($p < 0,05$) nuo 8,4 iki 19,2 kartų, tačiau dalis bakterijų liko gyvybingos tam tikrą laiką: *B. cereus*, neišaugo jau po pirmos poveikio valandos, po dviejų valandų poveikio neišaugo *E. coli*, po keturių valandų – *Ps. aeruginosa*, o *S. aureus* ir *S. epidermidis* augimo nebuvo po šešių valandų poveikio, po aštuonių valandų poveikio išaugo tik *K. pneumoniae*. Boro rūgštis yra bespalvė kristalinė medžiaga arba tirpios vandenyje baltos spalvos granulės/milteliai. Naudojamas medicinoje ir pramonėje. Mokslinėse studijose nustatyta 12500 mg/L ir 25000 mg/L boro rūgšties koncentracijų priešgrybelinis – prieš *Candida albicans* ir priešbakterinis – prieš *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus spp.*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella spp.*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.* ir *Serratia spp.* veikimas [12]. *Staphylococcus aureus* ir *Acinetobacter septicus* boro rūgščiai yra jautresnės, lyginant su *Escherichia coli* ir *Pseudomonas aeruginosa*, mažiausioji slopinančioji boro rūgšties koncentracija (MSK) *Staphylococcus aureus* atžvilgiu yra 3,80 mg/L, *Acinetobacter septicus* – 3,80 mg/L, *Escherichia coli* – 7,60 mg/L ir *Pseudomonas aeruginosa* atžvilgiu yra 7,60 mg/L [13].

Tyrimo rezultatai rodo, kad akių infekcijos rizikos galima išvengti naudojant kontaktinių lęšių tirpalus, kuriuose yra kelios antimikrobiškai veikiančios sudedamosios dalys. Lęšius tirpaluose reikia laikyti 2 – 4 val.

Išvados

1. Kontaktinių lęšių tirpalų antimikrobines savybes lemia kelių sudedamųjų dalių sinergistinis antimikrobinis poveikis dažniausiai akims pavojingiems infekcinių ligų sukėlėjams. Poliheksametilenbiguanido 0,0001 proc. tirpalas silpniau veikia mikroorganizmus, lyginant su didesnės koncentracijos poliheksametilenbiguanido tirpalais, savo sudėtyje turinčiais ramunėlių ar alavijo.

2. Kontaktinių lęšių tirpalų antimikrobinį poveikį lemia jo sudėtis: stipriausiai antimikrobiškai veikė kontaktinių lęšių tirpalas su 3 proc. vandenilio peroksido. 30 min. poveikio trukmėje buvo sunaikintos visos tirtos bakterijos, išskyrus *Escherichia coli*, kurios žuvo 1 val. poveikio trukmėje; kontaktinių lęšių tirpalas su 0,0002 proc. poliheksametilenbiguanido ir alavijo visų bakterijų koncentracija reikšmingai sumažino per 30 min., po 2 val. žuvo visos bakterijos. Kontaktinių lęšių tirpalas su boro rūgštimi veikia panašiai, kaip ir kontaktinių lęšių tirpalas su 0,0002 proc. poliheksametilenbiguanido ir alaviju, tačiau visos bakterijos buvo sunaikintos po 6-8 val. tirpalo poveikio; poliheksametilenbiguanido 0,0001 proc. tirpalas tirtų bakterijų atžvilgiu turėjo silpniausią antimikrobinį poveikį: bakterijų kiekis

tirpale palaiapsniui mažėjo, tačiau po 8 val. poveikio tirpale bakterijų buvo $1,79 \times 10^6 - 2,87 \times 10^7$ bakterijų/ml. Poliheksametilenbiguanido 0,00015 proc. su ramunėlėmis tirpalo antimikrobinis poveikis panašus, kaip ir poliheksametilenbiguanido 0,0001 proc. poveikis, tačiau jau po 8 val. poveikio neišaugo *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* ir *Bacillus cereus*.

3. Akių infekcijos rizikos galima išvengti naudojant poliheksametilenbiguanido 0,0002 proc. tirpalą su alaviju ar kontaktinių lęšių tirpalus, kurių sudėtyje yra 3 proc. vandenilio peroksido. Lęšius tirpaluose reikia laikyti 2 – 4 val.

Literatūra

- Boyd K. Contact lens-related eye infections. Reviewed By: Brenda Pagan-Duran MD Apr. 25, 2018. <https://www.aao.org/eye-health/diseases/contact-lens-related-eye-infections>
- Morgan PB, Woods CA, Tranoudis IG et oll. International contact lens prescribing in 2017. Our 17th annual report in Contact Lens Spectrum reveals current global trends in contact lens prescribing. Contact Lens Spectrum 2018;33:28-33.
- Kemsley J. What's that stuff? Contact lens solutions. Companies strive to balance ingredients in one-step, user-friendly solutions. Chemical & Engineering News 2008;86(43):71.
- Pravin T. Care and maintenance of contact lens – an overview. Kerala Journal of Ophthalmology 2009;21(3):294-303.
- Finnegan S, Percival SL. (2015) EDTA: an antimicrobial and antibiofilm agent for use in wound care. Advances in Wound Care 2015;4(7):415-421. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0577>
- Ismail MC, Waleed S, Ibrahim K, Fakhri NU. Synergistic interaction between Chamomile flower (*Matricaria chamomilla* L.) extracts and tetracycline against wound infection bacteria. J Al-Nahrain Univ 2013;16:191-195. <https://doi.org/10.22401/JNUS.16.3.27>
- Kazemi M. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Matricaria chamomilla*. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences 2014;3(2):148-153.
- Athiban PP, Borthakur BJ, Ganesan S, Swathika B. Evaluation of antimicrobial efficacy of Aloe vera and its effectiveness in decontaminating gutta percha cones. Journal of Conservative Dentistry 2012;15(3):246. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.97949>
- Karumari JR, Vijayalakshmi K, Tamilarasi L, Balasubramanian E. Antibacterial activity of leaf extracts of Aloe Vera, Ocimum Sanctum and Sesbania Grandiflora against the Gram positive bacteria. Asian Journal of Biomedical and Pharma 2014;4(35):60-63.
- Saha AK, Haque MF, Karmaker S, Mohanta MK. Antibacterial effects of some antiseptics and disinfectants. Journal of Life and Earth Science 2009;3:19-21.
- Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ. Efficacy of improved hydrogen peroxide against important healthcare associated pathogens. Infection Control & Hospital Epidemiology 2012;33(11):1159-1161. <https://doi.org/10.1086/668014>
- De Seta F, Schmidt M, Vu B, Essmann M, Larsen B. Antifungal mechanisms supporting boric acid therapy of *Candida* vaginitis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2008;63(2):325-336. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn486>
- Yilmaz MT. Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of boron compounds against several bacterial strains. Turkish Journal of Medical Sciences 2012;2:1423-1429.

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF CONTACT LAYERS OF DIFFERENT COMPOSITION

Ž. Maželienė, I. Dumšytė, J. Kirvaitienė, I. Viliušienė

Key words: contact lens solutions, eye infection, antimicrobial effects of contact lens solutions, bacteria.

Summary

Introduction. The risk of eye infection is increasing with the increase in the number of contact lens wearers. Contact lens solutions are tools for rinsing contact lenses, cleaning dirt, dispensing, disinfecting (destroying microorganisms), moisturizing and storing. The composition of the contact lens solutions determines their different antimicrobial properties.

Aim. Determine the antimicrobial action of contact lens fluids in different time intervals of their exposure to reference bacterial cultures.

Materials and methods. Antimicrobial effects of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC

11778 were determined in a microbiological study. The bacterial cultures were exposed to different contact lens solutions 0.5 hour, 1 hour, 2 hours, 4 hours, 6 hours, 8 hours and then the remaining amount of viable bacteria in the test solution was determined.

Results. The antimicrobial properties of contact lens solutions are determined by the synergistic antimicrobial effects of the multi-ingredient components in the most commonly infected ocular pathogens. The weakest bacteria were the 0.0001% polyhexamethylene-biguanide solution. The antimicrobial effect of the polyhexamethylene-biguanide solution was enhanced by increasing its concentration and adding chamomile or aloe vera to the solution. Polyhexamethylene-biguanide 0.0002 percent the solution with aloe vera and the contact lens solution with boric acid works similarly to the polyhexamethylene-biguanide 0.0002% solution with aloe vera, but all bacteria were destroyed after 6-8 hours effects. The strongest antimicrobial effect was on the contact lens solution with 3%. Hydrogen peroxide, which in a time of 30 min. - 1 hour destroyed all tested bacteria.

Conclusion. Eye contamination can be prevented by using contact lenses of polyhexamethylene-biguanide at 0.0002 percent. solution for aloe vera or contact lens solutions containing 3% hydrogen peroxide. Lenses should be stored in solutions for 2 to 4 hours.

Correspondence to: zaneta.mazeliene@gmail.com