

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
FIZIKAS UN MATEMĀTIKAS FAKULTĀTE
OPTOMETRIJAS UN REDZES ZINĀTNES NODAĻA

**MĪKSTO KONTAKTLĒCU KOPŠANAS ŠĶĪDUMU
ANTIMIKROBĀS AKTIVITĀTES SALĪDZINĀJUMS**

MAGISTRA DARBS

Autors: **Margarita Gricaja**

Studenta apliecības Nr. mg12035

Darba vadītājs: vad.pētniece Dr.habil.med.Aija Žileviča

RĪGA 2017

ANOTĀCIJA

Maģistra darbs ir uzrakstīts latviešu valodā.

Mērķis: novērtēt dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu dezinficējošo aktivitāti un to ietekmējošos faktorus.

Uzdevumi:

Novērtēt ekspozīcijas laika un uzglabāšanas temperatūras ietekmi uz kontaktlēcu kopšanas šķīduma darbības efektivitāti pret *S.epidermidis*.

Metode: tika veikti mikrobioloģiskie uzsējumi un izaugušo koloniju uzskaitījums. Šķīduma efektivitāte tika pārbaudīta atkarībā no ekspozīcijas laika (30 minūtes, ražotāja ieteiktais minimālais dezinfekcijas laiks, diennakts, 3, 7 un 30 dienas) pie 22-23°C un 5-6°C temperatūras.

Rezultāti:

Visi līdzekļi uzrāda baktericīdu iedarbību pret *S.epidermidis* un saglabā šo efektu ilgtermiņā.

Mīksto kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitāti ietekmē ekspozīcijas laiks un uzglabāšanas temperatūra.

Uzglabāšana pie zemām temperatūrām (5-6°C) negatīvi ietekmē parauga mikrobioloģisko piesārņojuma līmeņa samazināšanos.

Atslēgas vārdi:

S.epidermidis, kontaktlēcu kopšanas šķīdums, mīkstās kontaktlēcas, dezinfekcija

ABSTRACT

The Master thesis is written in Latvian.

Purpose: to evaluate the antimicrobial efficacy of contact lens solutions against *S.epidermidis* and its influencing factors.

Tasks: to determine the effect of exposure time and storage temperature on the efficacy of contact lens solutions against *S.epidermidis*.

Methods: microbiological plating and colony counting methods. Solution efficacy check depending on exposure time (30 minutes, manufacturer's minimum recommended disinfection time, day, 3, 7 and 30 days) under 22-23°C and 5-6°C.

Results:

All contact lens solutions show bactericidal activity against *S.epidermidis* and the effect continues for a prolonged period of storage time.

Performance of soft contact lens solutions is affected by exposure time and storage temperature.

Storage at low temperatures (5-6°C) negatively affects the reduction of microbial contamination of sample.

Key words *S.epidermidis*, contact lens solution, soft contact lenses, disinfection

SATURS

APZĪMĒJUMU SARAKSTS	1
IEVADS	2
1. LITERATŪRAS PĀRSKATS	3
1.1. Kontaktlēcu lietošana kā potenciāls acs infekcijas avots	3
1.1.1. Acs infekcijas kontaktlēcu lietotājiem	3
1.1.1.1. Keratīts	3
1.1.2. Kontaktlēcu mikrobioloģiskais piesārņojums.....	4
1.1.3. Kontaktlēcu kopšanas šķīdumu mikrobioloģiskais piesārņojums	5
1.1.4. Kontaktlēcu uzglabāšanas konteineru mikrobioloģiskais piesārņojums	7
1.2. Kontaktlēcu kopšana un uzglabāšana	7
1.2.1. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma sastāvs	7
1.2.1.1. Ūdeņraža peroksīds	8
1.2.1.2. Poliheksametilēnbiguanīds (PHMB).....	8
1.2.1.3. Polikvaternijs – 1.....	8
1.2.1.4. Aldox.....	8
1.2.1.5. Oksihlorīta komplekss.....	8
1.2.2. Kontaktlēcu valkātāju līdzestība	9
1.3. Kontaktlēcu kopšanas šķīdumu dezinfekcijas aktivitāte	9
1.3.1. Kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes izmeklējuma standarts (ISO 14729).....	9
1.3.2. Dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes salīdzinājums.....	11
1.3.3.1. Mikroorganisma īpašības	14
1.3.3.2. Kopšanas šķīduma dezinfekcijas aktivitāte pret biofilmā esošajām baktērijām ...	14
1.3.3.3. Organiskās piedevas	15
1.3.3.4. Uzglabāšanas nosacījumi	15
1.4.3.1. Iedarbības laiks.....	16
1.3.5. Kontaktlēcu kopšanas sistēmas ietekme uz konteineru mikrobioloģisko piesārņojumu	16
2.1. Materiāli un metodes	18
2.1.1. Izmantotie materiāli: kontaktlēcu kopšanas šķīdumi.....	19
2.1.2. Mikroorganisma izvēle.....	21
2.1.3. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitātes novērtējums ar disku difūzijas metodi	23
2.1.4. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitātes novērtējums. Inficēšana ar nolūku. ..	24
2.1.4.4. Mikrobioloģisks uzsējums.....	26
2.1.5. Statistiskā analīze	27
2.1.6. Dezinfekcijas kinētika, Chick-Watson modelis	27

2.2 REZULTĀTI	28
2.2.1. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitātes novērtējums ar disku difūzijas metodi.	28
2.2.2. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitātes novērtējums <i>in vitro</i>	29
2.2.2.a Sākotnējā <i>S.epidermidis</i> koncentrācija paraugā $1,5 * 10^4$ KVV/ml.	29
2.2.2.b Sākotnējā <i>S.epidermidis</i> koncentrācija paraugā $0,5 * 10^6$ KVV/ml.....	32
2.2.3. <i>S.epidermidis</i> iznīcināšanas dinamika.....	39
DISKUSIJA	44
SECINĀJUMI	49
NOBEIGUMS	50
PATEICĪBAS	51
LITERATŪRAS SARAKSTS	52
1.PIELIKUMS	56
2. PIELIKUMS	57
3.PIELIKUMS	58

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

Gr+ – Gram pozitīvs

Gr- – Gram negatīvs

ISO – Starptautiskā standartizācijas organizācija (angļu val., International Organization for Standardization)

FDA – Pārtikas un zāļu pārvalde (angļu val., Food and Drug Administration)

PHMB – poliheksametilēnbiguanīds (angļu val., Polyhexamethylene biguanide)

CFU – koloniju veidojošās vienības, KVV (angļu val., Colony forming units)

IEVADS

Mūsdienās, kad steidzīgs dzīves ritms kļuvis par cilvēka ikdienu, aizvien populārāka kļūst kontaktkorekcija. Precīzus skaitļus ir grūti nosaukt, bet vairāk kā 125 miljoni cilvēku pasaulē ir kontaktlēcu lietotāji, un to skaits nepārtraukti palielinās. Savukārt, palielinoties kontaktlēcu lietotāju īpatsvaram, attiecīgi biežāk parādās acu infekciju gadījumi.

Ārvalstu pētījumi liecina, ka aptuveni 5% kontaktlēcu valkātāju ik gadu saskaras ar komplikācijām, ko inducē kontaktlēcu lietošana (Iguban et al., 2013). Kontaktlēcu mikrobioloģisko piesārņojumu asociē ar akūtu sarkano aci, radzenes perifērām čūlām un infiltratīviem keratītiem (Szczotka-Flynn et al., 2010).

Kontaktlēcas mikrobioloģiskais piesārņojums tiek uzskatīts par vienu no galvenajiem acu slimību riska faktoriem, bet kontaktlēcu kopšanas šķīdumu darbības aktivitāte tieši ietekmē kontaktlēcas un to aksesuāru mikrobioloģiskā piesārņojuma līmeņa samazināšanos.

Maģistra darba mērķis: novērtēt dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu dezinficējošās aktivitātes ietekmējošos faktoros.

Maģistra darba mērķa īstenošanai tika izvirzīti sekojošie uzdevumi:

1. Noteikt 7 dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu iedarbību uz *S.epidermidis*.
2. Novērtēt ekspozīcijas laika ietekmi uz kontaktlēcu kopšanas šķīduma darbības efektivitāti.
3. Noteikt uzglabāšanas temperatūras ietekmi uz kontaktlēcu kopšanas šķīduma dezinfekcijas efektivitāti.

Kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtēšanai tika pagatavots *S.epidermidis* suspensijas un attiecīgā līdzekļa maisījums. Pēc konkrēta ekspozīcijas laika tika veikti tika veikti mikrobioloģiski uzsējumi Par šķīduma efektivitāti tika spriests, balstoties uz izaugušo koloniju skaitu un to samazinājumu atkarībā no ekspozīcijas laika. Eksperiments tika veikts laboratorijas apstākļos. Maģistra darba rezultāti tika analizēti, pamatojoties uz ārvalstu zinātniskajām publikācijām un pētījumiem.

1. LITERATŪRAS PĀRSKATS

1.1. Kontaktlēcu lietošana kā potenciāls acs infekcijas avots

1.1.1. Acs infekcijas kontaktlēcu lietotājiem

Dati liecina, ka aptuveni 5% kontaktlēcu valkātāju ik gadu saskaras ar komplikācijām, ko inducē kontaktlēcu lietošana (Iguban et al., 2013). Kontaktlēcas virsmas bakteriālais piesārņojums visbiežāk tiek asociēts ar tādām komplikācijām kā kontaktlēcu radīta akūta sarkanā acs, radzenes perifērā čūla un infiltratīvie keratīti. Jāatzīmē, ka tikai 40% gadījumu kontaktlēcas ir sterilas *in vivo* (Szczotka-Flynn et al., 2010).

Balstoties uz ārvalstu pētījumu rezultātiem, var apgavot, ka viens no galvenajiem konjunktīvas bakteriālo infekciju avotiem ir cilvēka normālās mikrofloras pārstāvji: koagulāzes negatīvie stafilokoki (*S.epidermidis*) un *S.aureus* (Sowmiya et al., 2011). Jāatzīmē, ka no kontaktlēcām izolēto mikroorganismu daudzveidība ir liela (Lee et al. (2014), taču visbiežāk tiek konstatēti normālās mikrofloras pārstāvji, dominē *S.epidermidis*. (50%).

1.1.1.1. Keratīts

Par bīstamāko saslimšanu, kas potenciāli var novest pie akluma, tiek uzskatīts mikrobu keratīts. Tā predisponējoši faktori ir acs priekšējo daļu traumas un infekcijas, ķirurģiskā iejaukšanās, sausās acs sindroms, vispārējās organisma saslimšanas (diabēts, imūndeficīts, vairogdziedzera slimības). Par dominējošajiem mikroorganismiem, kuri izraisa keratītu tiek uzskatītas Gr+ baktērijas un *P.aeruginosa* (Iguban et al., 2013). Savukārt svarīgākie novēršamie riska faktori ir kontaktlēcu lietošana pagarinātā, diennakts vai nepārtrauktā režīmā, smēķēšana, kontaktlēcu plaša pieejamība internetā, izvairīšanās no atkārtotajām vizītēm pie speciālista un higiēnas normu neievērošana (Stapleton & Carnt, 2012).

Ik gadu keratīts skar vidēji 4-5 no 10 000 mīksto kontaktlēcu lietotāju (Stapleton et al., 2008, Lee et al., 2014). Balstoties uz Stapleton & Carnt (2012) literatūras analīzi, kas ietver gan klīnisko pētījumu datus, gan telefona aptauju apkopojumu, gan gadījumu uzskaiti optometristu un oftalmologu prakses vietās, rezultāti ir variabli un atkarīgi no vairākiem apstākļiem. Keratīta gadījumu skaits starp vecās paaudzes hidrogēla kontaktlēcu lietotājiem sasniedz īpaši augstus rādītājus: 1 gadījums uz 500 kontaktlēcu lietotājiem katru gadu. Tikpat augsta statistika ir starp

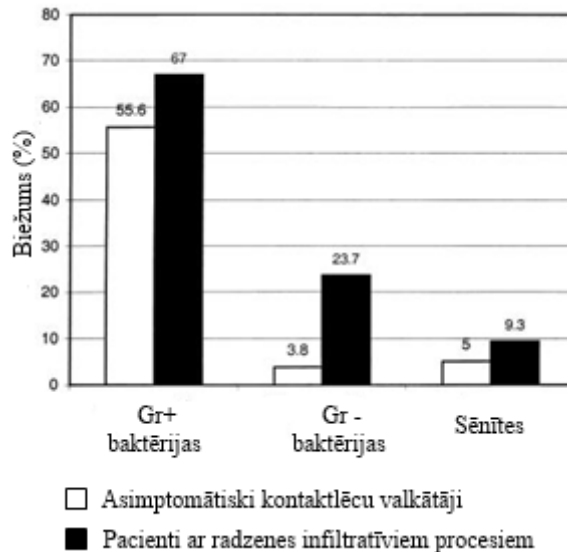
mīksto silikonhidrogēla nepārtrauktā nēsāšanas režīma kontaktlēcu valkātājiem. Vidēji smagas un smagas keratīta formas konstatē apmērām 0,5 - 1,1 no 10 000 cilvēku, kuri nēsā kontaktlēcas dienas režīmā.

1.1.2. Kontaktlēcu mikrobioloģiskais piesārņojums

No kontaktlēcām izolēto mikroorganismu spektrs ir ļoti plašs. *Lee et al.* (2014) pētījumā ietvaros tika izmeklētas 67 kontaktlēcas, kuras paņemtas no asimptomātiskiem valkātājiem, un 42% gadījumu tika konstatēts bakteriāls piesārņojums. Aptuveni no 89% kontaktlēcu tika izolētas Gr- nūjiņveida baktērijas (*Vibrio* un *Aeromonas* ģints pārstāvji). Paralēli mikrobioloģiskam izmeklējumam tika veikta eksperimenta dalībnieku aptauja - tika noskaidrots, ka 97% dalībnieku mazgāja rokas ar ūdeni. Krāna ūdens, iespējams, bija izolēto mikrobu avots, it īpaši tiem eksperimenta dalībniekiem, kuri rūpīgi nežāvēja rokas. Autors norādīja, ka citu autoru pētījumu rezultāti ir atšķirīgi.

Apkopojot vairāku autoru pētījumu rezultātus, aptuveni no 50% nēsāto mīksto kontaktlēcu izolē normālās ādas un plakstu mikrofloras pārstāvjus: KONS, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* un *Bacillus* sugas. Dominējošā baktērija ir *S.epidermidis*. Gr-baktērijas un citi patogēni mikroorganismi tiek izolēti retāk un mazākajā skaitā - to īpatsvars variē no 2 līdz 20% (*Szczotka-Flynn et al.,2010*).

Sankaridurg et al. (2010) rezultāti bija līdzīgi: no asimptomātisko pacientu kontaktlēcām visbiežāk tika izolētas Gr+ baktērijas: *S.epidermidis* – 41%, *Corynebacterium* un *Micrococcus* sugas – aptuveni 9%, *S.aureus* – 6,3% gadījumu. Gr- baktērijas tika izolētas 3,8% gadījumu. Pacienti ar radzenes infiltratīviem procesiem (CIE) visbiežāk tika izolētās *S.epidermidis* (40,7%), *Corynebacterium* sugas (12,7%), *S.aureus* (9,3%), *Bacillus* sugas (8,5%) un *S.pneumonia* (7,6%). (skat.1.1.att.) Svarīgi atzīmēt, ka salīdzinājumā ar asimptomātisku grupu uz CIE pacientu kontaktlēcām biežāk konstatētas Gr- baktērijas (3,8% un attiecīgi 23,7%) un *S.pneumonia* (0,6% un attiecīgi 7.6 % gadījumu).



1.1.att. Gr+, Gr- baktēriju un sēnīšu sastopamības biežums (procentos) uz kontaktlēcām asimptomātiskiem lietotājiem (baltais stabiņš) un pacientiem ar radzenes infiltratīviem procesiem (melns stabiņš). Tika izmeklētas 4321 kontaktlēcas no 330 subjektiem (*Sankaridurg et al., 2010*).

Ja kontaktlēcas piesārņojums ir konstatēts, tad vidējais mikroorganismu koloniju veidojošo vienību skaits parasti ir ļoti zems – visbiežāk ar mediānu zem 5-10 KVV uz lēcas virsmas. Jāatzīmē, ka šis rādītājs var sasniegt līdz pat $9.3 \cdot 10^5$ KVV/lēca (tas ir pie nosacījuma, ka kontaktlēca tiek izņemta no acs aseptiski, norāda *Szczotka-Flynn et al. (2010)*). Tā, piemēram, augstāk minētajā *Sankaridurg et al. (2000)* pētījumā tika paņemti 4200 asimptomātisko pacientu kontaktlēcu paraugi (kontaktlēcas tika lietotas pagarinātajā režīmā), un rezultāti liecināja, ka komensālie mikroorganismi (Gr+ baktērijas) veido aptuveni 15 KVV uz lēcas, savukārt patogēna flora (*Streptococcus pneumoniae*) - 140 KVV/lēca.

1.1.3. Kontaktlēcu kopšanas šķīdumu mikrobioloģiskais piesārņojums

Kontaktlēcu kopšanas sistēmu pudeles var viegli kļūt par avotu mikrobiem, kas var piesārņot kontaktlēcu uzglabāšanas konteinerus, adherēties pie kontaktlēcas, tādējādi nodrošinot acij tiešu kontaktu ar infekcijas ierosinātāju, un līdz ar to izsaukt acs iekaisuma reakciju. Turklāt šie mikroorganismi var kalpot kā barības avots citiem patogeniem organismiem, piemēram, akantamēbām. Patiesībā akantamēbas praktiski vienmēr tiek atrastas kontaktlēcu konteineros un kopšanas šķīdumos, kuri satur baktērijas vai sēnītes.

Mikrobioloģisko piesārņojumu konstatē visu tipu kopšanas šķīdumos, ieskaitot ūdeņraža peroksīda kopšanas sistēmas un pat neatvērtas, rūpnīcā iepakotas, pudeles. Eksperimentāli noskaidrots, ka visi konservantus nesaturoši fizioloģiskā šķīduma paraugi, ko savā ikdienā izmanto kontaktlēcu valkātāji, bija nesterili. Konservantus nesaturošām kopšanas sistēmām mikrobioloģiskais piesārņojums variēja no 25% līdz pat 82%, savukārt no konservantu saturošajiem šķīdumiem mikroorganismi tika izolēti aptuveni 30% gadījumu (*Szczotka-Flynn et al.*, 2010).

Kontaktlēcu kopšanas šķīdumos mikroorganismu skaits parasti ir tipiski zems (mazāks par 300 koloniju veidojošām vienībām uz mililitru), taču tas viegli var pārsniegt 10^5 KVV/ml. Jo ilgāks laiks kopš kontaktlēcu kopšanas šķīduma pudeles atvēršanas, jo piesārņojuma risks ir lielāks. Jau pēc 5 dienām paraugos tiek konstatēta mikroorganismu augšana (*Szczotka-Flynn et al.*, 2010).

Bezkonserantu šķīdumos piesārņojums sasniedz veselībai bīstamu robežu pēc nedēļas kopš atvēršanas. Visbiežāk tiek izolētas Gr- baktērijas. Pretēji bezkonserantu kopšanas sistēmām, konservantus saturošie šķīdumi tipiski tiek piesārņoti ar Gr+ baktēriju sugām. *Sweeney et al.* (1999) pētījumā noskaidrots, ka vairāk kā no puses (53%) paraugu tika izolēti KONS, bieži *Bacillus* un *Corynebacteria* sugas (attiecīgi 22% un 19%), *Pseudomonas* tika konstatētas 4% gadījumu un sevišķi reti paraugos tika atrastas sēnītes. Apkopojot vairāku pētījumu rezultātus, visbiežāk tiek izolēti cilvēka normālās mikrofloras pārstāvji – koagulāzes negatīvie stafilokoki jeb KONS, taču nereti konstatē tādas patogēnas baktērijas kā *S.marcenscens* un *P.aeruginosa* (*Szczotka-Flynn et al.*, 2010).

Izolēto mikroorganismu daudzveidība un skaits ir atkarīgs no ģeogrāfiskiem un klimatiskiem faktoriem. Tā, piemēram, *Iguban et al* (2013) skaidro kopšanas līdzekļu augsto piesārņojuma līmeni ne tikai ar cilvēka līdzestības trūkumu, bet arī ar mitrā klimata ilgstošo iedarbību (jānorāda, ka pētījums tika veikts Filipīnās)

Svarīgi atzīmēt, ka rekomendējamais atvērto kopšanas līdzekļu derīguma termiņš nav speciāli reglamentēts katrai valstij, balstoties uz dažādu reģionu klimatiskiem apstākļiem un sezonālām īpatnībām.

1.1.4. Kontaktlēcu uzglabāšanas konteineru mikrobioloģiskais piesārņojums

Kontaktlēcu konteiners ir potenciālais baktēriju avots. Izanalizējot vairāku autoru pētījumu rezultātus, *Wu et al.* (2015) apgalvo, ka kontaktlēcu konteineri nav sterili no 30% līdz pat 80% gadījumu. Pie līdzīga secinājuma nonāk *Szczotka-Flynn et al.* (2010), proti, konteineru piesārņojums konstatēts 24-81% gadījumu. Bieži vien konteiners ir visvairāk piesārņotais kontaktlēcu kopšanas aksesuārs – tā piesārņojuma līmenis vidēji sasniedz 10^6 KVV (*Wu et al.*, 2015).

Kontaktlēcu konteineru mikrobioloģiskais piesārņojums visvairāk atkarīgs no tādiem faktoriem kā tīrīšanas algoritms, dezinfekcijas līdzekļa aktivitāte un konteineru iekšējās sienas dizains (*Wu et al.*, 2015).

1.2. Kontaktlēcu kopšana un uzglabāšana

1.2.1. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma sastāvs

Kontaktlēcu kopšanas šķīdums pamatā sastāv no biocīda, kuram piemīt dezinfektanta, konservanta un antibiotiskās īpašības, mitrinošajiem aģentiem un bufersistēmas, kas nodrošina stabilu pH.

Aktīvās vielas nodrošina 3 pamatfunkcijas: attīrīšanu, dezinfekciju un uzglabāšanu. Optimālajam kopšanas šķīdumam jābūt pietiekami efektīvam, lai iznīcinātu patogēnu floru, bet arī pietiekami saudzīgam pret acs virsmu (*Kuzman et al.*, 2008, *Jones & Senchyna*, 2007). Ideāls kontaktlēcu kopšanas šķīdums atbilst sekojošiem nosacījumiem:

1. efektīvi iznīcina patogēnus mikroorganismus;
2. acs audiem netoksisks;
3. saderīgs ar dažādiem kontaktlēcu materiāliem;
4. vienkārši lietojams;
5. minimizē asaru proteīnu nogulsnešanos uz kontaktlēcas virsmas;
6. ātri iedarbīgs (*Jones & Senchyna*, 2007).

1.2.1.1. Ūdeņraža peroksīds

Ūdeņraža peroksīds ir spēcīgs oksidējošais aģents, kas kompleksi iedarbojas uz mikroorganisma šūnu – šķeļ olbaltumvielas, lipīdus, iejaucas DNS, tādējādi nodrošinot šūnas bojāeju. H_2O_2 ir apkārtējai videi draudzīgs – tas sadalās līds skābeklim (O_2) un ūdenim (H_2O).

H_2O_2 nodrošina plašu efektivitātes spektru – tas ir efektīvs pret vīrusiem, baktērijām, raugveida sēnēm. Pie lielākas koncentrācijas (10-30%) un/vai ilgāka iedarbības laika uzrāda efektivitāti arī pret baktēriju sporām. Stiprāka aktivitāte novērojama pret Gr+ baktērijām (McDonnel & Russel, 1999).

1.2.1.2. Poliheksametilēnbiguanīds (PHMB)

Aktīvai vielai PHMB ir vairāki sinonīmi - poliheksanīds, poliheksidīns, poliaminopropilbiguanīds, kā arī ir piešķirti tirdzniecības nosaukumi - *Dymed*, *TrisChem*. Darbības princips ir piesaistīšanās pie mikroorganisma plazmatiskajā membrānā esošajiem fosfolipīdiem, kas noved pie membrānas destrukcijas un izsauc šūnas lizēšanos. PHMB uzrāda augstu efektivitāti ir plašu mikroorganismu spektru (Jones & Senchyna, 2007).

1.2.1.3. Polikvatērijs – 1

Polikvatērijs – 1 ir zināms zem nosaukuma polikvads. Darbības mehānisms ir līdzīgs PHMB (proti, izjauc mikrobu šūnas plazmatisko membrānu). Pateicoties lielākam molekulāram svaram, tā molekulas nepenterē kontaktlēcas materiālā (Jones & Senchyna, 2007), līdz ar to pastāv mazāks alerģisko reakciju risks kontaktlēcu lietotājiem. Polikvads pārsvara uzrāda labu antibakteriālo aktivitāti.

1.2.1.4. Aldox

Aldox ir ražotāja patentētais nosaukums konservantam *myristamidopropyl dimethylamine*. Tam piemīt laba aktivitāte pret sēnītēm un viensūņiem (Jones & Senchyna, 2008).

1.2.1.5. Oksihlorīta komplekss

Stabilu oksihlorīta kompleksu veido NaCl un H_2O_2 , bet tā sabrukšanas gala produkti ir ūdens, skābeklis un sāls. *Oxipol* ir bezkonservantu sistēma, kas apvieno sevī biocīda, mitrinātāja un surfaktanta īpašības. Efektīvs pret baktērijām un sēnītēm.

1.2.2. Kontaktlēcu valkātāju līdzestība

Zem termina līdzestība kontaktkorekcijas praksē ir apvienota liela grupa dažādu pasākumu. Visbiežāk zinātniskajos pētījumos kontaktlēcu lietotāju līdzestība nozīmē sekošanu ražotāja norādītai instrukcijai un vispārpieņemtām FDA izstrādātām kontaktlēcu kopšanas un uzglabāšanas rekomendācijām. Kontaktkorekcijas pacienti ik dienu ir pakļauti acu slimību riskam, it īpaši gadījumos, ja netiek ievērotas kontaktlēcu kopšanas procedūras.

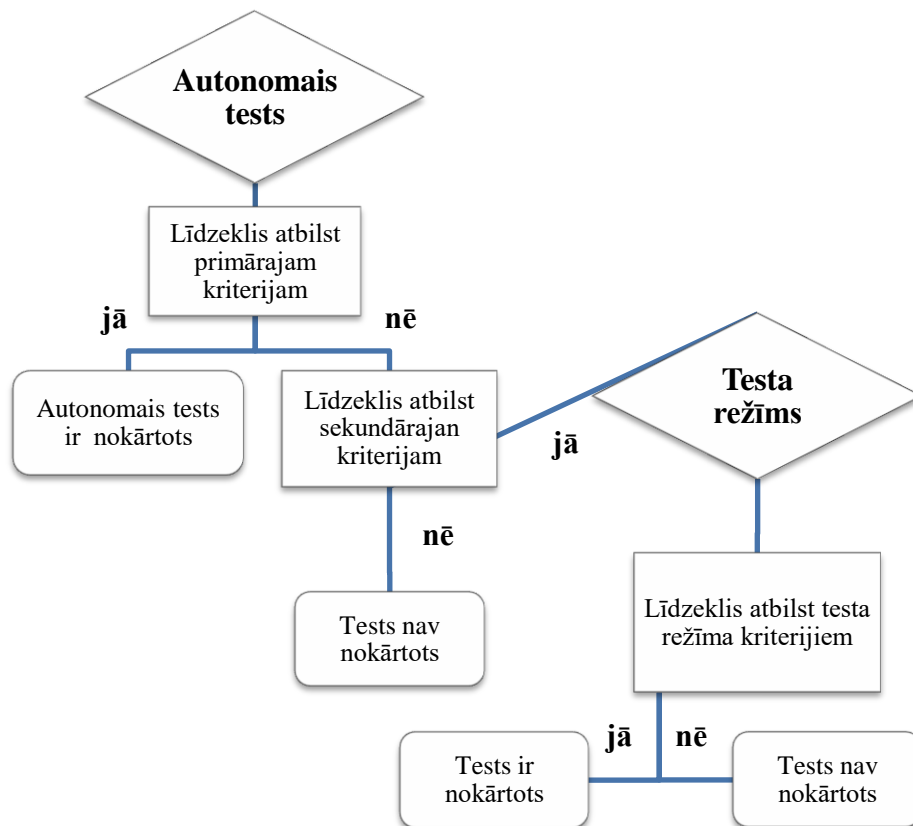
Par visbiežāk sastopamām kļūdām kontaktlēcu lietotāju tika atzīta slihta roku higiēna, neadekvāta kontaktlēcu kopšana un izvairīšanās no atkārtotām vizītēm (*Wu et al.*, 2010b) Tā, piemēram, *Claydon & Efron* (1994) ir veikuši vairāku pētnieku aptauju apkopojumu, un rezultāti ir pārsteidzoši. No 40 līdz pat 91% kontaktlēcu valkātāju ir nelīdzestīgi. Piemēram, neregulāru kontaktlēcu tīrīšanu konstatē vidēji 36% lietotāju, savukārt 30% kontaktlēcu valkātāju izlaiž lēcas mehānisko tīrīšanu pirms dezinfekcijas etapa un 44% no tiem nemazgā rokas pirms lēcas ielikšanas vai izņemšanas (*Claydon & Efron*, 1994, *Turner et al.*, 1998).

Iepriekš minēju, ka kontaktlēcu kopšanas šķīduma piesārņojuma līmenis asimptomātiskiem kontaktlēcu valkātājiem parasti ir zems (mazāks par 300 (KVV/ml). Lai pamanītu šķīduma duļķainību, piesārņojuma līmenim jāsasniedz 10^6 KVV/ml, taču jāuzmanās, ka nepieredzējis cilvēks to var neatklāt ar neapbruņoto aci. Jāsecina, ka nav iespējams iemācīt pacientu spriest par potenciālu šķīduma piesārņojumu, balstoties uz šķīduma duļķainību (*Szczotka-Flynn et al.*, 2010).

1.3. Kontaktlēcu kopšanas šķīdumu dezinfekcijas aktivitāte

1.3.1. Kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes izmeklējuma standarts (ISO 14729)

Pasaulē ir pieņemts, ka kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes izmeklējums tiek veikts, balstoties uz Starptautiskās Standartizācijas organizācijas (ISO) kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes noteikšanas standartu nr.14729 (sk.1.2.att.).



1.2. att. Jaunā kontaktlēcu kopšanas līdzekļa dezinfekcijas spējas novērtēšanas algoritms saskaņā ar ISO 14729 standartu (Rosenthal et al., 2002).

Lai izvērtētu kontaktlēcu kopšanas šķīduma dezinfekcijas efektivitāti, pirmkārt, tiek uzstādīti produkta kvalitātes kritēriji. Standarts paredz dezinfekcijas efektivitātes pārbaudi pret *F.solani*, *C.albicans*, *S.marcescens*, *P.aeruginosa* un *S.aureus*. Inkubācijas laiks ir ražotāja norādītais minimālais laiks, kas nepieciešams efektīvai kontaktlēcu dezinfekcijai. Produkta efektivitātes novērtēšana notiek vairākos posmos:

1. Autonoms jeb patstāvīgais tests.

Primārais kritērijs paredz, ka pēc inkubācijas laika izdzīvojošo baktēriju skaitam paraugos jāsamazinās vismaz par 99,9% (10^3 reizēs jeb 3 log redukcija), savukārt sēnīšu daudzumam par 90% (1 log redukcija). Ja autonomā testa primārā kritērija rezultāts ir apmierinošs, tad kontaktlēcu kopšanas šķīdumu var uzskatīt par dezinfekcijas līdzekli, un tālākie eksperimenta posmi neveikti.

Negatīvā rezultātā gadījumā jāveic papildus izmeklējums, balstoties uz sekundāro kritēriju, proti, kopējai mikroorganismu redukcijai jāsasniedz 5 log vienības pie nosacījuma, ka katra baktēriju suga ir sasniegusi 1 log samazinājumu. Ja rezultāts ir apmierinošs, tad pāriet pie nākamā izmeklējuma.

2. Testa režīms.

Testa būtība paredz kontaktlēcas tīrīšanu saskaņā ar ražotāja piedāvāto instrukciju, ievērojot nepieciešamo šķīduma daudzumu, rekomendējamo dezinfekcijas laiku, procedūras algoritmu: skalošanu, berzēšanu u.c. manipulācijas. Kopējam mikroorganismu skaitam uz kontaktlēcas vai kopšanas konteinerī ir jāsamazinās no 10^6 KVV līdz vismaz 10 KVV. Ja testa režīma rezultāti ir saskaņā ar standartu, izmeklējamais produkts var piedalīties kontaktlēcu dezinfekcijas programmā kā viens no kopšanas līdzekļiem (*Rosenthal et al.*, 2002).

Jāpiebilst, ka ISO noteiktajam standartam ir būtiski trūkumi. Neviens kontaktlēcu dezinfektants nedrīkst būt pozicionēts kā efektīvs bez skalošanas, berzēšanas un citu tīrīšanas manipulāciju veikšanas (*Rosenthal et al.*, 2000). Kopšanas līdzekli nevajadzētu uzskatīt par dezinfektantu, ja tika izpildīts pirmais autonomā testa kritērijs. Tā, piemēram, *Hildebrandt et al.* (2012) apgalvo, ka kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtēšanas standartā obligāti jāiekļauj reālistiskiem apstākļiem pietuvināts eksperiments.

1.3.2. Dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes salīdzinājums

Iguban et al. (2013) pētījuma mērķis bija salīdzināt daudzfunkcionālo kontaktlēcu kopšanas šķīdumu iedarbību pret biežākiem patogēniem. Tika pārbaudīti jauni, neatvērti 5 komerciāli pieejamie multifunkcionāli kontaktlēcu kopšanas šķīdumi, kuru sastāvā ir dažādas aktīvās vielas.

Tabulā nr.1 ir apkopota dažādu multifunkcionālu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitāte pret dažādiem mikroorganismiem (*P.aeruginosa*, *S.aureus*, *C.albicans*, *F.solani* un *E.coli*), ņemot vērā biežākos acu patogēnus un ISO izstrādātās rekomendācijas. Sākotnējā mikroorganismu koncentrācija katrā paraugā bija 10^8 KVV/ml. Balstoties uz mikroorganismu beigu koncentrāciju, šķīduma efektivitāte tika novērtēta kā augsta (koncentrācija nepārsniedz 10^2 KVV/ml), pietiekami laba (lielāka kā 10^2 , bet nepārsniedz 10^4 KVV/ml) un zema (virs 10^4 KVV/ml).

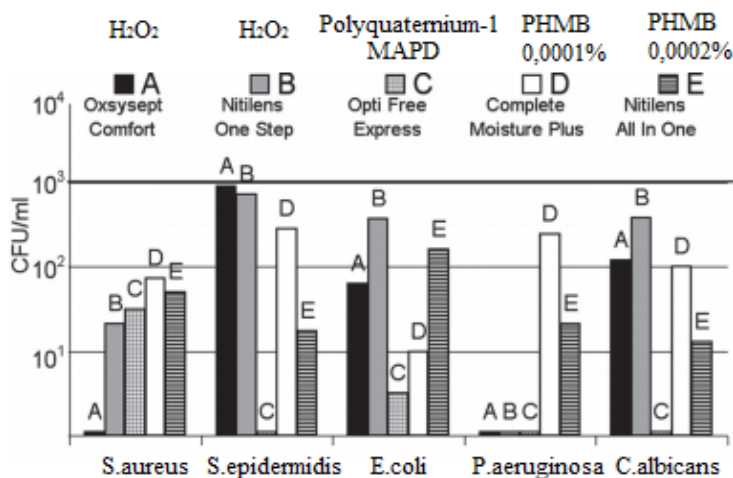
1.1. tabula

Multifunkcionālo kontaktlēcu kopšanas šķīdumu pretmikrobu aktivitāte (Iguban et al., 2013)

Dezinfektants	Pretmikrobu aktivitāte:		
	Augsta $\leq 10^2$ KVV/ml	Pietiekama $> 10^2 \leq 10^4$ KVV/ml	Zema
PHMB 0,00015% <i>All Comfort Plus</i>	<i>E.coli</i>	<i>C.albicans</i>	<i>S.aureus</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>F.solani</i>
PHMB 0,0002% <i>All Clean Soft</i>	<i>P.aeruginosa</i> <i>C.albicans</i> <i>E.coli</i>		
PHMB 0,0001% <i>Solo Care</i>	<i>P.aeruginosa</i> <i>C.albicans</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i> <i>F.solani</i>
Polikvaternijs 0,001% <i>Opti Free Express</i>	<i>S.aureus</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>E.coli</i> <i>C.albicans</i>		<i>F.solani</i>
Timerosols 0,001% <i>Septocare</i>	<i>E.coli</i>	<i>C.albicans</i>	<i>S.aureus</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>F.solani</i>

Hildebrandt et al. (2012) sava pētījuma ietvaros izmeklēja gan daudzfunkcionālo šķīdumu (*Opti free Replenish* un *Solo Care*), gan uz 3% ūdeņraža peroksīda bāzes veidoto kopšanas šķīdumu (*Aosept Plus*, *BlueVision*, *Easy Sept*) efektivitāti pret *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *S.marcescens*, *C.albicans*, *F.solani*. Autors pierādīja, ka polikvadu saturošais līdzeklis (*Opti Free Express*) ir efektīvāks nekā šķīdumi uz PHMB bāzes (*Solo Care*). Par efektīvāku dezinfekcijas līdzekli tika atzīta 3% peroksīda kopšanas sistēma *Aosept Plus*.

Kuzman et al. (2008) savā eksperimentā iekļāva *S.epidermidis*, *E.coli* un standartā minētos *P.aeruginosa*, *S.aureus* un *C.albicans*. Sākotnējā baktēriju koncentrācija paraugos bija 10^6 KVV/ml, savukārt sēnīšu koncentrācija – 10^4 KVV/ml. Rezultāti ir apkopoti 1.3. attēlā.



1.3. att. Baktēriju (*S.aureus*, *S.epidermidis*, *E.coli* un *P.aeruginosa*) un sēnīšu (*C.albicans*) daudzums (izteikts KVV/ml) pēc 8 stundu dezinfekcijas ar 5 dažādiem kontaktlēcu kopšanas šķīdumiem (A-E, norādīts nosaukums un aktīvā viela). Horizontālā līnija reprezentē minimālo redukciju (3 log vienības baktērijām un 1 log vienība sēnītēm), kāda jāsasniedz, lai līdzeklis tiktu atzīts par efektīvu saskaņā ar ISO 14729 standartu.

Autors pierādīja, ka visi kopšanas līdzekļi ir pietiekami efektīvi un atbilst starptautiski akceptētajam standartam. Vislabākā dezinfekcija tika panākta, izmantojot polikvadu saturošo šķīdumu *Opti Free Express*. Šis rezultāts ir salīdzināms ar *Iguban et al.* (2013) datiem.

Visu iepriekš minēti eksperimenti tika veikti saskaņā ar ISO pieņemto kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes noteikšanas standartu nr.14729, savukārt *Nzeako & Al-Sumri* (2011) maksimāli pielīdzināja eksperimentu reāliem apstākļiem, mēģinot atspoguļot reālā kontaktkorekcijas pacienta ikdienu. Obligāts nosacījums bija ievērot kontaktlēcu kopšanas noteikumus un ražotāja norādīto minimālo dezinfekcijas laiku. Tika noskaidrots, ka 40% lietoto kontaktlēcu kopšanas šķīdumu bija piesārņoti. 66% no tiem bija kopšanas līdzekļi uz PHMB bāzes. Balstoties uz rezultātiem, nebija iespējams spriest par efektīvāko kontaktlēcu kopšanas šķīdumu. Visbiežāk no konteinerī esošā šķīduma tika izolēti sekojošie mikroorganismi: baktērija *P.aeruginosa* (21% gadījumu) un sēnītes (*Penicillium* - 13%, *Candida* - 9%).

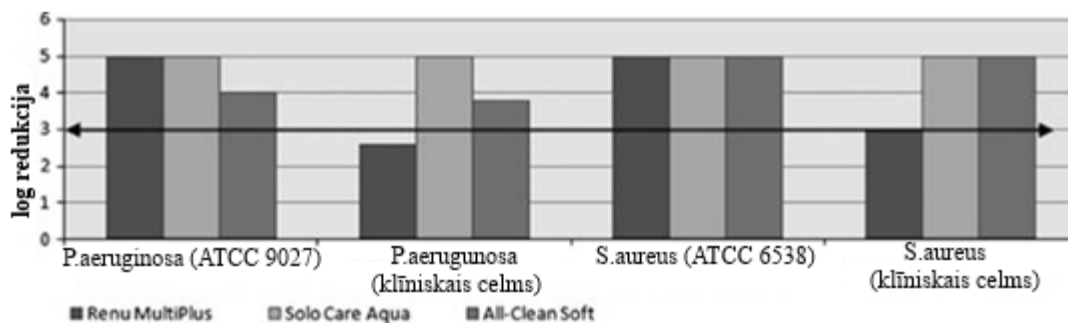
1.3.3. Faktori, kas ietekmē kopšanas šķīduma dezinfekcijas aktivitāti

Dažādu ražotāju kontaktlēcu kopšanas šķīdumiem piemīt dažāds baktēriju dezinficēšanas potenciāls. Ne tikai aktīvā viela, tas ir dezinfektants, bet arī kontaktlēcu kopšanas produktos sastāvā esošie papildus komponenti (sāļi, bufersistēma, surfaktanti, mitrinošie aģenti) ietekmē

kontaktlēcu kopšanas šķīdumu dezinfekcijas efektivitāti. Atšķirības skaidrojamas ar dažādu aktīvās vielas koncentrāciju, kopšanas šķīduma īpašībām, piemērām, ar dažādu viskozitāti un jonu balansu (Hildebrandt et al., 2012, Wu et al., 2015).

1.3.3.1. Mikroorganisma īpašības

Mohammadinia et al. (2012) ir pierādījis hipotēzi, ka klīniskie izolāti uzrāda augstāku rezistenci pret dezinfekcantiem nekā laboratoriskie celmi (sk.att.1.4.).



1.4. att. Trīs dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu (*Renu MultiPlus*, *Solo Care Aqua*, *All-Clean Soft*) pretmikrobu efektivitāte (izteikta kā mikroorganismu redukcija logaritmiskajās vienībās) pret *P.aeruginosa* un *S.aureus* laboratoriskajiem (ATCC 9027 un ATCC 6538) un klīniskajiem celmiem. Horizontālā līnija ir minimālā redukcija (3 log vienības), kāda jāasniedz, lai kontaktlēcu kopšanas šķīdums tiktu atzīts par efektīvu saskaņā ar ISO 14729 standartu (Mohammadinia et al., 2012)

Jāatzīmē, ka Kuzman et al. (2008) ir saskarīes ar grūtībām salīdzināt sava eksperimenta rezultātus ar citiem pieejamiem pētījumiem, jo netika izmantoti mikroorganismu standartcelmi.

1.3.3.2 Kopšanas šķīduma dezinfekcijas aktivitāte pret biofilmā esošajām baktērijām

Jau sen zināms, ka baktērijas biofilmās ir mazāk jutīgas pret biocīdiem un antibiotikām, bet Szczotka-Flynn et al. (2014) pierādīja hipotēzi, ka kontaktlēcu kopšanas šķīdumi ir aktīvi pret planktoniskajām baktērijām, bet uzrāda zemu aktivitāti pret biofilmā esošajām. Pierādīta sakarība, ka biguanīdu saturošie kontaktlēcu kopšanas šķīdumi bija absolūti neefektīvi pret *P.aeruginosa*, *S.marcescens* un *S.aureus* radītajām biofilmām. Par efektīvu tika atzītas ūdeņraža peroksīda sistēmas (*Clear care*) un polikvadu saturošs kontaktlēcu kopšanas līdzeklis (*Opti Free*).

1.3.3.3. *Organiskās piedevas*

Idejiski asarās esošie komponenti kalpo kā antibakteriālas vielas. Lielākā daļa Gr+ baktēriju ir jutīgi pret asaru sastāvā esošo fermentu – lizocīmu. Jāpiebilst, ka tā antibakteriālās īpašības pret dažādām mikroorganismu sugām variē atkarībā no vides apstākļiem (pH, temperatūra, spiediens) un citu vielu klātbūtnes.

Lai novērtētu kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitāti, mākslīgās asaras nav nepieciešamas, taču tās var tikt izmantotas. Ir pierādīts, ka mākslīgo asaru klātbūtne ietekmē kopšanas līdzekļa baktericīdās īpašības (*Schunk & Schweisfurth, 1989*). Piemēram, *Hildebrandt et al. (2012)* pētījumā organiskā materiāla piedeva (mākslīgās asaras) ievērojami paaugstināja efektivitāti pret *S.aureus*. Citos eksperimentos, kad tika pielietots asaru maisījums, konstatē kopšanas līdzekļa efektivitātes zudumu pret *P.aeruginosa*, *S.marcescens* un *F.solani*, savukārt sēnītei *C.albicans* bija novērota pat stiprāka noturība pret dezinfekciju. Turklāt eksperimentos pie kontaktlēcām tiek pievienotas mākslīgās asaras, lai imitētu nogulsnes, kas rodas reālās situācijās (*Schunk & Schweisfurth, 1989*).

Jāsecina, ka kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtēšanas standartā jāiekļauj reālistiskiem apstākļiem pietuvināts eksperiments. Ir veikti vairāki mēģinājumi izstrādāt un standartizēt jaunu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtēšanas shēmu. Diemžēl, ir grūti atrast dabisko asaru analogu, jo neviens laboratorijas apstākļos pagatavots asaru „modelis” pilnībā nedemonstrē cilvēka asaru sarežģītās īpašības, kā arī nerada dabisku slāni uz kontaktlēcas.

1.3.3.4. *Uzglabāšanas nosacījumi*

Iepriekš minēju, ka *Iguban et al (2013)* noskaidroja, ka kopšanas līdzekļa efektivitāti ietekmē uzglabāšanas laiks un apkārtējās vides temperatūras. Pie līdzīga secinājuma bija nonācis *Leung et al. (2004)*, izmeklējot 4 dažādus kopšanas līdzekļus (*Opti Free Express, Renu MultiPlus, Complete* un *Solo Care*), kuri 3 mēnešus tika uzglabāti pie 4°, 25° un 30°C. Autors secināja, ka uzglabāšana ledusskapī negatīvi ietekmē kopšanas līdzekļa efektivitāti. Līdzīgi *Bullock et al. (2008)* mēģināja skaidrot *Fusarium* keratīta gadījumu uzplaukumu ASV (Dienvidkarolīnā, subtropiskais klimats) laika periodā no 2004. līdz 2006. gadam ar kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes zudumu pie 60°C (temperatūra, kādai tiek pakļauti šķīdumi transportēšanas un uzglabāšanas laika).

1.4.3.1 Iedarbības laiks

ISO 14729 standarts paredz, ka šķīduma efektivitāti nosaka pēc 25%, 50%, 75% un 100% no minimālā dezinfekcijas laika, ko noteicis ražotājs. Papildus veic sēnīšu klātbūtnes novērtējumu pēc 400% no rekomendējamā dezinfekcijas laika.

1.3.5. Kontaktlēcu kopšanas sistēmas ietekme uz konteineru mikrobioloģisko piesārņojumu

Kad baktērija iekļūst konteinerī, tā piesaistās pie sienas, tādējādi tiek uzsākta biofilmas veidošanās process. Tā kā biofilmā esošās šūnas ir mazāk jutīgas pret dezinfektantiem (*Szczotka-Flynn et al.*, 2014), kontaktlēcu valkātājiem ir ieteicams lietot papildus tīrīšanas līdzekļus (*Wu et al.*, 2015, *Szczotka-Flynn et al.*, 2014)

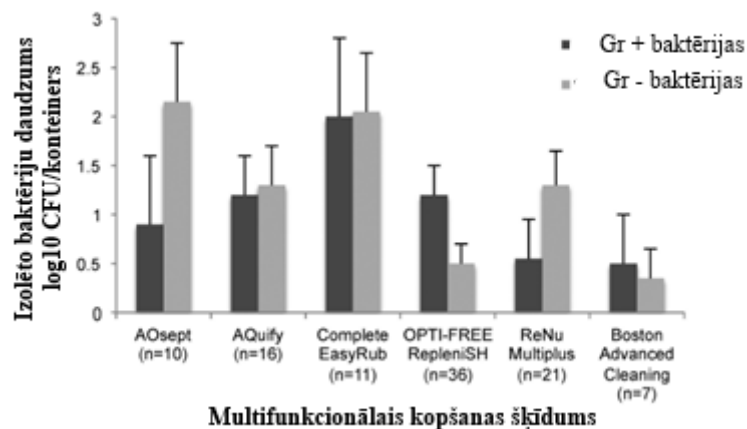
Wu et al. (2011) pārbaudīja divu multifunkcionālo kontaktlēcu šķīdumu efektivitāti (polikvadu saturošais *Opti-Free* un biguanīdu saturošais *Complete*) pret pazīstamākiem bioplēves veidotājiem - *S.aureus* un *P.aeruginosa*. Laboratorijas apstākļos tika realizētas 5 dažādas kontaktlēcu konteineru kopšanas shēmas, proti:

1. Kontrolgrupa – nekopts kontaktlēcu konteiners;
2. Ražotāja ieteiktā konteineru kopšana – noskalošana un žāvēšana;
3. Berzēšana, skalošana un žāvēšana;
4. Noslaucīšana ar papīra dvieli;
5. Berzēšana, skalošana, noslaucīšana un žāvēšana.

Jāatzīmē, ka veicot konteineru kopšanu pēc ražotāja rekomendācijām, nav panākta augsta efektivitāte pret biofilmām, proti tika sasniegts samazinājums aptuveni 0,8-2,2 log KVV.

Par efektīvāko veidu, kā iznīcināt biofilmas no kontaktlēcu kopšanas konteineru, tika atzīta shēma “berzēšana, skalošana, noslaucīšana ar papīra dvieli un žāvēšana”. Jāsecina, ka mehāniskā tīrīšana ir svarīgs efektīvas kontaktlēcu konteineru kopšanas nosacījums.

1.5 attēlā ir parādīts konteineru mikrobioloģiskais piesārņojums, lietojot dažādus kopšanas līdzekļus.



1.5. att. No kontaktlēcu kopšanas konteinera izolēto Gr+ (melnais stabiņš) un Gr- (pelēkais stabiņš) baktēriju daudzums (KVV/konteiners). Tika izmeklēts *Aosept* (paraugu skaits n=10), *AQuify* (16), *Complete EasyRub* (11), *Opti-free Replenish* (36), *Renu Multiplus* (21), *Boston Advanced Cleaning* (7) (Wu et al.,2011).

Polikvadu saturošie līdzekļi uzrādīja visaugstāko efektivitāti pret Gr+ baktērijām. Neskatoties uz to, ka H₂O₂ sistēmas visefektīvāk iznīcināja Gr- baktērijās *in vitro* (Wilson et al., 1991), *in vivo* rezultāts bija salīdzinoši zems (Wu et al.,2011).

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Materiāli un metodes

Maģistra darbs tiek veikts ar mērķi novērtēt dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu dezinficējošās aktivitātes ietekmējošos faktoros. Mērķa sasniegšanai ir izvirzīti sekojošie uzdevumi:

1. Noteikt 7 dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu iedarbību uz *S.epidermidis*.
2. Novērtēt ekspozīcijas laika ietekmi uz kontaktlēcu kopšanas šķīduma darbības efektivitāti, un noskaidrot optimālo kontaktlēcu dezinfekcijas laiku.
3. Noteikt uzglabāšanas temperatūras ietekmi uz kontaktlēcu kopšanas šķīduma dezinfekcijas efektivitāti.

Eksperimentālā daļa tika veikta Mikrobioloģijas laboratorijā, Dunties ielā 22.

2.1.1. Izmantotie materiāli: kontaktlēcu kopšanas šķīdumi

Pētījumā ir izmantoti 5 komerciāli pieejami kontaktlēcu kopšanas šķīdumi (skat.2.1.tab.), kuri tika sagādāti no vietējā mazumtirgotāja. Visi pētījumā izmantotie produkti iepakoti neatplēstā ražotāja oriģinālajā kartona iepakojumā, visi ir iepriekš nelietoti un ar derīgu lietošanas termiņu. Visi eksperimenti tika veikti pirms beidzies derīguma termiņš kopš atvēršanas.

2.1. Tabula

Izmantoto kontaktlēcu kopšanas šķīdumu raksturojums

Kontaktlēcu kopšanas šķīdums		Dezinfektants	Minimālais dezinfekcijas laiks
Daudzfunkcionālais līdzeklis	<i>Opti Free PureMoist</i> Alcon	Polikvaternijs 0,001% <i>Aldox</i> 0.0006%	vismaz 6 stundas, ieteicams nakts režīms
	<i>Renu MultiPlus</i> Bausch & Lomb	PHMB 0,0001%	4 stundas
	<i>BioTrue</i> Bausch&Lomb	PHMB 0.00013% Polikvaternijs 0.0001%	4 stundas
	<i>Synergi</i> Sauflon	Bezkonserantu kopšanas šķīdums, Oxipol 0,1% Oksihlorītu komplekss (NaCl un H ₂ O ₂)	vismaz 6 stundas, ieteicams nakts režīms
	<i>All in one</i> Sauflon	PHMB 0,0001%	nav informācijas
	<i>Solo care</i>	PHMB 0,0001%	5 minūtes
Peroksīda sistēma	<i>Aosept Plus</i> Alcon	3% H ₂ O ₂	6 stundas

Jāuzsver, ka *Opti Free PureMoist* un *Synergi* ražotāji par minimālo dezinfekcijas laiku norāda attiecīgi 6 un 4 stundas, taču ir rekomendējams nakts režīms.

Tabulā 2.2. ir apkopota maģistra darbā izmantoto kontaktlēcu kopšanas līdzekļu svarīgas piezīmes: kopšanas šķīduma uzglabāšanas nosacījumi un derīguma termiņš no iepakojuma atvēršanas brīža, kā arī kontaktlēcu uzglabāšanas nosacījumi konteinerī, kas ir papildīts ar attiecīgu kopšanas līdzekli.

2.2. Tabula

Kontaktlēcu uzglabāšanas nosacījumi konteinerī, kas ir papildīts ar attiecīgu kopšanas līdzekli

Kontaktlēcu kopšanas šķīdums	Maksimālais kontaktlēcu uzglabāšanas laiks neatvērtaajā konteinerī	Uzglabāšanas temperatūra, °C	Derīguma termiņš kopš atvēršanas
<i>Opti Free PureMoist</i> Alcon	30 dienas	15°-30°C	6 mēneši
<i>Renu MultiPlus</i> Bausch & Lomb	30 dienas	Istabas t°	3 mēneši
<i>BioTrue</i> Bausch&Lomb	30 dienas	Istabas t°	3 mēneši
<i>Synergi</i> Sauflon	7 dienas	4°-25°	3 mēneši
<i>All in one</i> Sauflon	7 dienas	4°-30°	nav informācijas
<i>Solo Care Aqua</i> Menicon	30 dienas	25°C	3 mēneši
<i>Aosept Plus</i> Alcon	Nav paredzēts kontaktlēcu uzglabāšanai	15-25°C	3 mēneši

Jāatzīmē, ka *Aosept Plus* jālieto temperatūrā no 15° līdz 25°, tāpēc ka H₂O₂ neitralizācija temperatūrā, kas ir zemāka par 15°C, var aizņemt vairāk kā 6 stundas. Savukārt Bausch&Lomb precīzi nenorāda pieļaujamo uzglabāšanas temperatūras diapazonu.

Opti Free PureMoist, *BioTrue* un *Solo Care Aqua* instrukcijā norādīts, ka attīrītas kontaktlēcas var uzglabāt neatvērtajā konteinerī, kas ir piepildīts ar attiecīgu kopšanas šķīdumu, līdz 30 dienām. Pēc šī laika kontaktlēcas atkārtoti jānotīra un jānodezinficē ar svaigu šķīdumu pirms ielikšanas. *Renu MultiPlus* šķīduma ražotājs apgalvo, ka kontaktlēcu uzglabāšana iespējama līdz 30 dienām, taču nav minēts, vai ir nepieciešamas atkārtotas kopšanas procedūras un pie kādiem nosacījumiem. *Synergi* un *All in one* ražotājs piemin, ka kontaktlēcas var uzglabāt līdz 7 dienām un pēc šī laika atkārtoti jāveic tīrīšanas un dezinfekcijas process.

2.1.2 Mikroorganisma izvēle

Ņemot vērā pazīstamākos acu patogēnus, kā arī visbiežāk no nēsātajām kontaktlēcām un to aksesuāriem izolētos mikroorganismus, eksperimenta veikšanai tika izvēlēts *S.epidermidis* (ATCC 12228 celms).

S. epidermidis ATCC 12228 celmam piemīt zema virulence. Uz *Mueller-Hinton* barotnes tas veido baltas (nepigmentētas) apaļas kolonijas ar gludām malām. *S.epidermidis* augšanai vispiemērotākā augšanas temperatūra ir 26-37°C, savukārt baktērijas augšanas diapazons ir 15-45°C.



2.1.att. *S. epidermidis* ATCC 12228 kolonijas uz *Mueller-Hinton* agāra

2.1.2. *S.epidermidis* suspensijas pagatavošana

Pēc *McFarland* standarta tika pagatavotas dažāda blīvuma *S.epidermidis* baktēriju suspensijas. Šim nolūkam tika izmantotas *S.epidermidis* kolonijas, kas 24 stundas augušas uz asins agāra.

Lai pagatavotu baktēriju suspensiju, ar sterilu vates kociņu tika paņemts *S.epidermidis* materiāls tieši no kolonijas. Tālāk materiāls tika pievienots pie 2 ml 0,9% fizioloģiskā šķīduma un kārtīgi samaisīts. Sākotnējās suspensijas blīvums tika salīdzināts ar *Mc Farland* standartu 0,5, mērot ar densitometru. Tas nozīmē, ka viens mililitrs suspensijas satur $1,5 \cdot 10^8$ koloniju veidojošās vienības (KVV/ml).

Vājākas koncentrācijas suspensijas tika panāktas, veicot desmitkārtīgo atšķaidīšanu pēc sekojoša principa: 1 ml iegūtās *S.epidermidis* suspensijas pievieno pie 9 ml fizioloģiskā šķīduma. Atkārtojot procedūru, tika pagatavoti *S.epidermidis* suspensijas atšķaidījumi 1:100, 1:1000 un 1:10 000, kuri tika izmantoti nākamajos eksperimentos.

2.3. Tabula

S.epidermidis koncentrācija suspensijā (izteikta kā KVV uz 1 ml) atkarībā no atšķaidīšanas pakāpes

Atšķaidīšanas pakāpe	<i>S.epidermidis</i> koncentrācija (KVV/ml)
1:10	$1,5 \cdot 10^7$
1:100	$1,5 \cdot 10^6$
1:1000	$1,5 \cdot 10^5$
1:10 000	$1,5 \cdot 10^4$

2.1.3. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitātes novērtējums ar disku difūzijas metodi

Disku difūzijas tests klasiskajā variantā ir metode, ar kuru nosaka mikroorganisma jutību un rezistenci pret antibiotiskām vielām. Maģistra darbā šī metode ir modificēta un izmantota, lai novērtētu *S.epidermidis* jutību pret kontaktlēcu kopšanas līdzekli.

Eksperiments tika veikts, izmantojot 3 dažāda blīvuma suspensijas, lai noskaidrotu optimālo *S.epidermidis* koncentrāciju, tādejādi atvieglojot izaugušo koloniju skaitīšanu. Sākumā tika pagatavots inokulāts. Ar vienreiz lietojamu vates kociņu tika paņemts *S.epidermidis* ATCC 12228 materiāls (tas ir baktēriju suspensijas atšķaidījums 1:100, 1:1000 un 1:10 000), un vienmērīgi uzsēts uz Petri plates ar *Mueller-Hinton* agāru.

Eksperimentam nepieciešamie diski tika gatavoti no filtrpapīra 5 mm diametrā. Uz viena Petri trauka tika novietoti 7 diski, kuri piesūcināti ar dažādiem kontaktlēcu kopšanas šķīdumiem (uz katra diska tika uzpilināts viens piliens). Pēc katra diska novietošanas uz Petri plates pincete tika sterilizēta, izmantojot sausā karstuma metodi – nodedzināšanu liesmā.



2.2.att. Kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtējums ar disku difūzijas metodi

Uzreiz pēc disku novietošanas Petri plates tika inkubētas termostatā 35°C temperatūrā uz 24 stundām. Par kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitāti tika spriests, pirmkārt, balstoties uz inhibīcijas zonas platumu. Jo lielāks aiztures laukums ap disku, jo augstāka mikroorganisma jutība pret vielu.

2.1.4. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitātes novērtējums. Inficēšana ar nolūku.

Kopšanas šķīduma pretmikrobu efektivitātes novērtējums tika veikts, balstoties uz uzaugušo *S.epidermidis* koloniju skaita samazinājumu. Eksperimentam izšķir vairākus posmus:

1. Paraugu pagatavošana;
2. Parauga mikrobioloģiskā pārbaude;
3. Koloniju skaitīšana.

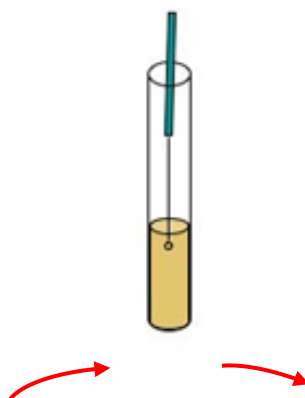
1. *S.epidermidis* suspensijas pagatavošana



Suspensijas
atšķaidīšana



NaCl
McFarland 0,5



2. Paraugu pagatavošana Šķīduma inficēšana ar *S.epidermidis*

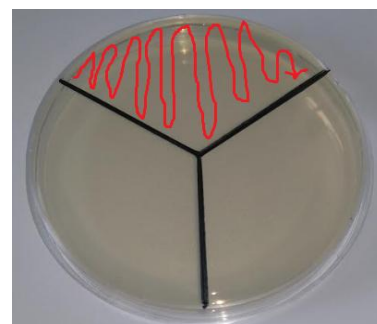


Ekspozīcijas laiks:



30 min
4-6 stundas
24 stundas
3,7 un 30 dienas

3. Mikrobioloģisks uzsējums



4. Izaugušo koloniju skaitīšana

Inkubācija termostatā



48 stundas
35°C



2.3. att. Eksperimenta shematiskā reprezentācija

2.1.4.1. Paraugu pagatavošana

Eksperimenta pirmais posms ir paraugu pagatavošana - tika izveidots *S.epidermidis* suspensijas un kontaktlēcu kopšanas šķīduma maisījums.

Mērķtiecīgi tika izvēlēta tāda *S.epidermidis* koncentrācija, lai būtu iespējams kvantitatīvi novērtēt kopšanas līdzekļa efektivitāti, balstoties uz izaugušo baktēriju koloniju skaitu. Sākotnēji tika veikta paraugu pagatavošana, izmantojot Renu šķīdumu. Balstoties uz 2.1.3.sadaļā aprakstītā testa rezultātiem, par uzskatāmāko tika atzīti rezultāti pie maksimālās atšķaidīšanas pakāpes 1:10 000. Līdz ar to līdzekļa efektivitāte tika pārbaudīta pie 2 dažādām *S.epidermidis* koncentrācijām:

1. Paraugi, kas satur $1,5 * 10^4$ KVV/ml. 1 ml *S.epidermidis* suspensijas, kas satur $1,5 * 10^5$ KVV/ml, tika pievienots pie 9 ml attiecīgā kontaktlēcu kopšanas šķīduma. Tādejādi tika pagatavoti paraugi, kas satur $1,5 * 10^4$ KVV/ml.

2. Paraugi, kas satur aptuveni $0,5 * 10^6$ KVV/ml. 1 ml *S.epidermidis* suspensijas atšķaidījums, kas satur $1,5 * 10^6$ KVV/ml, tika pievienots pie 2 ml attiecīgā kontaktlēcu kopšanas šķīduma (atspoguļojot kontaktlēcu uzglabāšanas konteineru ietilpību). Tādejādi tika pagatavoti paraugi, kas satur aptuveni $0,5 * 10^6$ KVV/ml.

2.1.4.2. Ekspozīcijas laiks

Maģistra darbā tika realizēts kontaktlēcu kopšanas šķīduma darbības novērtējums atkarībā no ekspozīcijas laika:

1. Ātra dezinfekcija: 30 minūtes;
2. Ražotāja instrukcijā norādītais minimālais laiks, kas nepieciešams efektīvai kontaktlēcas dezinfekcijai (4 vai 6 stundas);
3. Diennakts (24 stundas);

Lai novērtētu kopšanas līdzekļa pretmikrobās efektivitātes noturību, tika realizēts kontaktlēcu kopšanas šķīduma darbības novērtējums pie ilgāka iedarbības laika: 3 dienas, nedēļa, mēnesis. Eksperimentālā daļa uzsākta 2017. gada 14.februārī, proti, tika atvērti visi kontaktlēcu kopšanas šķīdumi.

2.1.4.3. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma pudeles uzglabāšanas temperatūra

Pētījumā ir izmantoti divi dažādu kontaktlēcu kopšanas līdzekļu komplekti. Viens komplekts tika uzglabāts istabas temperatūrā (21-22°C), bet otrs ledusskapī (5-6°C) Uzglabāšanas temperatūras kontrole tika veikta sākot no 5.01.2017. Līdz šim laikam kopšanas līdzekļi tika turēti noliktavā un informācija par telpas temperatūru nav pieejama. Temperatūras mērījumi tika veikti reizi dienā. Temperatūras kontrole tika veikta sākot no 2017.gada 8.janvāra, bet pirmie eksperimenti uzsākti 2017. gada 14.februārī.

2.1.4.4. Mikrobioloģisks uzsējums

Pēc konkrēta ekspozīcijas laika tika veikta uzsēšana uz cietas barotnes ar svītru metodi Ar vienreiz lietojamo bakterioloģisko cilpi (0,1 mm diametrā) izdara uzsējumu uz *Mueller-Hinton* agāra. Uz vienas Petri plates tika pārbaudīti 3 paraugi (sk.att. Pēc 48 stundu inkubēšanas termostatā 35°C temperatūrā novērtē uzsējumu. Pie mazas *S.epidermidis* koncentrācijas ($1,5 \cdot 10^4$ KVV/ml) izaugušo koloniju skaits tika noteikts no visa izmeklējamā Petri plates apgabala, savukārt pie lielākas koncentrācijas, kolonijas tika skaitītas 1 cm².

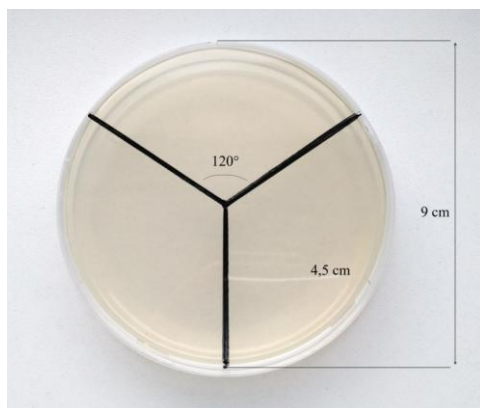
Katra Petri plate tika sadalīta 3 vienādās daļās. Riņķa laukumu aprēķina pēc sekojošas formulas:

$$S = \pi r^2$$

S - Petri plates laukums (m²)

π - 3,14

r – Petri plates rādiuss



2.4. att. Petri plate ar *Mueller – Hinton* agāru

Kopējais Petri plates laukums ir 6,36 cm², savukārt 1 daļas laukums ir 2,12 cm².

2.1.5. Statistiskā analīze

Statistiskā analīze tika veikta, izmantojot *Microsoft Excel*. Izmantojot divu faktoru ANOVA testu (bez atkārtojumiem) tika noskaidrota iedarbības laika un kontaktlēcas kopšanas šķīduma ietekmi uz dezinfekcijas aktivitāti.

2.1.6. Dezinfekcijas kinētika, Chick-Watson modelis

Ideālos apstākļos dezinfekcijas ātrumu var aprakstīt ar pirmās kārtas eksponenciālu vienādojumu (*Sutton et al.*, 1991) Populācijas samazinājums ir proporcionāls tās lielumam, tas ir konstants konkrētā laika intervālā. Dzīšanas koeficients raksturo laiku, kas nepieciešams, lai sasniegtu mikroorganismu skaita samazinājumu līdz 37% (tas ir 1/e jeb 2.7027 reizēs).

$$I(t) = I_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau}}$$

I_0 – sākotnējā baktēriju koncentrācija

I – baktēriju koncentrācija laikā t

t – laiks

τ - dzīšanas koeficients

Šajā pētījumā baktēriju koncentrāciju atspoguļo izaugušo koloniju skaits uz Petri plates pēc laika. Par sākotnējo baktēriju koncentrāciju tika pieņemts izaugušo koloniju skaits pēc 30 minūšu dezinfekcijas.

2.2 REZULTĀTI

2.2.1. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitātes novērtējums ar disku difūzijas metodi

Pirmais maģistra darba eksperimentālās daļas posms bija kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitātes novērtējums ar disku difūzijas metodi pie dažādām *S.epidermidis* koncentrācijām.

Rezultāti liecina, ka vienīgais kontaktlēcu kopšanas šķīdums, kurš pilnībā apturējis *S.epidermidis* augšanu, ir peroksīda sistēma *Aosept Plus* (Alcon). Inhibīcijas zonas platums atkarībā no mikroorganisma koncentrācijas ir norādīts tabulā nr.2.4.

2.4. tabula

S.epidermidis jutības novērtējums pret ūdeņraža peroksīda sistēmu (*Aosept Plus*). Inhibīcijas zonas platums noteikts atkarībā no mikroorganisma koncentrācijas pie 2 dažādām kontaktlēcu kopšanas līdzekļa uzglabāšanas temperatūrām.

	Istabas temperatūra 21-23 °C			Ledusskapis 5-6°C		
Atšķaidīšanas pakāpe	1:100	1:1000	1:10 000	1:100	1:1000	1:10 000
Inhibīcijas zona (cm)	20	27	30	15	20	23

Neviens no daudzfunkcionālajiem kontaktlēcu kopšanas šķīdumiem pilnībā neapturēja mikroorganismu augšanu. Jāatzīmē, ka nav korekti salīdzināt multifunkcionālos šķīdumus ar H₂O₂ sistēmām, jo šajā eksperimentā ir izlaists (nav iespējams) neitralizācijas posms.

Vinoth Raja et al. (2015) veica līdzīgu eksperimentu, kurā tika pārbaudīta kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitāte pret Gr⁺ un Gr⁻ baktērijām, kuras tika izdalītas no nēsātajām kontaktlēcām. Autors ir secinājis, ka iegūtie rezultāti ir salīdzināmi ar klasisko difūzijas testa variantu, kad tiek noteikta mikroorganisma jutība pret antibiotikām. Mikroorganisms tika atzīts par

1. jutīgu, ja inhibīcijas zona pārsniedza 20 mm;
2. vidēji jutīgu, ja inhibīcijas zona bija robežās 11-19 mm;
3. rezistentu, ja inhibīcijas zona bija zemāka par 10.

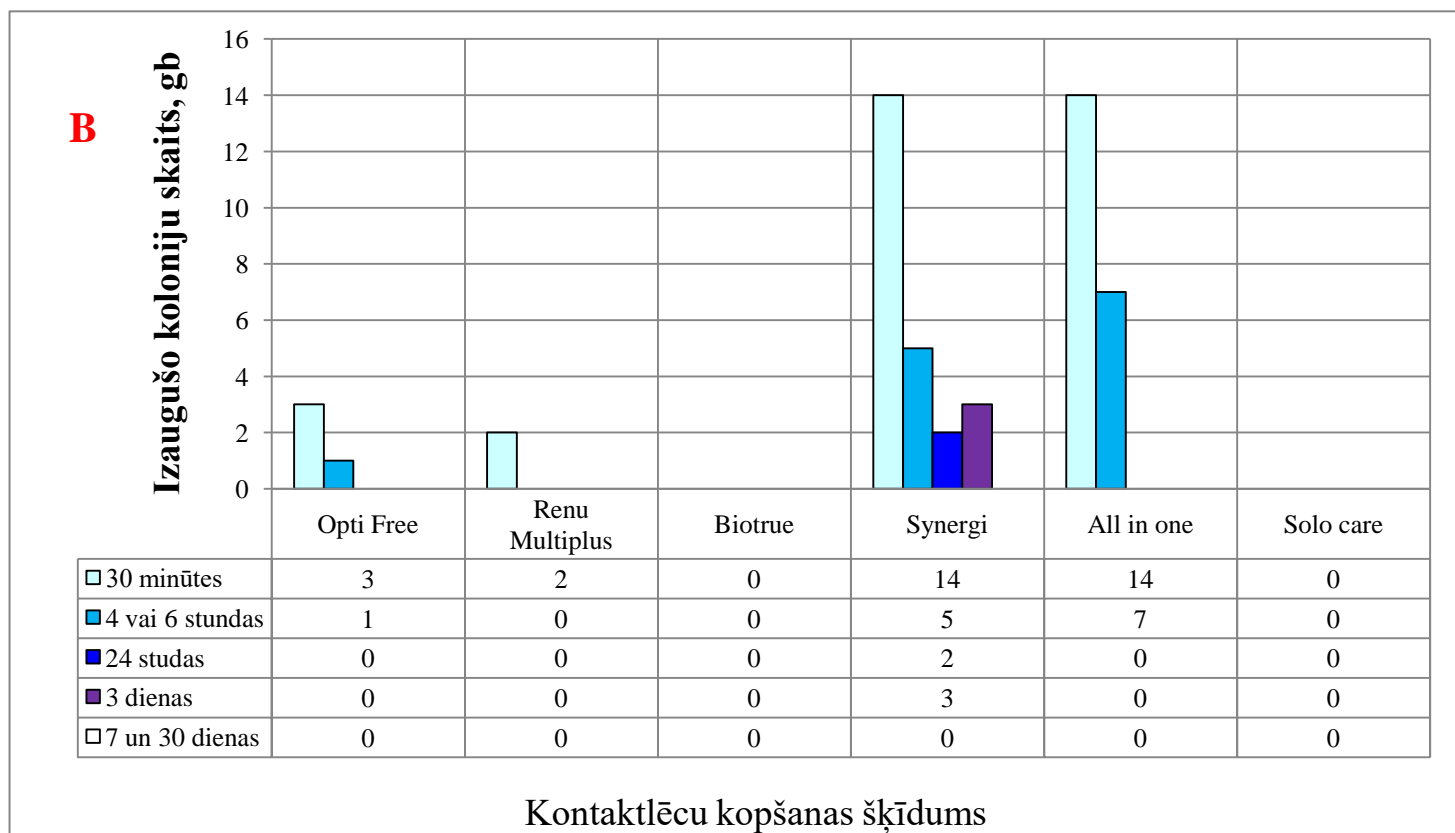
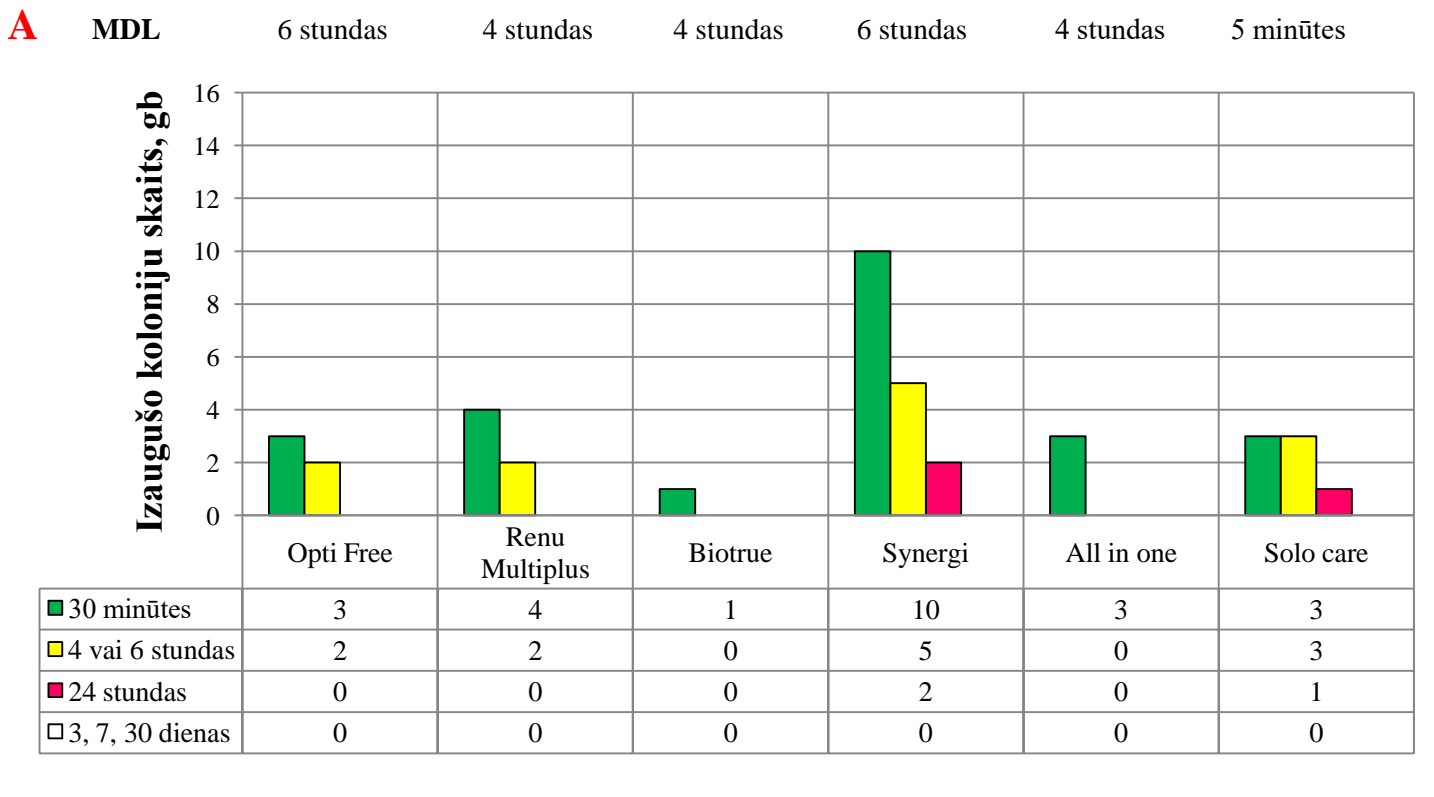
2.2.2. Kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitātes novērtējums *in vitro*

2.2.2.a Sākotnējā *S.epidermidis* koncentrācija paraugā $1,5 * 10^4$ KVV/ml.

Pirmajā eksperimenta daļā pārbaude tika veikta pie mazas *S.epidermidis* koncentrācijas ($1,5 * 10^4$ KVV/ml). Pie mazas baktēriju koncentrācijas izaugušo koloniju skaits tika noteikts no visa izmeklējamā Petri plates apgabala ($2,12 \text{ cm}^2$). Kolonijas izauga izkļiedēti pa visu Petri plati, to daudzums bija mazs, lai varētu veikt kontaktlēcu kopšanas šķīdumu pretmikrobu efektivitātes salīdzinājumu.

ISO standarta nr.14729 primārais kritērijs paredz, ka inokulātam ar sākotnējo koncentrāciju $1 * 10^4$ KVV/ml jāpanāk 1000 reižu samazinājums līdz $1 * 10^1$ KVV/ml. Teorētiski ar bakterioloģisko cilpu, kuras diametrs ir 4 mm, var paņemt aptuveni 0,01 ml parauga (Prescott, 1972). Šajā pētījumā izmantotās cilpas diametrs ir 0,5 mm, līdz ar to var pieņemt, ka paņemtā parauga tilpums ir aptuveni 0,00125 ml. Šajā gadījumā tas nozīmē, ka 0,00125 ml izmeklējamā materiāla satur aptuveni 19 dzīvospējīgas šūnas. Potenciāli tas veido 19 kolonijas, var turpmāk uzskatīt par kontroles grupu.

Tā kā pētījuma izmantotās metodes nav automatizētas, pastāv cilvēciskais faktors. Ir iespējamās neprecizitātes, pagatavojot baktēriju suspensijas un to atšķaidījumus. Baktēriju šūnām ir tendence nogulsnēties mēģenes dibenā, un pirms iztriepes veikšanas, mēģene kārtīgi jāsakrata. Rezultātā nav iespējams precīzi noteikt paņemtā parauga tilpumu un tajā esošo šūnu skaitu.



2.5.att. Izaugušo koloniju skaits atkarībā no kontaktlēcu kopšanas šķīduma iedarbības laika pie istabas temperatūras (A) un 5-6°C (B). Sākotnējā *S.epidermidis* koncentrācija paraugā $1,5 \cdot 10^4$ KVV/ml

2.5. attēlā ir parādīts izaugušo koloniju skaits atkarībā no kontaktlēcu kopšanas šķīduma iedarbības laika pie istabas temperatūras (A) un 5-6°C (B). Novērtējot izaugušo koloniju skaitu attiecībā pret references rezultātu (gadījumā, kad dezinfekcijas līdzeklis netika izmantots), var apgalvot, ka pie mazas baktēriju koncentrācijas, visi kopšanas šķīdumi uzrāda baktericīdu darbību pret *S.epidermidis* un saglabā šo efektu ilgtermiņā.

Viszemāko efektivitāti pie istabas un 5-6°C temperatūras ir uzrādījis *Synergi* šķīdums bez konservantiem. PHMB saturošais *Solo care* un bezkonservantu sistēma *Synergi* bija vienīgie, kuriem pēc 24 stundu inkubācijas tika novērota *S.epidermidis* augšana, paraugus uzglabājot istabas temperatūrā. Pie zemas uzglabāšanas temperatūras gan *Synergi*, gan *All in one* paraugi uzrādīja baktēriju augšanu, pie tām *All in one* šķīduma efektivitāte ir zemāka pie 5-6°C

Atzīmēšu, ka ņemot vērā iespējamās neprecizitātes, nav iespējams spriest par šķīduma efektivitāti detalizētāk. Baktēriju koncentrācija ir pa mazu (paredzamo koloniju skaits ir mazs), lai varētu veikt secinājumus par šķīduma efektivitāti.

2.2.2.b Sākotnējā *S.epidermidis* koncentrācija paraugā $0,5 \cdot 10^6$ KVV/ml.

Otrajā eksperimenta posmā mērķtiecīgi tika izvēlēta tāda *S.epidermidis* koncentrācija, lai būtu iespējams kvantitatīvi novērtēt kopšanas līdzekļa efektivitāti, balstoties uz izaugušo koloniju skaitu.

Kontroles eksperimentā, kad kopšanas līdzekļa vietā tika inficēts fizioloģiskais šķīdums (*S.epidermidis* koncentrācija paraugā - $0,5 \cdot 10^6$ KVV/ml), uzsējumā tika novērots blīvs koloniju augums – vairāk kā 300 izaugušo koloniju uz vienas Petri plates, kas rādīja grūtības kvantitatīvi spriest par rezultātu. Metodiskajos materiālos mikrobioloģijā tiek ieteikts atkārtot eksperimentu pie zemākas baktēriju koncentrācijas, ja koloniju skaits uz plates pārsniedz 250, jo rezultāts nav ticams.

Līdzīgi kā iepriekšējā eksperimenta posmā (sk.2.2.2.a sadaļu), ir iespējams izrēķināt paredzamo sākotnējo koloniju skaitu uz 1 cm^2 , ko turpmāk uzskatīs par kontroles grupu. Paņemtais paraugs (aptuveni 0,00125 ml) satur aptuveni 625 dzīvotspējīgas baktērijas (potenciāli tas veido 625 kolonijas uz barojošā agara) Tā kā materiāls tika vienmērīgi izdalīts pa Petri plates laukumu $2,12 \text{ cm}^2$, savukārt koloniju uzskaitē tika veikta no 1 cm^2 , sagaidāmais koloniju skaits uz pētāmā laukuma ir aptuveni 295.

Ja par references rezultātu pieņem teorētiski izrēķināto koloniju skaitu, tad var apgalvot, ka visi šķīdumi uzrāda labu baktericīdu darbību. Pētījumā iegūtie rezultāti ir apkopoti 2.5 un 2.6. tabulā. Peroksīda sistēmas *Aosept Plus* efektivitātes pārbaude tika veikta tikai pēc 6 un 24 stundu iedarbības, jo ir nepieciešams nodrošināt pilnīgu H_2O_2 neitralizāciju. Taču, balstoties 2.2.1.sadaļas rezultātiem, tas ir ļoti spēcīgs dezinfektants salīdzinājumā ar daudzfunkcionāliem šķīdumiem.

2.5.tabula

Peroksīda sistēmas *Aosept Plus* dezinfekcijas efektivitāte, izteikta kā *S.epidermidis* izdzīvošana pēc 6 un 24 stundu iedarbības pie istabas temperatūras un $5-6^\circ\text{C}$.

Kontaktlēcu kopšanas šķīdums	21-23 °C		5-6°C	
	6 stundas	24 stundas	6 stundas	24 stundas
<i>Aosept Plus</i> Alcon	1%	0%	6%	1%

2.6.tabula

S.epidermidis daudzums (procentuāli no teorētiski izrēķinātā sākotnējā *S.epidermidis* skaita) atkarībā no no kontaktlēcu kopšanas šķīduma iedarbības laika un pudeles uzglabāšanas temperatūras. Sākotnējā *S.epidermidis* koncentrācija paraugā bija $0,5 \cdot 10^6$.

Kontaktlēcu kopšanas šķīdums	Istabas temperatūra 21-23 °C						Ledusskapis 5-6°C					
	30 minūtes	4-6 stundas	24 stundas	3 dienas	7 dienas	30 dienas	30 minūtes	4-6 stundas	24 stundas	3 dienas	7 dienas	30 dienas
<i>Opti Free PureMoist</i> Alcon	0,3%	0%	0%	0%	0%	0%	14%	13%	6%	5%	3%	0,3%
<i>Renu MultiPlus</i> Bausch & Lomb	32%	7%	5%	4%	0%	0%	26%	8%	5%	5%	5%	0%
<i>BioTrue</i> Bausch&Lomb	7%	5%	3%	0%	0%	0%	9%	4%	3%	0%	0%	0%
<i>Synergi</i> Sauflon	11%	4%	0%	0%	0%	0%	25%	16%	9%	6%	4%	0%
<i>All in one</i> Sauflon	14%	8%	6%	0%	0%	0%	17%	14%	11%	12%	9%	3%
<i>SoloCare Aqua</i> Menicon	17%	14%	8%	3%	0%	0%	23%	9%	7%	6%	7%	0%
Vid.vērtība	13%	7%	4%	1%	0%	0%	19%	11%	7%	6%	5%	1%
Vid.	4%						8%					

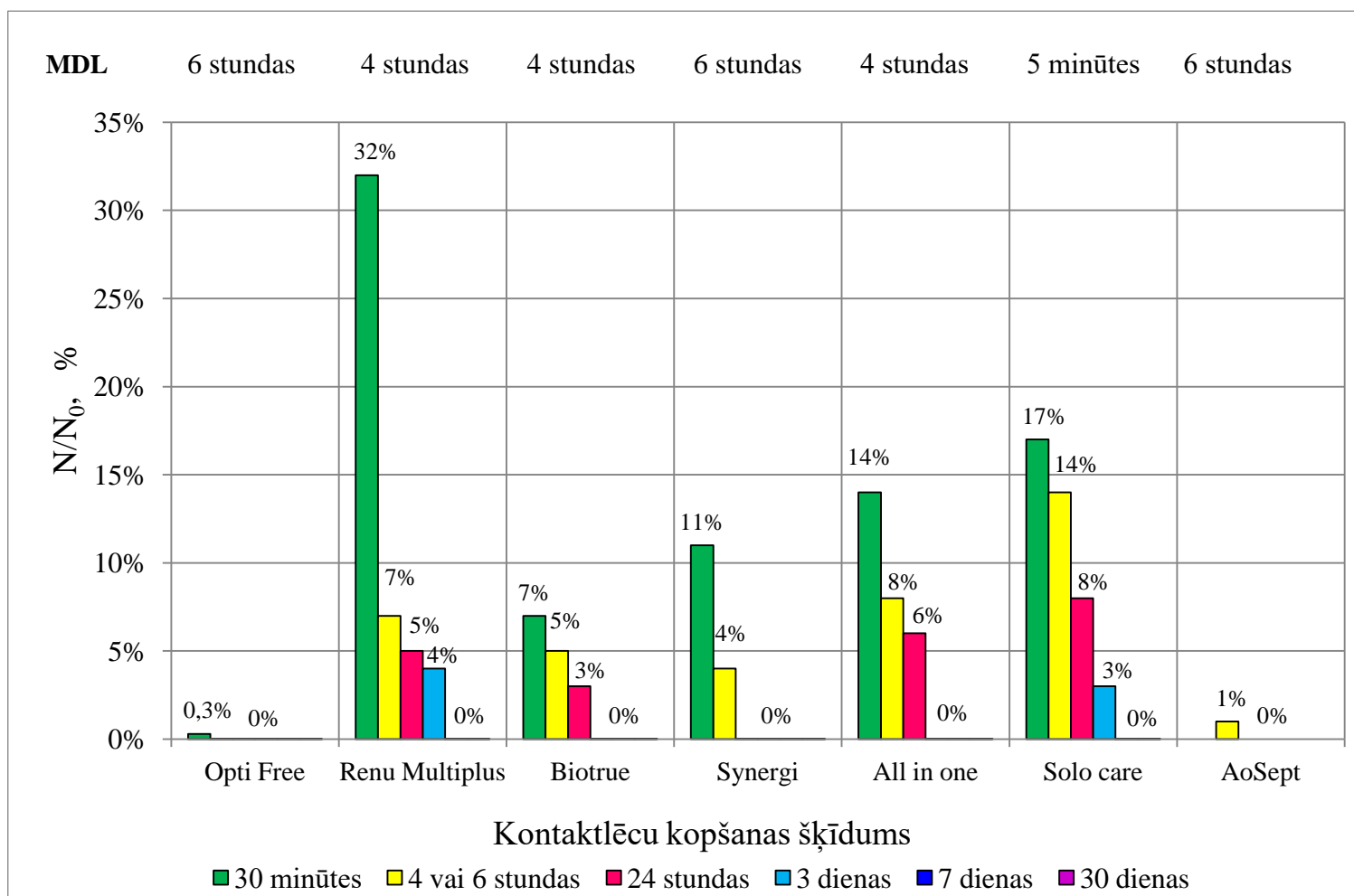
Divu faktoru ANOVA (bez atkārtojumiem) testa rezultāti liecina, ka:

1. Daudzfunkcionālā mīksto kontaktlēcu kopšanas šķīduma veidam ($p < 0,001$) un iedarbības laikam ($p < 0,05$) ir statistiski būtiska ietekme uz *S.epidermidis* koncentrācijas samazinājumu pie istabas temperatūras (22-23°C).

2. Daudzfunkcionālā mīksto kontaktlēcu kopšanas šķīduma veidam ($p < 0,005$) un iedarbības laikam ($p < 0,01$) ir statistiski būtiska ietekme uz *S.epidermidis* koncentrācijas samazinājumu pie 5-6°C.

Izrēķinātās vidējās vērtībās (sk.tabulu 2.6) atspoguļo visu pētījumā izmantoto kontaktlēcu kopšanas šķīdumu darbības aktivitāti kopumā. Rezultātus vispārinot, ir novērojama tendence, ka uzglabāšana ledusskapī pie 5-6°C negatīvi ietekmē parauga mikrobioloģisko piesārņojuma līmeņa samazināšanos.

2.6.attēlā ir parādīts 7 dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtējums pret *S.epidermidis* (izteikts kā izaugušo koloniju skaits procentos attiecībā pret kontroles rezultātu) atkarībā no iedarbības laika, paraugus uzglabājot istabas temperatūrā (22-23°C). Rezultāti liecina, ka visi līdzekļi uzrāda baktericīdu iedarbību pret *S.epidermidis*.



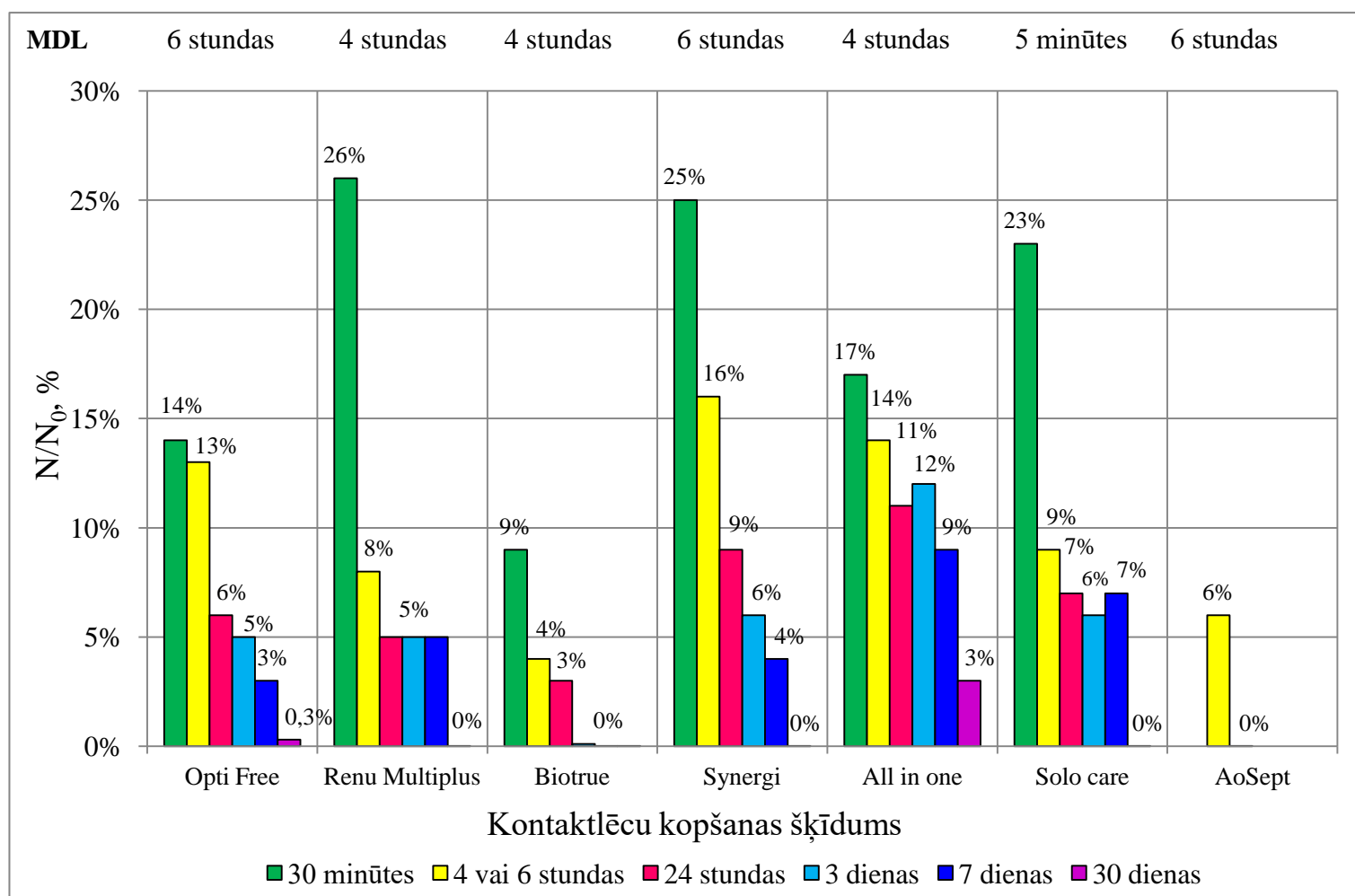
2.6. att. Izaugušo koloniju skaits (izteikts procentos attiecībā pret kontrolgrupu) atkarībā no kontaktlēcu kopšanas šķīduma iedarbības laika pie istabas temperatūras. Sākotnējā *S.epidermidis* koncentrācija paraugā $0,5 \cdot 10^6$ KVV/ml. N – izaugušo *S.epidermidis* koloniju skaits pēc dezinfektanta iedarbības, N_0 – sākotnējais *S.epidermidis* koloniju skaits *MDL – minimālais dezinfekcijas laiks, ko noteicis ražotājs

Neviens no daudzfunkcionāliem šķīdumiem (izņemot *Opti free*, kas uzrādīja maksimālu efektivitāti jau pēc 30 minūtēm) nesasniedz maksimālo efektu pēc ražotāja ieteiktā dezinfekcijas laika. *Synergi* šķīdumam maksimālais efekts tiek novērots pēc diennakts dezinfekcijas, savukārt *Biotrue* un *All in one* – pēc 3 dienām. Kopumā šķīdumi uz poliheksanīda bāzes (tas ir *Renu*,

All in one, Solo care) sasniedz maksimālo dezinfekciju salīdzinoši vēlāk. Novēro likumsakarību, ka pie istabas temperatūras visi šķīdumi uzrāda baktericīdu aktivitāti līdz tiek nodrošināta pilnīga *S.epidermidis* bojāeja, un šis efekts tiek saglabāts arī pēc 7 un 30 dienām.

Neskatoties uz to, ka *Solo care* ražotāja instrukcijā norādīts, ka minimālais dezinfekcijas laiks ir 5 minūtes, rezultāti norāda uz pretējo. Var secināt, ka instrukcijā sniegtā informācija nav korekta.

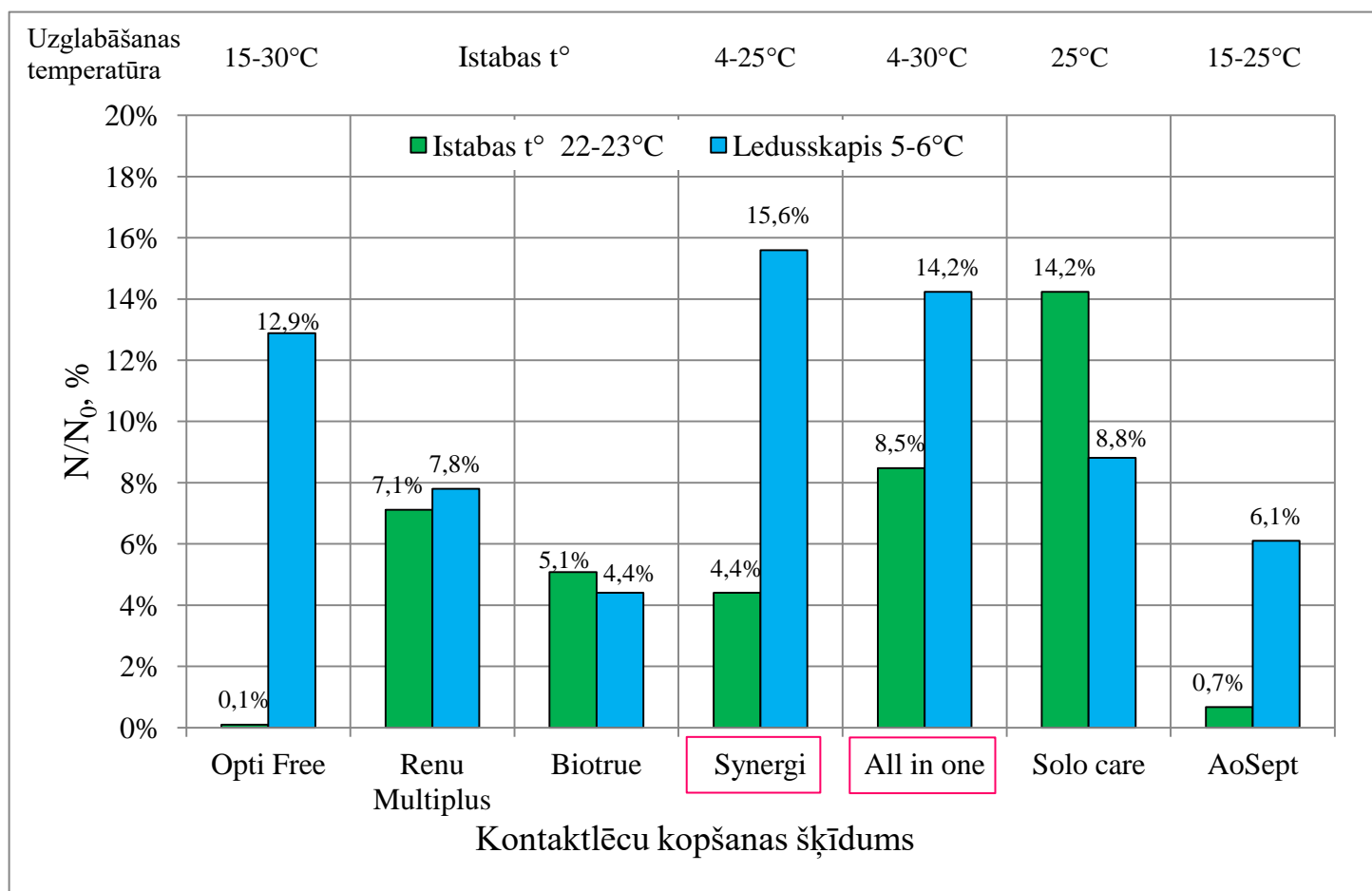
2.7.attēlā ir attēlots 7 dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtējums pret *S.epidermidis* atkarībā no iedarbības laika, paraugus uzglabājot pie 5-6°C.



2.7. att. Izaugušo koloniju skaits (izteikts procentos attiecībā pret kontrolgrupu) atkarībā no kontaktlēcu kopšanas šķīduma iedarbības laika pie 5-6°C. Sākotnējā *S.epidermidis* koncentrācija paraugā $0,5 \cdot 10^6$ KVV/ml. N – izaugušo *S.epidermidis* koloniju skaits pēc dezinfektanta iedarbības, N_0 – sākotnējais *S.epidermidis* koloniju skaits *MDL – minimālais dezinfekcijas laiks, ko noteicis ražotājs

Pie zemām temperatūrām kontaktlēcu kopšanas šķīdumi uzrādīja vairāk līdzīgu pretmikrobu aktivitāti. Interesanti, ka maksimālais efekts tiek sasniegts vēlāk nekā pie istabas temperatūras.

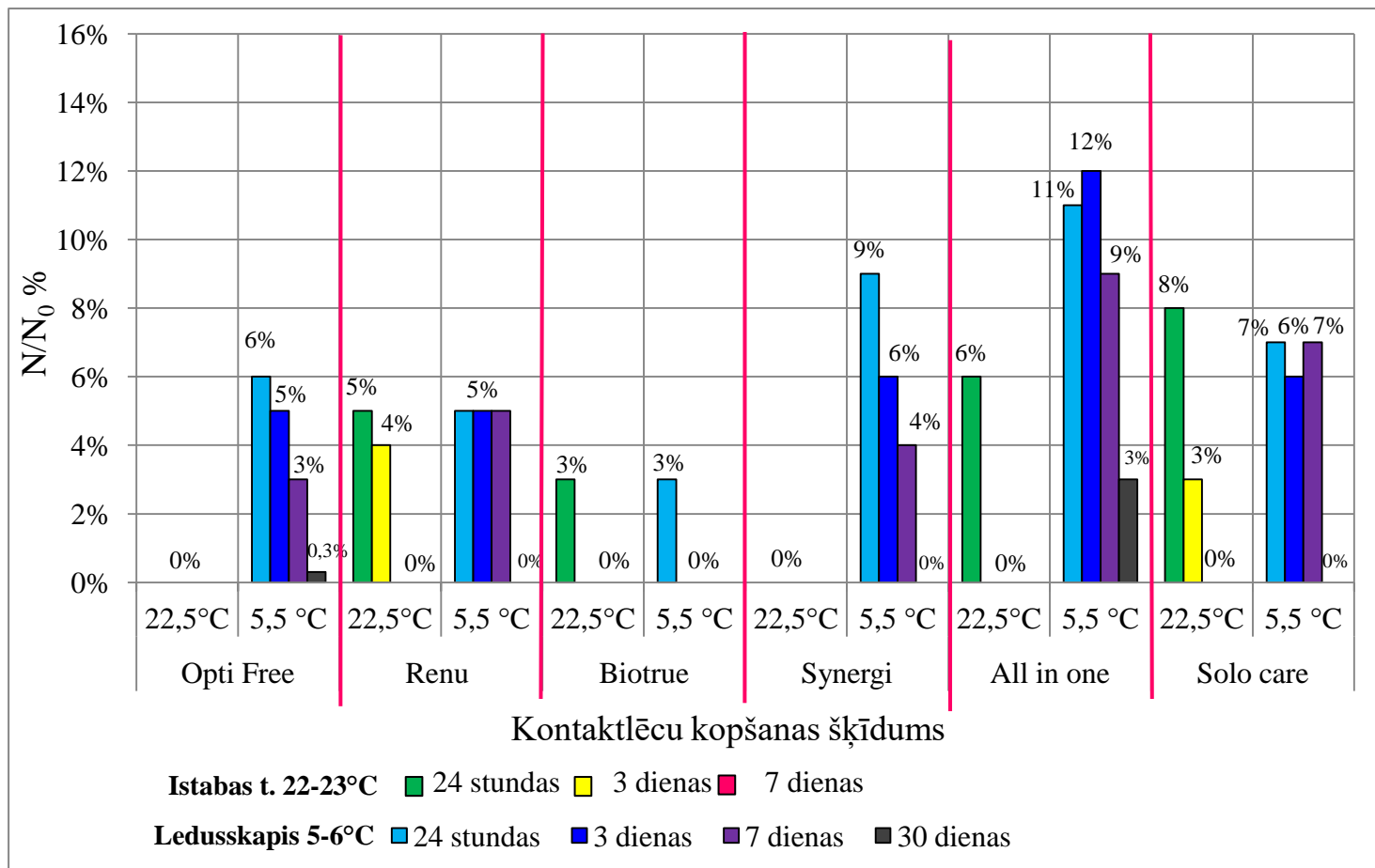
2.8. attēlā ir parādīts šķīdumu efektivitātes novērtējums pret *S.epidermidis* pie istabas temperatūras un uzglabājot ledusskapī pēc ražotāja ieteiktā minimālā dezinfekcijas laika.



2.8.att. 7 dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtējums pēc ražotāja ieteiktā dezinfekcijas laika pie istabas temperatūras un 5-6°C. N – izaugušo *S.epidermidis* koloniju skaits pēc dezinfektanta iedarbības, N₀ – sākotnējais *S.epidermidis* koloniju skaits

Izteikti zemāku efektivitāti pret *S.epidermidis* pie 5-6°C novēro šķīdumam *Opti free*. Jāatzīmē, ka *Synergi* un *All in one* (atzīmēts ar sarkanu 2.7.att.) ražotāji apgalvo, ka šķīdumi ir efektīvi arī pie zemām temperatūrām, taču iegūtie dati liecina par pretējo. *Renu Multiplus* un *Biotrue* sasniedz aptuveni vienādu efektivitāti pēc ražotāja ieteiktā dezinfekcijas laika gan pie istabas, gan pie zemākas uzglabāšanas temperatūras.

2.9. attēlā ir parādīts kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtējums pie pagarinātā iedarbības laika. Eksperiments tika veikts ar mērķi noskaidrot, cik droši ir nemainīt šķīdumu konteinerā, ja plānveida nomainas (mēneša, divu nedēļu u.c.) kontaktlēcas netiek lietotas katru dienu.



2.9.att. 7 dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes novērtējums pie pagarinātā iedarbības laika (3, 7 un 30 dienas). N – izaugušo *S.epidermidis* koloniju skaits pēc dezinfektanta iedarbības, N_0 – sākotnējais *S.epidermidis* koloniju skaits

Novēro likumsakarību, ka pie istabas temperatūras visi šķīdumi saglabā baktericīdu iedarbību ilgtermiņā – līdz tiek nodrošināta pilnīga *S.epidermidis* bojāeja, un šis efekts tiek saglabāts arī pēc 7 un 30 dienām.

Savukārt pie zemas uzglabāšanas temperatūras maksimālais efekts tiek sasniegts pēc 24 stundu iedarbības, un tālāk šķīdumi uzrāda bakteriostatisku aktivitāti, tātad neļauj mikroorganismiem vairoties. Eksperimentāli pierādīts, ka šis efekts saglabājas aptuveni līdz 7

dienām. To var skaidrot, pirmkārt, ar šķīduma efektivitātes zudumu pie zemām temperatūrām un, otrkārt, ar paša mikroorganisma adaptāciju un dabīgiem aizsargmehānismiem. Jāatzīmē, ka laika periodā no 7 līdz 30 dienām tika panākta pilnīga baktēriju iznīcināšana, jo pēc 30 dienu ilgas uzglabāšanas, *S.epidermidis* augšana netiek novērota nevienā paraugā. Diemžēl nav iespējams spriest, kad baktērijas tika iznīcinātas pilnībā, jo laika posmā no 7 līdz 30 dienām netika pārbaudīts parauga mikrobioloģiskais piesārņojums.

2.2.3. *S.epidermidis* iznīcināšanas dinamika

Baktēriju dzīšanas dinamiku var aprakstīt kā eksponenciālu funkciju:

$$I(t) = I_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau}}$$

I_0 – sākotnējā baktēriju koncentrācija

I – beigu baktēriju koncentrācija

t – laiks

τ - dzīšanas koeficients

Tā kā pirmais mērījums tika veikts pēc 30 minūtēm, nav iespējams spriest par baktēriju daudzumu laika posmā no 0 līdz 30 minūtēm, kad teorētiski tiek novērota straujāka baktēriju dzīšanas fāze. Lai salīdzinātu šķīdumu darbības aktivitāti 30 dienu garumā (balstoties uz eksperimentāli iegūtajiem datiem), sākumā tika veikta rezultātu normēšana attiecībā pret references rezultātu – pirmajiem eksperimenta rezultātiem, proti, izaugušo koloniju skaitu pēc 30 minūtēm.

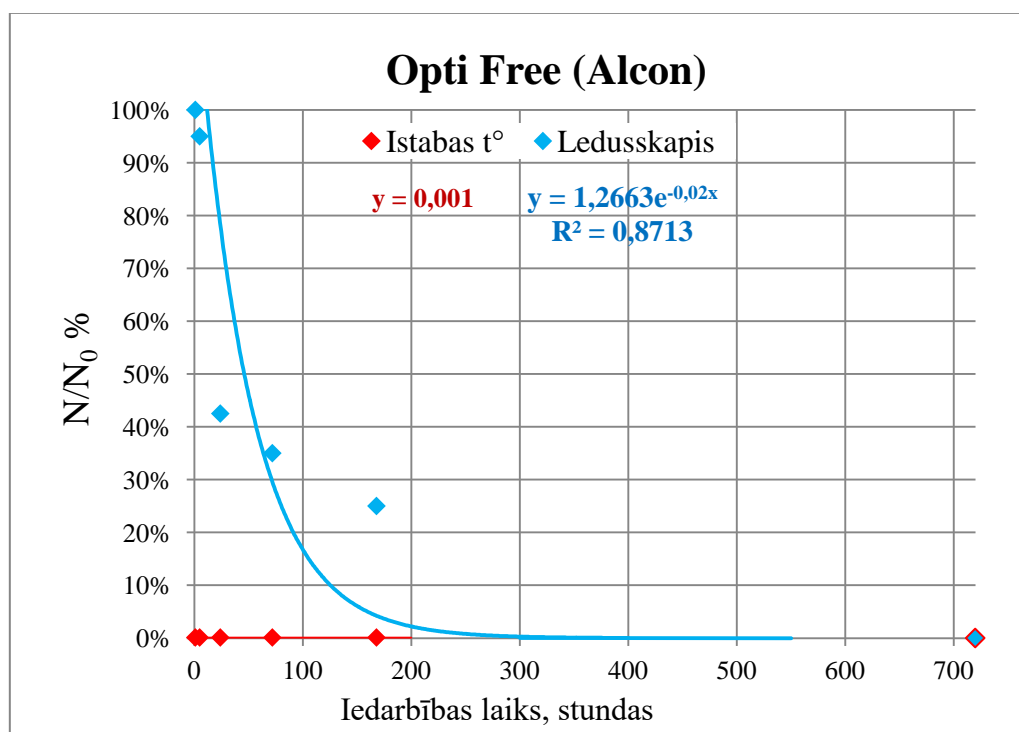
Lai pierādītu, ka dzīšanas ātrumi ir atšķirīgi, tika veikta iegūto datu eksponenciālā regresija un aprēķināts dzīšanas koeficients (sk. tabulu nr.2.7.), kas raksturo katra konkrētā kontaktlēcū kopšanas šķīdumu efektivitāti laika posmā no 30 minūtēm līdz 30 dienām, proti, cik liela ir baktēriju iznīcināšanas spēja un ātrums konkrētam kopšanas šķīdumam.

Jo lielāks dzīšanas koeficients τ , jo zemāka un lēnāka ir šķīduma darbības aktivitāte. Salīdzinot iegūtos dzīšanas koeficientus, var apgalvot, vai baktēriju dzīšanas laiki ir atšķirīgi pie istabas temperatūras un 5-6°C. Tika pieņemts, ka *Opti Free* šķīdumam dzīšanas koeficients pie istabas temperatūras vienāds ar 0, jo jau pēc 30 minūtēm uzsējumā netika novērota baktēriju augšana.

Dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu aktivitāte laika posmā līdz 30 dienām
(izteikta kā baktēriju dzīšanas koeficients).

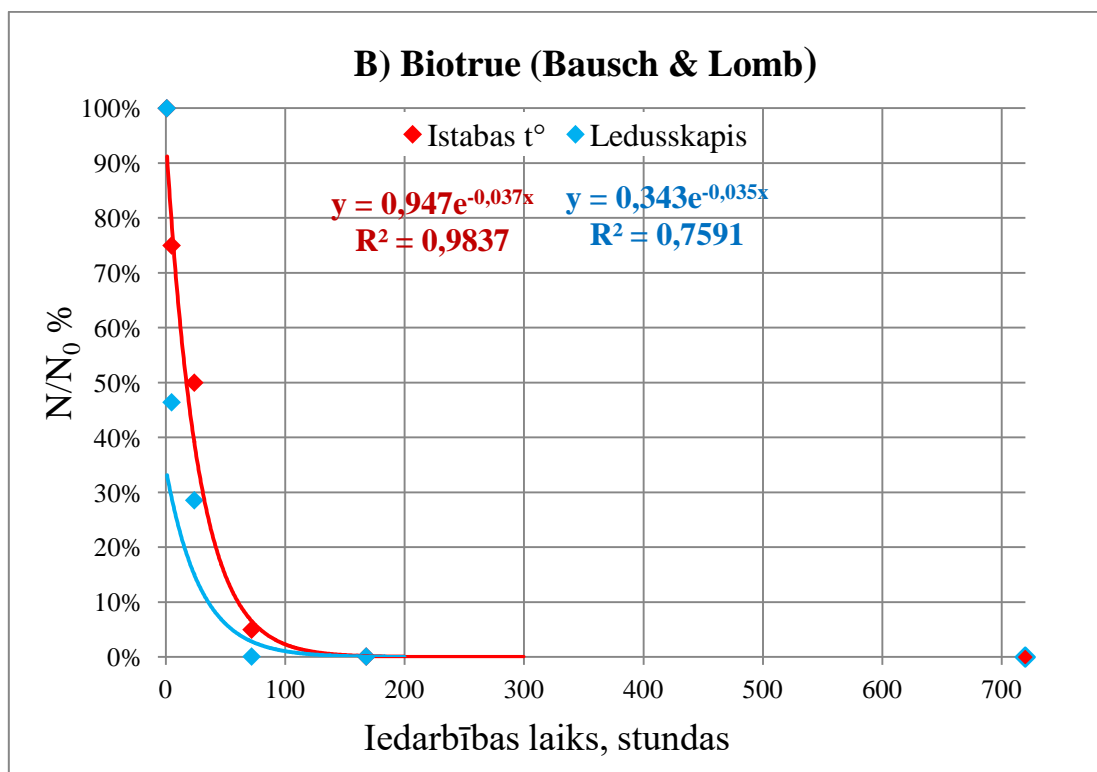
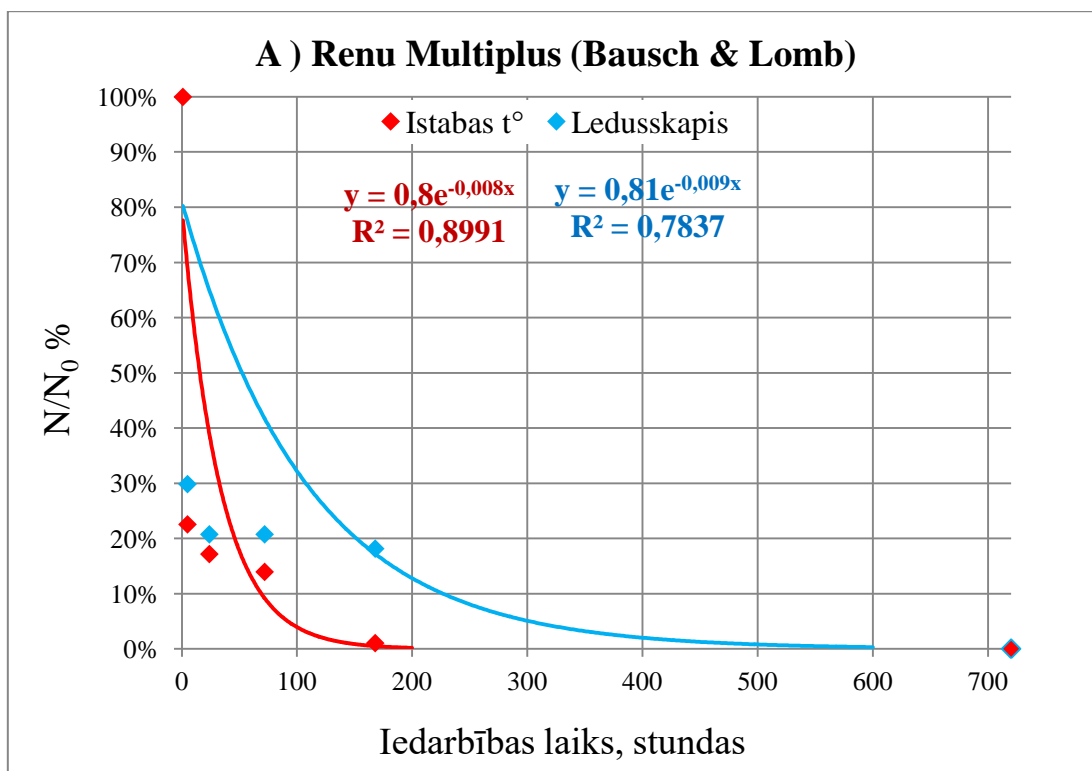
Kopšanas šķīdums	Dzīšanas koeficients, τ	
	Istabas t° 22-23 $^{\circ}$ C	Ledusskapis 5-6 $^{\circ}$ C
<i>Opti Free</i>	0	50
<i>Renu Multiplus</i>	125	111
<i>Biotrue</i>	27	29
<i>Synergi</i>	23	41
<i>All in one</i>	27	500
<i>Solo care</i>	26	111

No 2.7.tabulas izriet, ka dezinfekcijas efektivitāte pret *S.epidermidis* pie 5-6 $^{\circ}$ C salīdzinājuma ar istabas temperatūru ir izteikti zemāka šķīdumam *All in one* un *Solo care*. *Biotrue* un *Renu* šķīdumi uzrādīja aptuveni līdzīgu aktivitāti pie istabas un zemām temperatūrām. Katra konkrēta kopšanas šķīduma baktēriju iznīcināšanas spēja laika vienībā ir parādīta zemāk.

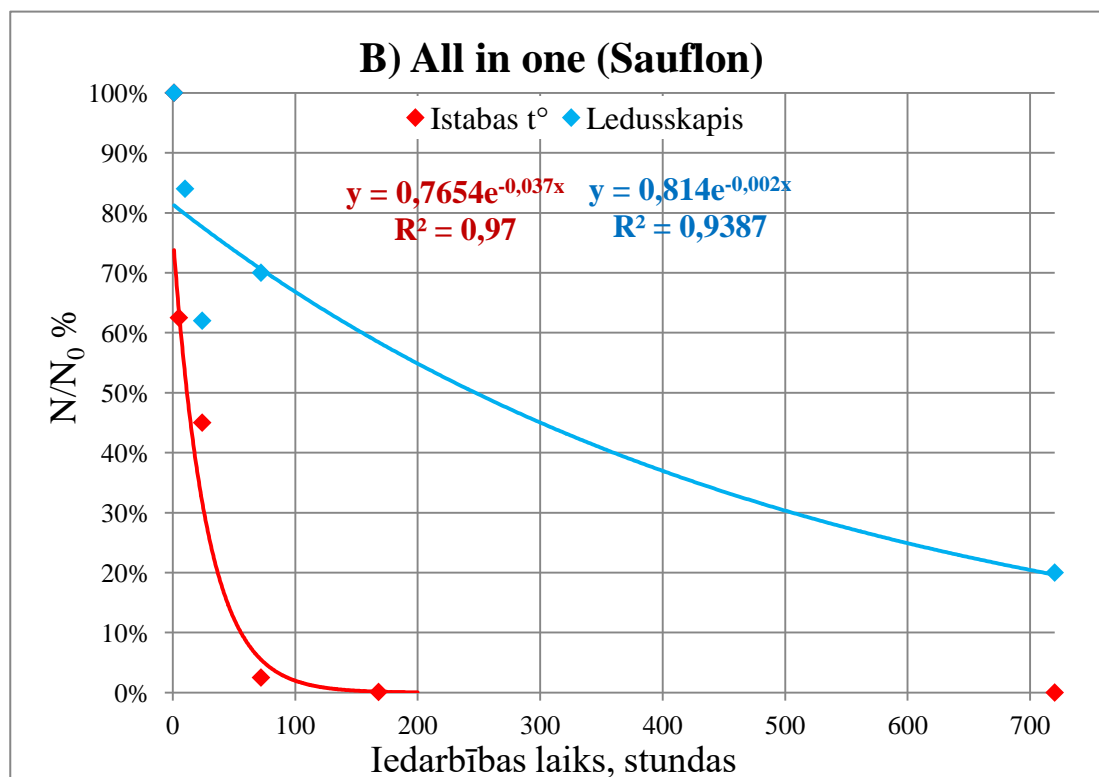
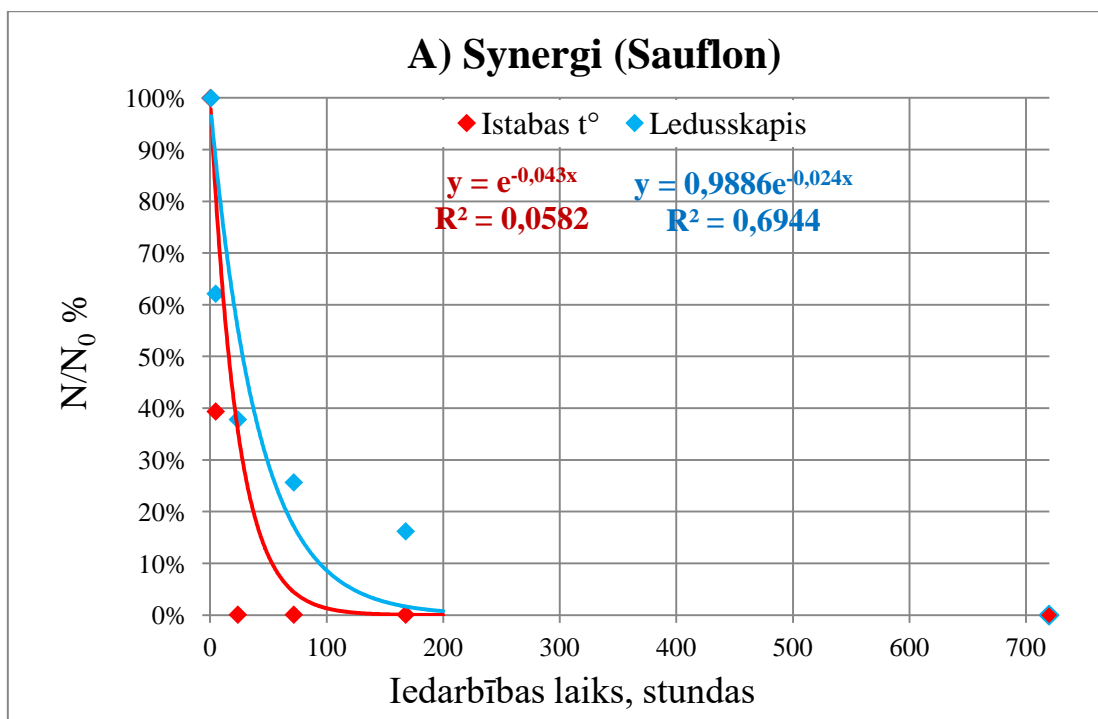


2.10 att. *S.epidermidis* iznīcināšanas dinamika atkarībā no iedarbības laika, lietojot *Opti Free* šķīdumu.

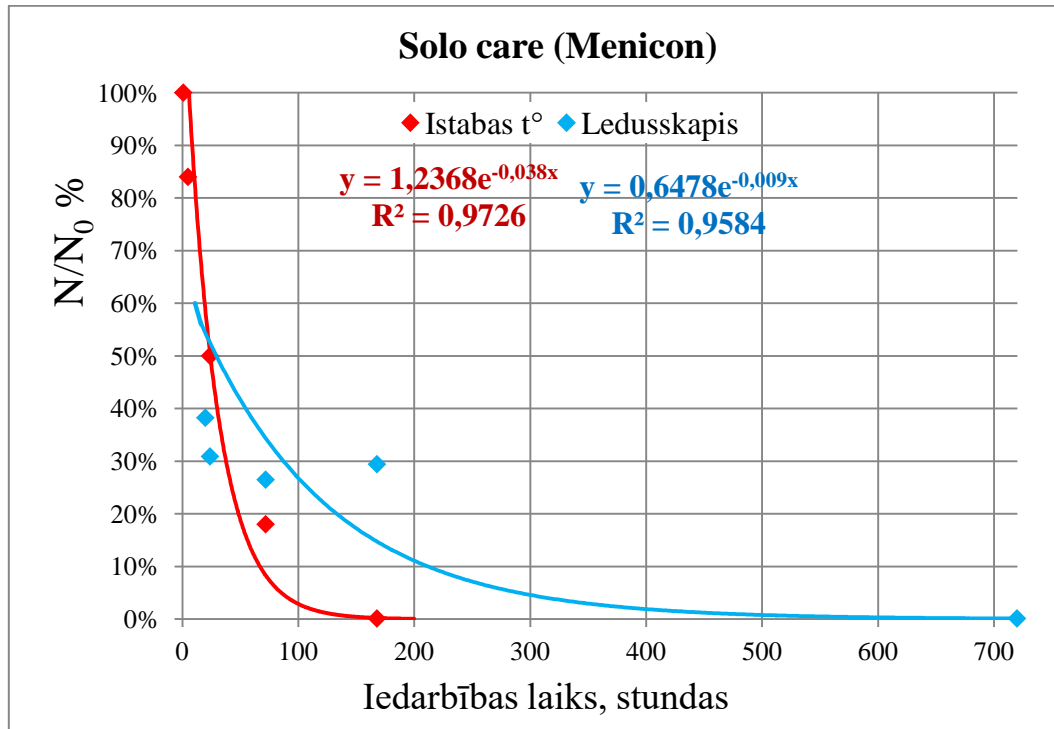
N – izaugušo *S.epidermidis* koloniju skaits pēc dezinfektanta iedarbības, N_0 – sākotnējais *S.epidermidis* koloniju skaits



2.11. att. *S.epidermidis* iznīcināšanas dinamika atkarībā no iedarbības laika, lietojot Renu (A) un Biotrue (B) šķīdumu. N – izaugušo *S.epidermidis* koloniju skaits pēc dezinfektanta iedarbības, N₀ – sākotnējais *S.epidermidis* koloniju skaits



2.12. att. *S.epidermidis* iznīcināšanas dinamika atkarībā no iedarbības laika, izmantojot Synergi (A) un All in one (B) šķīdumu. N_0 – sākotnējais *S.epidermidis* koloniju skaits. N – izaugušo *S.epidermidis* koloniju skaits pēc dezinfektanta iedarbības



2.13. att. *S.epidermidis* iznīcināšanas dinamika atkarībā no iedarbības laika, lietojot *Solo care* šķīdumu. N_0 – sākotnējais *S.epidermidis* koloniju skaits. N – izaugušo *S.epidermidis* koloniju skaits pēc dezinfektanta iedarbības

Balstoties uz divu faktoru ANOVA testa rezultātiem, nevar apgalvot, ka temperatūra ir statistiski nozīmīgs faktors baktēriju iznīcināšanai. Ar statistisko analīzi nav izdevies pamatot hipotēzi, ka kopšanas šķīdumu efektivitāte būtiski zūd pie zemām temperatūrām, taču kopējā tendence (sk.tabulu nr.2.6.) norāda uz to, ka hipotēze pierādās.

Šajā pētījumā dzīšanas koeficients neprecīzi apraksta dažādu kontaktlēcu kopšanas šķīdumu aktivitāti, kas norāda uz to, ka iznīcināšanas temps nav konstants. Tas, cik lielā mērā kontaktlēcu kopšanas šķīduma dezinfekcijas aktivitāti var skaidrot ar matemātisko modeli, atspoguļo determinācijas koeficients R^2 . Jo zemāka R^2 vērtība, jo vājāka rezultātu korelācija ar teorētisko līkni. Reālajā situācijā *Synergi* un *Opti free* šķīduma efektivitāte pie istabas temperatūras vismazākā mērā pakļaujas dezinfekcijas matemātiskajam modelim, tā dinamika nevar tikt aprakstīta ar vienu eksponenciālu funkciju visā laika periodā. Pastāv nepieciešamība atkārtot mērījumus, kā arī veikt papildus eksperimentus ar mazāku laika intervālu, pie īsākiem un garākiem iedarbības laikiem, lai iegūtu precīzāku rezultātu sadalījumu un datus varētu salīdzināt.

DISKUSIJA

Cilvēka higiēnas ieradumi ir svarīgs kontaktlēcu, to glabāšanas konteineru un aksesuāru mikrobioloģiskā piesārņojuma rādītājs, kas savukārt ir cieši saistīts ar acs infekciju izplatību populācijā. Kontaktlēcu mikrobioloģiskais piesārņojums visbiežāk ir saistīts ar radzenes infekcijām un iekaisumiem.

Līdzestības trūkums – vienmēr aktuāla problēma kontaktkorekcijas pacientu vidū. Zem jēdziena līdzestība saprot sekošanu ražotāja norādītai instrukcijai, redzes speciālista ieteikumiem un vispārpieņemtām Pārtikas un zāļu pārvaldes kontaktlēcu kopšanas un uzglabāšanas rekomendācijām. Bieži vien tie ir pretrunīgi un rada neskaidrības kontaktlēcu valkātājiem. Iespējams, ka vairākums acu infekcijas gadījumu kontaktlēcu lietotāju vidū ir dezinformētības sekas. Optometrista pienākums ir nodrošināt ar pareizu, uz pierādījumiem balstītu informāciju, kā pareizi lietot un kopt kontaktlēcas.

Arī kontaktlēcu kopšanas līdzekļu ražotāji nepārtraukti meklē veidu, kā uzlabot savu produkciju, ieviešot jaunas vielu kombinācijas, lielākas aktīvo ingredientu koncentrācijas un pilnveidojot lietošanas instrukcijas. Tā, piemēram, atsaucoties uz 2009.gada publicēto FDA aicinājumu, neviens no daudzfunkcionālo kopšanas šķīdumu ražotājiem vairs neapgalvo, ka tas ir pietiekami efektīvs bez kontaktlēcas berzēšanas. Mana pētījuma rezultāti liecina, ka pastāv nepieciešamība detalizētāk pārbaudīt esošo produkciju, izstrādāt un veidot jaunus optimālus šķīdumus un pārskatīt lietošanas instrukciju korektumu. Ar iegūtajiem datiem var izteikt minējumus, bet tas nav nepietiekami, lai izdarītu pamatotus secinājumus.

Šajā maģistra darbā tika pārbaudīta kontaktlēcu kopšanas šķīdumu iedarbība pret *S.epidermidis* standartcelmu. Tas neveido biofilmas, ir maz infekciozs, taču nav prasīgs pret barotnēm, kas būtiski atvieglo eksperimenta veikšanas kārtību. Koagulāzes negatīvie stafilokoki (*S.epidermidis* grupa) ir visplašāk pārstāvēta baktēriju grupa uz cilvēka ādas un gļotādas. Tieši *S.epidermidis* ir atzīts par vienu no biežākiem acu slimību ierosinātājiem. Neskatoties uz šiem faktiem, ISO standartā nav iekļauta kopšanas šķīduma dezinfekcijas efektivitātes pārbaude pret to. Arī zinātnisko publikāciju autori vairāk fokusējas uz ISO standartā iekļauto mikroorganismu pārbaudi un nepamatoti maz pētījumos tiek iekļauts efektivitātes novērtējums pret *S.epidermidis* (Rosenthal et al., 2003, Kuzman et al., 2008).

Analizējot literatūru tika noskaidrots, ka lielākā daļa eksperimentu, ko publicē zinātniskajos žurnālos, tiek veikti saskaņā ar ISO standartu nr.14729. Mikroorganisma koncentrācija izmeklējamajos paraugos tiek noteikta, izmantojot spektrometriskās metodes, līdz ar to mana eksperimenta dati tikai daļēji var tikt salīdzināti ar standartizētu metodiku, ko pielieto ārvalstu pētījumos.

Iepriekš minēju, ka šajā pētījumā tika veikti 2 posmi. Pirmajā eksperimenta posmā rīkojos, balstoties uz ISO standarta primāro kritēriju, kā arī ņemot vērā faktu, no 1 cm² cilvēks ādas normāli tiek izolētas aptuveni 10² - 10⁶ KVV. Standarts paredz, ka kopšanas līdzekli var uzskatīt par dezinfektantu, ja tiek panākts baktēriju skaita samazinājums 1000 reizēs. Manā eksperimentā (*in vitro*) visi līdzekļi uzrādīja ļoti labu rezultātu. Lai pārliecinātos par metodikas korektumu un, lai būtu iespējams kvantitatīvi novērtēt kopšanas līdzekļa efektivitāti, balstoties uz izaugušo baktēriju koloniju skaitu, tika veikts otrais eksperimenta posms. Pie lielākas koncentrācijas visi šķīdumi joprojām uzrāda baktericīdu iedarbību, bet parādījusies iespēja novērtēt to darbības aktivitāti atkarībā no iedarbības laika un paraugu uzglabāšanas temperatūras.

Literatūrā minēts, ka ne tikai aktīvā viela un tās koncentrācija, bet arī citi sastāvā ietilpstoši komponenti (piemērām, mitrinātāji, sāļi, buferi), kā arī to savstarpējā mijiedarbība ietekmē kontaktlēcu kopšanas šķīdumu dezinfekcijas efektivitāti. Atšķirības skaidro ar dažādu dezinfektanta koncentrāciju, kopšanas šķīduma īpašībām, piemērām, ar dažādu viskoelastību un jonu līdzsvaru (*Hildebrandt et al.*, 2012, *Wu et al.*, 2015). Diemžēl kopšanas līdzekļu sastāvā nav norādīta konkrēta citu ingredientu koncentrācija un precīzs kopšanas šķīdumu sastāvs (tas ir ražošanas noslēpums), ir grūti salīdzināt savā starpā un mēģināt vilkt atsevišķas paralēles, lai noskaidrotu efektīvāku vielu kombināciju.

Balstoties uz pētījumiem, kas ilgst teju 20 gadus, efektīvākais kontaktlēcu kopšanas līdzeklis ir 3% H₂O₂ sistēma (*Cano-Parra et al.*,1999, *Hildebrandt et al.*, 2012). *Aosept* bija vienīgais, kas radīja mikroorganismu aiztures zonu, novērtējot efektivitāti ar disku difūzijas metodi. Var secināt, ka 3% peroksīda sistēma ir spēcīgs dezinfektants, kas darbojas uzreiz. Svarīgi norādīt, ka nav korekti salīdzināt multifunkcionālus šķīdumus ar H₂O₂ sistēmām, ja tiek izlaista neitralizācijas fāze.

Manā pētījumā tika izmeklēti 3 šķīdumi, kuru aktīvā viela ir PHMB ar koncentrāciju 0,0001% *Renu Multiplus*, *Solo Care* un *All in one*. Kopumā ir novērojama tendence, ka šķīdumi uz PHMB bāzes uzrāda zemāku aktivitāti nekā polikvadu saturošie līdzekļi, un tas ir saskaņā ar ārvalstu pētījumu rezultātiem (*Kuzman et al.*, 2008, *Hildebrandt et al.*, 2012, *Iguban et al.*, 2013). *Biotrue*, kura sastāvā ietilpst ne tikai 0,0001% PHMB, bet arī polikvads, ir uzrādījis labāku efektivitāti nekā šķīdumi, kuru dezinfektants ir tikai PHMB.

Viens no svarīgiem dezinfekciju ietekmējošiem faktoriem ir iedarbības laiks. *Iguban et al.* (2013) secināja, ka minimālais laiks, kas nepieciešams efektīvai kontaktlēcu dezinfekcijai saskaņā ar ISO standartu, ir vismaz 6 stundas. Mana pirmā pētījuma rezultāti liecina, ka pie mazas *S.epidermidis* (ISO standartā neiekļauts mikroorganisms, ādas normālās mikrofloras pārstāvis) koncentrācijas visi šķīdumi uzrāda ļoti labu rezultātu jau pēc 30 minūšu iedarbības un saglabā šo efektu ilgākā laika posmā (līdz pat 30 dienām).

Hildebrandt et al. (2012) secināja, ka pagarinātais dezinfekcijas laiks (24 stundas) salīdzinājumā ar minimālo ražotāja ieteikto dezinfekcijas laiku (4 vai 6 stundas) būtiski neietekmēja šķīduma efektivitāti (līdzīgi kā manā pētījumā tika pārbaudīts *AoSept Plus*, *Opti Free* un *Solo care*) pret ISO standartā minētajiem mikroorganismiem.

Rosenthal et al. (2003) veica šķīduma efektivitātes pārbaudi pret *S.aureus* un *P.aeruginosa* pēc 7 dienu uzglabāšanas. Rezultāti liecināja, ka *Opti Free* saglabāja 87-100% no sākotnējās efektivitātes, savukārt šķīdumu uz PHMB bāzes rezultāti bija ievērojami sliktāki (*Renu MultiPlus* zaudēja pretmikrobu aktivitāti, *Solo Care* un *Complete* uzrādīja 28,2-36,2% no sākotnējās efektivitātes pret *S.aureus* un 60-73,5% - *P.aeruginosa* no sākotnējā efekta).

Interesanti, ka *Cano-Parra et al.* (1999) ir secinājis, ka pēc 15 stundām polikvadu saturošais *Opti-free* ir saglabājis aktivitāti tikai pret *S.epidermidis*, zaudējot to pret vairāk patogēnām baktēriju sugām (*E.coli*, *C.albicans*, *S.marcescens* un *P.aeruginosa*). Līdz ar to var apgalvot, ka nav iespējams spriest par šķīdumu efektivitāti un droši piedāvāt kontaktlēcu kopšanas rekomendācijas, balstoties tikai uz mana pētījuma rezultātiem.

Vairākos pētījumos ir pierādīts, ka labākā kopšanas līdzekļa aktivitāte tiek sasniegta istabas temperatūrā, un tas ir saskaņā ar mana pētījuma rezultātiem. Tā piemēram, *Leung et al.* (2004) eksperimentā tika pārbaudīta *Opti Free*, *Renu MultiPlus*, *Complete* un *Solo Care*

efektivitāte pret *S.aureus*, *P. aeruginosa* un *C. albicans* pie 4°, 25° un 30°C. Autors secināja, ka uzglabāšana ledusskapī ievērojami pasliktināja kontaktlēcu dezinfekcijas kvalitāti. Savukārt *Bullock et al.* (2008) veica multifunkcionālu šķīdumu un H₂O₂ sistēmu pārbaudi pret dažādām *Fusarium* sēnīšu sugām pie istabas temperatūras un ekstremāliem apstākļiem (60°C), un rezultāti liecināja, ka *Opti free* un *Renu* šķīdumi nav efektīvi pret *Fusarium* sēnītēm pie 60°C uzglabāšanas 4 nedēļu garumā.

Ne tikai kontaktlēcu kopšanas šķīduma aktivitāte, bet arī mikroorganisma īpašības var mainīties atkarībā no apkārtējās vides apstākļiem. Stafilokoku augšanas temperatūras diapazons ir plašs (aptuveni 6,5° - 46°C), taču tie spēj izdzīvot pie ekstremāliem apstākļiem, pateicoties adaptācijai (*Onyango et al.*, 2012). Zemas temperatūras ietekmē notiek gan morfoloģiskās, gan bioķīmiskās īpašības, proti, mainās šūnas diametrs, šūnas sienas biezums un proteīnu struktūra, kas noved pie atipiskās mikroorganisma formas veidošanās (angļu: *small colony variant phenotypes*). Tas ir dabisks pielāgošanas mehānisms - stresam pakļautas baktērijas veido „izdzīvošanas fenotipu”, aug lēnāk un paliek izturīgākas (*von Eiff et al.*, 1999).

Vairākums ražotāju nenorāda konkrētu temperatūru, kādā jāuzglabā kontaktlēcu kopšanas līdzeklis. Pie tām nav zināmi apstākļi, kādos šķīdumi tiek transportēti un uzglabāti, līdz tie nonāk pie patērētāja. Ir jāatzīst, ka šī rekomendācija nav uzsvērta arī optometrista kabinetā, taču tas ir svarīgs kopšanas līdzekļa efektivitāti ietekmējošais faktors, kuram nav pievērsta pietiekama uzmanība. Jāsecina, ka kontaktlēcu kopšanas šķīdumiem ir nepieciešams izstrādāt individuālas transportēšanas un uzglabāšanas rekomendācijas, kā arī FDA ir jāievieš jauni standarti, saskaņā ar kuriem tiks pārbaudīta kopšanas līdzekļa efektivitāte.

Šajā maģistra darbā tika pierādīta nepieciešamība veikt eksperimenta metodikas uzlabojumus. Pirmkārt, baktēriju koloniju skaitīšana nav optimāla metode dzīvotspējīgo baktēriju koncentrācijas noteikšanai paraugos. Lai eksperimenta rezultāti būtu pēc iespējas vairāk ticami pat pie viena mērījuma, nepieciešams izmantot optiskās metodes, nosakot parauga duļķojuma pakāpi.

Iepriekš noskaidrojām, ka optimālos apstākļos baktēriju iznīcināšanu veiksmīgi reprezentē *Chick-Watson* matemātiskais modelis - eksponenciāla funkcija. Mērnīku starpā joprojām notiek konkrētiem apstākļiem piemērotākā matemātiskā modeļa meklējumi. Mūsu gadījumā, lai precīzāk aprakstītu baktēriju populācijas samazinājumu, balstoties uz *Chick-Watson* matemātisko

modeli, ir nepieciešams veikt dezinfekcijas efektivitātes pārbaudi ar īsāku laika intervālu (minūte, 5 minūtes utt.), it īpaši eksperimenta sākumā, kad tiek novērota visstraujākā dezinfekcijas fāze. Būtu vērtīgi atrast minimālo dezinfekcijas laiku, kad tiek sasniegts pietiekami augsts rezultāts. Lai novērstu gadījuma kļūdas, kas varētu rasties, pagatavojot baktēriju suspensijas un paraugus, ir jāveic eksperimenta atkārtojumi, kas finansiālu apsvērumu dēļ netika izdarīti šajā darbā.

Maģistra darba ietvaros veiktie pētījumi ir neatkarīgi. Autors nepārstāv kontaktlēcu kopšanas šķīdumu ražotāju un piegādātāju intereses.

SECINĀJUMI

1. Visi kontaktlēcu kopšanas šķīdumi uzrāda baktericīdu aktivitāti pret *S.epidermidis* un saglabā efektu ilgtermiņā. Efektīvākais kontaktlēcu kopšanas šķīdums ir ūdeņraža peroksīda sistēma *Aosept Plus* un polikvadu saturošais daudzfunkcionālais šķīdums *Opti Free*.
2. Neviens no daudzfunkcionāliem šķīdumiem, izņemot polikvadu saturošo *Opti Free*, nerasniedz maksimālo efektu pēc ražotāja instrukcijā norādītā ieteicamā dezinfekcijas laika. Visdrošākais ekspozīcijas laiks, kas nepieciešams *S.epidermidis* iznīcināšanai *in vitro*, ir diennakts režīms.
3. Uzglabāšanas temperatūra ir kontaktlēcu dezinfekciju ietekmējošais faktors, nav ieteicama kontaktlēcu kopšanas šķīdumu uzglabāšana ledusskapī (5-6°C).

NOBEIGUMS

Maģistra darbā tika veikta mīksto kontaktlēcu kopšanas šķīdumu efektivitātes pārbaude pret *S.epidermidis* atkarībā no dažādiem apstākļiem. Maģistra darba mērķis tika sasniegts, taču rezultātu analīzes laikā saskaros ar grūtībām, jo katra kontaktlēcu kopšanas šķīduma efektivitāte tika pārbaudīta tikai vienreiz. Taču arī šie rezultāti pamato nepieciešamību izstrādāt un uzlabot gan kontaktlēcu kopšanas šķīdumus, gan to instrukcijas.

Darba gaitā tika iegūtas atziņas turpmākai eksperimenta uzlabošanai un pilnveidošanai. Būtu noderīgi veikt reālistiskiem apstākļiem pietuvināto eksperimentu, pārbaudīt kopšanas šķīdumu efektivitāti pret vairākām baktēriju sugām, klīniskiem izolātiem, baktēriju veidotām biofilmām, kā arī viensūņiem. Nepieciešams pārbaudīt kontaktlēcas, uzglabāšanas konteineru un kontaktlēcu kopšanas šķīduma mijiedarbību, izmeklēt jauno un nēsāto kontaktlēcu dezinfekcijas atšķirības. Kopšanas šķīduma efektivitāte jāpārbauda ne tikai uzreiz pēc pudeles atvēršanas, bet arī pēc ilgāka laika perioda.

Šis pētījums ir aicinājums kontaktlēcu valkātājiem pareizi rūpēties par acu veselību un mudinājums ražotājiem izstrādāt jaunus standartus un uzlabot savu produkciju.

PATEICĪBAS

Autore izsaka pateicību maģistra darba vadītājai, vadošai pētniecei Dr.habil.med. Aijai Žilevičai par veltīto laiku un atbalstu. Par palīdzību eksperimentālajā daļā pateicos biomedicīnas laborantei Ludmilai Bodgjai. Paldies optometristei Kristīnei Detkovai, SIA „Optometrijas centrs” par materiāliem – kontaktlēcu kopšanas šķīdumiem, docentam Jānim Dzenim par statistiskās analīzes ieteikumiem.

LITERATŪRAS SARAKSTS

Bullock, J.D., Warwar, R.E. & Laurel Elder B. (2008) Temperature Instability of ReNu With MoistureLoc A New Theory to Explain the Worldwide Fusarium Keratitis Epidemic of 2004-2006, *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 106(11), 117-126.

doi:10.1001/archophth.126.11.1493

Bourcier, T., Thomas, F., Borderie, V., Chaumeil, C. & Laroche, L. (2003). Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases, *British Journal of Ophthalmology*, 87(7), 834-838.

Boost, M., Lai, S., Ma, C. & Cho, P. (2010) Do multipurpose contact lens disinfecting solutions work effectively against non-FDA/ ISO recommended strains of bacteria and fungi? *Ophthalmic and Physiological optics*, 30, 12-19.

Prescott, D. (1972) *Methods in Cell Biology* (5th ed.), Elsevier, 230.

Hildebrandt, C., Wagner, D. & Kohlmann, T. (2012) In-vitro analysis of the microbicidal activity of 6 contact lens care solutions, *BMC Infectious Diseases*, 12(241).

DOI: 10.1186/1471-2334-12-241

Iguban, E., Pablo, J., Nanagas, R. & Mesa-Rodriguez, R.F. (2013) The Antimicrobial Efficacy of Multipurpose Contact Lens Solutions on Standart Strains of Common Ocular Pathogens, *Philippine Journal of Ophthalmology*, 38, 35-42.

ISO 14729, Ophthalmic optics - Contact lens care products - Microbiological requirements and test methods for products and regimens for hygienic management of contact lenses (2001)

Pieejams: <http://vsegost.com/Catalog/50/50775.shtml>

Jones, L. & Senchyna, M. (2007) Soft Contact Lens Solutions Review Part 1: Componets of Modern Care Regimens, *Optometry in Practice*, 8, 45-56.

Kuzman, T., Pokupec, R., Kalauz, M., Juri, J., Bujger, Z. & Presečki, A. (2008) A comparative study of antibacterial and antifungal efficacy of soft contact lens disinfecting solutions, *Acta Clinica Croatia*, 47, 43-48.

- Lambert, R. & Jonhston, M. (2000) Disinfection kinetics: a new hypothesis and model for the tailing of log-survivor/time curves, *Journal of Applied Microbiology*, 88, 907-913.
- Lee, P., Chong, J. & Abu Nor S. (2014). Evaluation of Microbial Contamination on Contact Lenses among University Students, *Transactions on Science and Technology*, 1(1), 36-42.
- Leung, P., Boost., M.V. & Cho, P. (2004) Effect of storage temperatures and time on the efficacy of multipurpose solutions for contact lenses, *Ophthalmic and Physiological optics*, 24, 218-224.
- McDonnel, G. & Russel, A.D. (1999) Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147-179.
- Mohammadinia, M., Rahmani, S., Eslami, G., Ghassemi-Broumand, M., Amiri, M.A., Aghaie, G., Tabatabaee, S.M., Taheri, S. & Behgozin, A. (2012) Contact lens disinfecting solutions antibacterial efficacy: comparison between clinical isolates and the standard ISO ATCC strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, *Eye*, 26(2), 327–330.
- Nzeako, B.C. & AlSumri, S. (2011) The Disinfecting Potential of Contact Lens Soutions used by Sultan Qaboos University Students, *Sultan Quaboos University Journal*, 11(2): 252–258.
- Onyango, L.A., Dunstan, R.H., Gottfries, J., Eiff, C. & Roberts, T.K. (2012) Effect of Low Temperature on Growth and Ultra-Structure of *Staphylococcus* spp, *PLoS ONE*, 7(1): e29031.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029031>
- Rosenthal, R.A., Henry, C.L., Stone, R.P. & Schlech, B.A.(2003) Anatomy of a regimen: consideration of multipurpose solutions during non-compliant use, *Contact Lens and Anterior Eye*, 26 (1), 17-26.
- Rosenthal, R.A., McAnally, C.L. & McNamee, L.S. (2000) Broad spectrum antimicrobial activity of a new multi-purpose disinfecting solution, *Contact Lens and Anterior Eye*, 26, 120-126.
- Rosenthal, R.A., Sutton, S.W. & Schlech, B.A. (2002) Review of Standard for Evaluating the Effectiveness of Contact Lens Disinfectants, *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 56(1), 37-50.

Sankaridurg P.R., Sharma, S. & Willcox, M. (2000). Bacterial colonization of disposable soft contact lenses is greater during corneal infiltrative events than during asymptomatic extended lens wear. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 4420– 4424.

Schunk, T. & Schweisfurth, R. (1989). Disinfectant Performance of Oxidizing Contact Lens Solutions: Quantitative Suspension Tests with Organic Contamination. *Contactologia*, 11, 84-89.

Sowmiya, M., Malathi, J., Madhavan, H., Priya, P., Therese, K. (2011) Ocular Propionibacterium Acnes: A Study On Antibiotic Susceptibility Profiling And Their Epidemiological Pattern, *The Internet Journal of Microbiology*, 9(2), 2.

Stapleton, F., Keay, L., Edwards, K., Naduvilath, T., Dart, J.K. & Brian, G. (2008), The incidence of contact lens-related microbial keratitis in Australia, *Ophthalmology*, 115, 1655-1662.

Stapleton, F. & Carnt, N. (2012) Contact lens related microbial keratitis, *Eye*, 26, 185-193.

Sutton, R.,J.,F., Porter, D.A., Mowrey-McKee, M.F. (1991) D-value determinations are an appropriate measure of disinfecting activity of common contact lens solutions, *Applied and Environmental Microbiology*, 57(7), 2021.

Sweeney, D.F., Willcox, M.D. & Sansey N. (1999) Incidence of contamination of preserved saline solutions during normal use, *CLAO J.*, 25, 167–175.

Szczotka-Flynn, L.B., Imamura, Y., Chandra, J., Yu, C., Mukherjee, P.K., Pearlman, E. & Ghannoum, M. (2014) Increased resistance of contact lens related bacterial biofilms to antimicrobial activity of soft contact lens care solutions, *Cornea*, 28(8), 918–926.

Szczotka-Flynn, L.B., Pearlman, E. & Ghannoum, M. (2010). Microbial Contamination of Contact Lenses, Lens Care Solutions, and Their Accessories, *Eye Contact Lens*, 36(2), 116-129.

Vinoth Raja, A., Manimaran, Selva, M., Sasikumar, P., Balasubramanian, S. (2015) Review of Standard for Evaluating the Effectiveness of Contact Lens Disinfectants, *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 56(1), 37-50.

von Eiff, C., Vaudaux., P., Kahl, B., Lew, D., Emler, S., Schmidt, A., Peters, G. & Proctor, R. (1999) Bloodstream infections caused by small-colony variants of coagulase-negative staphylococci following pacemaker implantation, *Clinical Infectious Diseases*, 29, 932-934.

Wilson, L.A., Sawant, A.D. & Ahearn, D.G. (1991) Comparative efficacies of soft contact lens disinfectant solutions against microbial films in lenscases, *Archives of Ophthalmology* 109, 1155-1157.

Wu, Y., Carnt, N., Wilcox, M. & Stapleton, F. (2010a) Contact Lens and Lens Storage Case Cleaning Instructions: Whose Advice Should We Follow? *Eye & contact lenses*, 36(2)

Wu, Y., Carnt, N. & Stapleton, F. (2010b) Contact lens user profile, attitudes and level of compliance to lens care, *Contact lens & anterior eye*, 33 (4), 183-188.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clae.2010.02.002>

Wu, Y., Willcox, M. & Stapleton, F. (2011) The Effectiveness of Various Cleaning Regimens and Current Guidelines in Contact Lens Case Biofilm Removal, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52, 5287-5292.

DOI:10.1167/iovs.10-6785

Wu, Y., T., Willcox, M. & Stapleton, F. (2015) The Effect of Contact Lens Hygiene Behavior on Lens Case Contamination, *Optometry and Vision Science*, 92(2), 167-174.

1. PIELIKUMS

Kontaktlēcu kopšanas šķīdumu detalizēts sastāvs

Kontaktlēcu kopšanas šķīdums		Sastāvs	
		Dezinfektants	Citi komponenti
Daudzfunkcionālais līdzeklis	<i>Opti Free Express</i> Alcon	Polikvaternijs 0,001% <i>Aldox</i> 0.0005%	nātrija citrāts, borskābe, nātrija hlorīds, sorbitols, <i>Tetronic</i> un etilēndiamīntetraetiķskābe (EDTA), edetāta dinātrijs
	<i>Renu MultiPlus</i> Bausch & Lomb	PHMB 0,0001%	<i>Hydranate</i> (hydroxyalkylphosphonate), borskābe, edetāta dinātrijs, nātrija hlorīds, poloksamīns, nātrija borāts, nātrija hlorīds
	<i>Biotrue</i> Bausch&Lomb	PHMB 0.00013% Polikvaternijs 0.0001%	hialuronskābe, sulfobetaīns, poloksamīns, borskābe, nātrija borāts, edetāta dinātrijs, nātrija hlorīds
	<i>Synergi</i> Sauflon	Bezkonserantu kopšanas šķīdums, Oxipol 0,1% nātrija hlorīds, nātrija fosfāti	
	<i>All in one</i> Sauflon	PHMB 0,0001%	nātrija hialuronāts, poloksamērs, nātrija un kālija hlorīds
	<i>Solo care</i> Menicon	PHMB 0,0001%	<i>Hydrolock</i> (dekspantenols, sorbitols) edetāta dinātrijs, poloksamērs 402, nātrija fosfāti
Peroksīda sistēma	<i>Aosept Plus</i> Alcon	3% H ₂ O ₂	poloksamērs

2. PIELIKUMS

2.2.2 a eksperimenta rezultāti

Izaugušo koloniju skaits atkarībā no kontaktlēcu kopšanas šķīduma iedarbības laika un pudeles uzglabāšanas temperatūras. Sākotnējā *S.epidermidis* koncentrācija paraugā bija $1,5 * 10^4$.

Kontaktlēcu kopšanas šķīdums	Istabas temperatūra 21-23 °C						Ledusskapis 5-6°C					
	30 minūtes	4-6 stundas	24 stundas	3 dienas	7 dienas	30 dienas	30 minūtes	4-6 stundas	24 stundas	3 dienas	7 dienas	30 dienas
<i>Opti Free PureMoist</i> Alcon	3	2	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0
<i>Renu MultiPlus</i> Bausch & Lomb	4	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>BioTrue</i> Bausch&Lomb	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Synergi</i> Sauflon	12	4	2	3	0	0	10	5	2	0	0	0
<i>All in one</i> Sauflon	3	0	0	0	0	0	14	7	0	0	0	0
<i>SoloCare Aqua</i> Menicon	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3. PIELIKUMS

2.2.2 b eksperimenta rezultāti

Izaugušo koloniju skaits 1 cm² atkarībā no kontaktlēcu kopšanas šķīduma iedarbības laika un pudeles uzglabāšanas temperatūras. Sākotnējā *S.epidermidis* koncentrācija paraugā - 0,5 * 10⁶ KVV/ml.

Kontaktlēcu kopšanas šķīdums	Istabas temperatūra 21-23 °C						Ledusskapis 5-6°C					
	30 minūtes	4-6 stundas	24 stundas	3 dienas	7 dienas	30 dienas	30 minūtes	4-6 stundas	24 stundas	3 dienas	7 dienas	30 dienas
<i>Opti Free PureMoist</i> Alcon	1	0	0	0	0	0	40	38	17	14	10	1
<i>Renu MultiPlus</i> Bausch & Lomb	93	21	16	13	1	0	77	23	16	16	14	0
<i>BioTrue</i> Bausch&Lomb	20	15	10	1	0	0	28	13	8	0	0	0
<i>Synergi</i> Sauflon	33	13	0	0	0	0	74	46	28	19	12	0
<i>All in one</i> Sauflon	40	25	18	1	0	0	50	42	31	35	28	10
<i>SoloCare Aqua</i> Menicon	50	42	25	9	0	0	68	26	21	18	20	0

