

# Bacilos gram negativos, contaminantes más prevalentes en lentes de contacto blandos usados<sup>1</sup>

Diana Castiblanco\* / Martha Fabiola Rodríguez\*\*  
Myriam Teresa Mayorga C\*\*\*

## RESUMEN

Las bacterias son los contaminantes más frecuentes de los lentes de contacto. **Objetivo:** identificar el tipo de depósitos microbiológicos en lentes de contacto blando (LCB) usados. **Materiales y Métodos:** 100 lentes de contacto blandos de usuarios o de prueba de las ópticas, recolectándose 25 lentes para cada grupo de la FDA (Grupo 1, 2, 3 y 4, según el contenido de agua e ionicidad del polímero). Los lentes se almacenaron por 20 días en sus estuches individuales hasta su estudio. A cada lente, se le realizó observación directa en lámpara de hendidura para clasificar depósitos visibles según criterio de RUDKO, examen directo con azul de lactofenol y cultivos microbiológicos. **Resultados:** según los grupos de la FDA, la contaminación microbiana en el grupo 1 fue del 80% (20/25) por bacterias y el 8% (2/25) por hongos. En el grupo 2, el 88% (22/25) presentó bacterias, el 4% (1/25) hongos. En el grupo 3, el 72% (18/25) presentó bacterias, el 20% (5/25) hongos. En el grupo 4, el 80% (20/25) presentó bacterias, el 12%

(3/25) hongos. La presencia de hongos siempre fue concomitante con la de bacterias. Según los criterios de Rudko, se obtuvo que, de la categoría I, el 43,2% (17/37) tenía contaminación microbiológica por bacterias y/u hongos. El 100% de los lentes de categoría II (56/56) y categoría IV (7/7) estaban contaminados. El tipo de bacterias más frecuentemente identificadas en los cultivos, fueron bacilos y cocobacilos Gram negativos. **Conclusiones:** los bacilos Gram negativos fueron los microorganismos que más se encontraron en los lentes de contacto blando usados después de 20 días de almacenamiento.

**Palabras clave:** FDA, depósitos, Rudko, lentes de contacto blando, bacilos y coco bacilos Gram negativos.

<sup>1</sup> Investigación apoyada por la Facultad de Optometría y el Departamento de Ciencias Básicas de la Universidad de La Salle.

\* Optómetra estudiante de la Maestría en Ciencias de la Visión de la Universidad de La Salle.

\*\* Bacterióloga M.Sc. Inmunología. Docente Investigador de la Universidad de La Salle. Grupo Investigación en Inmunología Ocular.  
Correo electrónico: martharodriguez@lasalle.edu.co

\*\*\*Optómetra especialista en lentes de contacto. Docente Investigador de la Universidad de La Salle. Grupo Óptica y Lentes de Contacto.

Fecha recibido: 13 de agosto de 2007.

Fecha aceptado: 5 de octubre de 2007.

## **GRAM NEGATIVE BACILLUS: THE MOST FREQUENT CONTAMINANT IN WORN SOFT CONTACT LENSES**

### **ABSTRACT**

Bacteria are the most frequent contaminants in contact lenses. **Objective:** The aim of this study is to identify the type of microbiological deposits in worn soft contact lenses. **Materials and methods:** 100 soft contact lenses from wearers or used in the optical shops were collected, 25 for each group of the Food and Drugs Administrations, (FDA) (group 1, 2, 3, and 4 according to water content and polymer ionicity). Contact lenses were stored for 20 days in their respective individual cases. Each lens was directly observed in a slit lamp to classify visible deposits according to RUDKO criterion, blue lactophenol direct examination and microbiological cultures. **Results:** According to the Food and Drugs Administrations groups, the microbial contamination in group 1 was 80% (20/25) with bacteria and 8% (2/25) with fungi. In group 2 was 88% (22/25) with bacteria, and 4% (1/25) with fungi. In group 3 was 72% (18/25) with

bacteria, and 20% (5/25) with fungi. In group 4 was 80% (20/25) with bacteria, and 12% (3/25) with fungi. Fungi presence was always concomitant with bacteria. According to Rudko criterion 43.2% of category I lenses (17/37) had microbiological contamination with bacteria or fungi. 100% of category II lenses (56/56) and category IV lenses (7/7) were contaminated. The most frequent type of bacteria identified in the culture was bacillus and gram-negative coccobacillus. **Conclusions:** gram-negative bacilli were the microorganisms most found in worn soft contact lenses after 20 days of storage.

**Key words:** Food and Drugs Administrations (FDA), deposits, Rudko, soft contact lenses, gram-negative bacillus and coccobacillus.

## INTRODUCCIÓN

Los lentes de contacto blandos convencionales están fabricados con una combinación de diversos polímeros (hidrogeles) con contenidos de agua que oscilan entre el 38% y el 80%. Estos polímeros poseen propiedades físicas, químicas y estructurales diferentes,

de forma que dotan al lente con características específicas de hidratación, porosidad, transmisibilidad al oxígeno, humectabilidad en la superficie, durabilidad, etc. Atendiendo a la FDA los lentes de contacto blandos se clasifican en cuatro grupos según el contenido de agua e ionicidad del polímero (Tabla 1).

**TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE LOS LENTES DE CONTACTO BLANDO SEGÚN LA FDA**

GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4
Bajo contenido acuoso (<50% H2O)	Alto contenido acuoso (>50% H2O)	Bajo contenido acuoso (<50% H2O)	Alto contenido acuoso (>50% H2O)
Polímeros no iónicos	Polímeros no iónicos	Polímeros iónicos	Polímeros iónicos

Uno de los problemas más frecuentes de los usuarios de lentes de contacto es la contaminación por microorganismos, los cuales se adhieren rápidamente a los lentes formando biocapas (McLaughlin-Borlace y cols., 1998). Las biocapas o *Biofilms* se refieren a microcolonias y células individuales adheridas irreversiblemente a un sustrato o interfase, embebidas en una matriz generalmente anionica, constituida por sustancias poliméricas, altamente hidratada, producida por el mismo microorganismos. Una vez se forma esta matriz, se constituye una estructura viscosa y elástica muy fuerte, resistente a la destrucción mecánica (Donlan y Costerton, 2002).

Durante el uso, los lentes de contacto blando adsorben la película lagrimal formando una cubierta rica en proteínas, lípidos, azúcares y otras sustancias que facilitan la adherencia y mantenimiento de los microorganismos en este tipo de medio (Williams y cols., 1997). Es así, como los lentes de contacto sirven como sustrato pasivo, pero constante para la adherencia, colonización y crecimiento bacteriano.

Los microorganismos usualmente aislados de los lentes de contacto incluyen: *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Serratia* spp., *E. coli*, *Proteus* spp., and *Candida* spp (Pepouse, 1996). La adherencia de los

microorganismos a los lentes de contacto depende de múltiples factores, del lente y del usuario, las soluciones de mantenimiento, estuches, la manipulación, tiempo de uso, así como también de las propiedades intrínsecas del microorganismo contaminante. En los lentes de contacto usados, *Pseudomona* y *Staphylococcus* son los microorganismos más aislados (Lipener y cols., 1995).

En los pacientes asintomáticos existen bajos niveles de colonización por bacterias Gram positivas, principalmente *Staphylococcus*. Los bacilos Gram negativos son los contaminantes más frecuentes de los lentes de contacto de usuarios sintomáticos (Willcox y cols., 2001), particularmente *Pseudomona spp* y *Serratia spp*, (Holden y cols., 1996).

Los estuches de los lentes de contacto, se han propuesto como la principal fuente de contaminación de los lentes, debido a la formación de biofilms que prolongan el tiempo de retención de los microorganismos e incrementan su potencial patogénico (McLaughlin y cols., 1998; Bharathi y cols., 2007). El inapropiado mantenimiento de los lentes por malas condiciones higiénicas, también ha sido frecuentemente asociado con la contaminación microbiana (Hart, 1987; Yung y cols., 2007; Feys 2004). La efica-

cia de los líquidos de limpieza y de mantenimiento no cubre todos los microorganismos, ya que muchos de los contaminantes, especialmente los hongos y bacterias Gram negativas, como *Pseudomona* pueden sobrevivir en estas soluciones (Lakkis y Fleiszig, 2001; Mayo y cols., 1987).

Los estudios realizados *in vitro* para controlar cada una de estas variables no son muy concluyentes. La adherencia preferencial, de cepas de bacterias identificadas, sobre lentes no usados, clasificados según la FDA, han reportado que los lentes de contacto del grupo 2, hechos con polímeros no iónicos de alto contenido de agua unen mayor cantidad de *Pseudomona aeruginosa*, mientras que los del grupo 1 (polímero no iónico-bajo contenido acuoso) unen la menor cantidad de bacterias (Dang y cols., 2003). Miller y Ahearn (1987) reportaron mayor adherencia de *Pseudomona* a los lentes no iónicos, que pueden ser influenciada por la cepa de bacteria, PH, concentración de electrolitos y tiempo de exposición, pero independiente del grado de humedad. En cuanto al tipo de microorganismo la capacidad de adherencia de *P. aeruginosa* es 10 veces mayor que la del *S. epidermidis* (Ahanotu y cols., 2001). Los estudios *in vivo* no muestran relación entre el tipo de material de los lentes y la frecuencia de contaminación de los mismos (Gopinathan y cols., 1997; Lawin-Brussel y cols., 1991), una posible explicación podría ser debido a la adsorción de sustancias de la lágrima, con formación de depósitos que cambian las propiedades fisicoquímicas originales del lente (Bruinsma y cols., 2002).

Este trabajo tuvo como objetivo determinar el tipo de microorganismos que prevalecen en lentes de contactos blandos usados, clasificados según la FDA, después de 20 días de almacenamiento y su relación con los depósitos agrupados según el método Rudko.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Muestra:** 100 lentes de contacto blandos de diferentes marcas se obtuvieron de pacientes y ópticas de

diferentes ciudades del país. Los lentes se clasificaron según los grupos de la FDA hasta obtener 25 de cada grupo, 72 lentes fueron obtenidos de pacientes y 28 fueron lentes de prueba de ópticas. Los lentes de uso programado fueron reemplazados entre 3 y 4 meses y los de uso extensivo, el tiempo de reemplazo varió entre 8 y 16 meses. Los lentes se mantuvieron en sus estuches individuales, sin abrirlos hasta su procesamiento (20 días).

**Examen cualitativo de los depósitos:** se utilizó una lámpara de Hendidura marca Burton del Instituto de Investigaciones Optométricas (IIO) de la Universidad de La Salle. Estos fueron observados tal y como provenían del lugar de origen, todos los lentes estaban hidratados. El examen se realizó en condiciones de esterilidad y fueron colocados nuevamente en su estuche, para su manipulación se utilizaron escobillones previamente esterilizados y guantes desechables. Los lentes se revisaron con aumento de 10X, y se clasificaron según los criterios de RUDKO:

- I: Depósitos no visibles en lente hidratado o deshidratado con 15X de magnificación.
- II: Depósitos visibles en lente hidratado con 15X de magnificación.
- III: Depósitos visibles en lente deshidratado sin magnificación.
- IV: Depósitos visibles en lente hidratado sin magnificación.

**Examen Microbiológico:** cultivos: cada lente de contacto se retiró del estuche con un escobillón estéril y se realizó la siembra en agar sangre y se incubó a 37°C por 24 horas en condiciones aeróbicas. Las colonias obtenidas se identificaron microscópicamente con la coloración de Gram a 100X. Cada tipo de colonia diferenciada macroscópicamente se tomó con asa recta, se realizó el frotis y la coloración de Gram. Lo anterior para cada uno de los cultivos de los lentes.

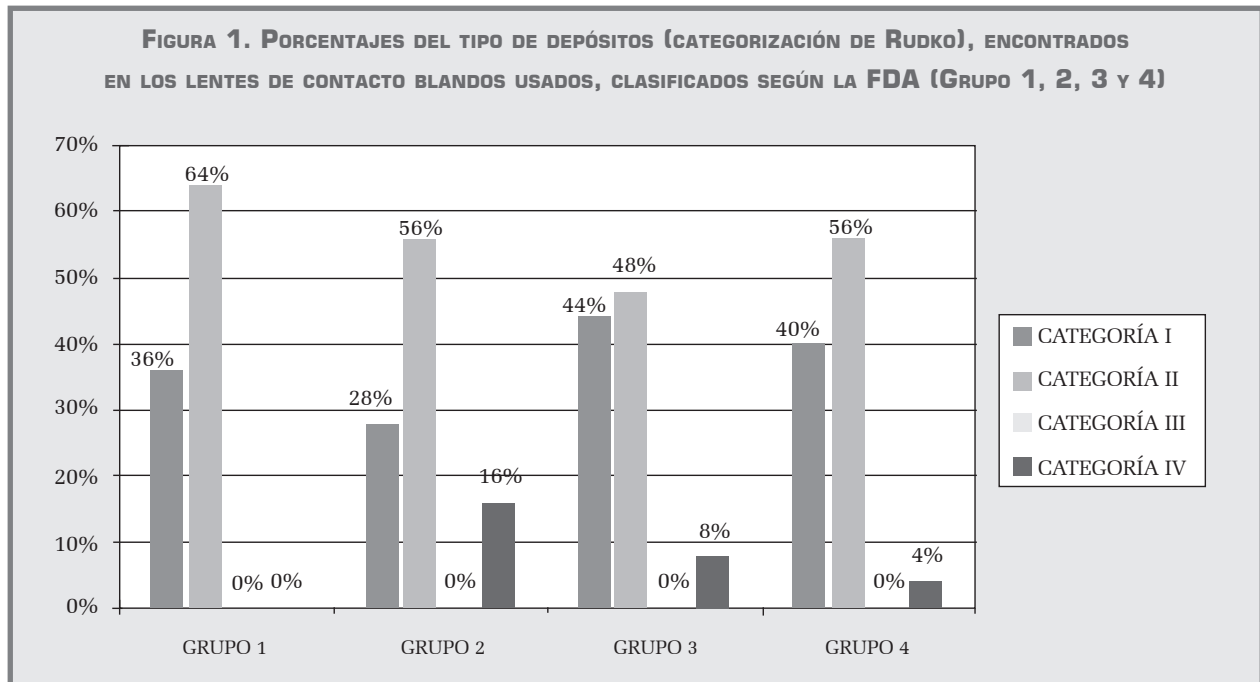
Examen en fresco: después del cultivo, los lentes se colocaron directamente entre lámina y laminilla adicionando una gota de solución salina y/o azul de lactofenol al 10%. La lectura se realizó en 10X y 40X para establecer la presencia de hifas o levaduras.

## RESULTADOS

### EXAMEN CUALITATIVO DE LOS DEPÓSITOS DE ACUERDO A LA CLASIFICACIÓN DE RUDKO

Teniendo en cuenta la clasificación de la FDA, se encontró que el mayor porcentaje de lentes, en todos los grupos, tuvo depósitos visibles en lentes hidratados

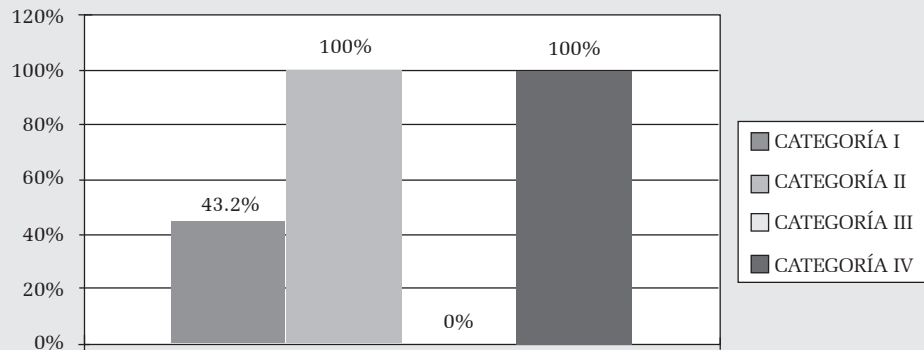
a 10X (categoría II) así: el 64% (16/25) del grupo 1; el 56% (14/25) en el grupo 2, el 48% (12/25) en el grupo 3 y el 56% (14/25) del grupo 4. La categoría I (depósitos no visibles en lente hidratado o deshidratado a 10X), en el grupo 1 se presentó en el 36% (9/25), en el grupo 2 se encontró en el 28% (7/25), en el grupo 3 en el 44% (11/25) y en el grupo 4 en el 40% (10/25). La categoría III no se encontró en ningún lente ya que todos estaban hidratados y la categoría IV (depósitos visibles en lente hidratado sin magnificación) se encontró en el grupo 2, en el 16% (4/25) de los lentes, en el 8% (2/25) en el grupo 3 y en el 4% (1/25) del grupo 4 (Figura 1).



Al comparar las categorías de los depósitos según los criterios de Rudko y el examen microbiológico, se obtuvo que de la categoría I el 43,2% de los lentes (17/37) tenía contaminación microbiológica por hongos y/o bacterias. El 100% de los lentes con depósitos de categoría II (56/56) y categoría IV (7/7) estaban contaminados (Figura 2).

El 100% de los lentes con depósitos de categoría II (56/56) y categoría IV (7/7) estaban contaminados (Figura 2).

**FIGURA 2. PORCENTAJE DE LENTES CON CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA, CLASIFICADOS SEGÚN LOS DEPÓSITOS, CATEGORÍA I, II, III Y IV (CATEGORIZACIÓN DE RUDKO)**

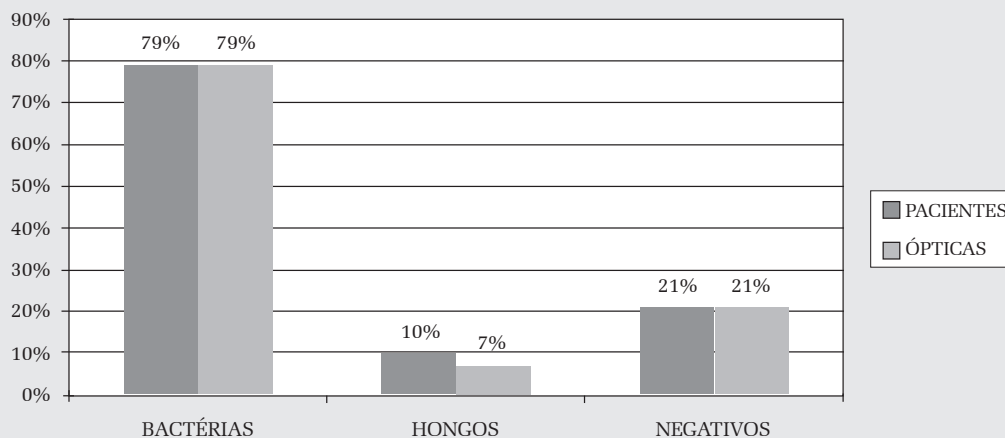


### EXAMEN MICROBIOLÓGICO

De los LCB usados por pacientes el 79% (57/72) estaban contaminados con bacterias, el 9,7% con hongos (7/72) y el 20,8% fueron negativos (15/72). De los LCB de las ópticas o de prueba 79% (22/28) estaban

contaminados con bacterias, el 7% con hongos (2/28) y el 21% fueron negativos (6/28). Los hongos siempre se encontraron en los lentes concomitantes con bacterias, es decir una contaminación mixta (bacterias y hongos) (Figura 3).

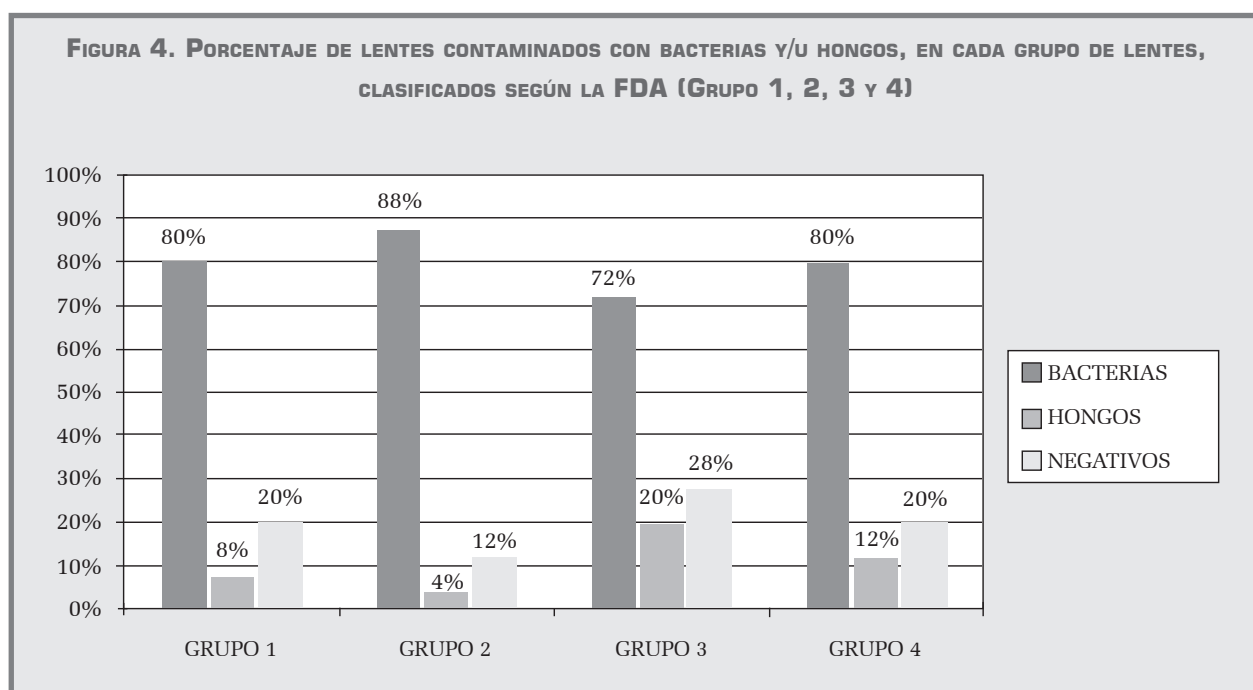
**FIGURA 3. PORCENTAJE DE LCB CONTAMINADOS CON BACTERIAS Y HONGOS\***



\* (Debido a que los hongos siempre se encontraron en los lentes contaminados con bacterias, para el 100% sólo se tuvo en cuenta los contaminados con bacterias y los negativos o estériles)

Al comparar los grupos de lentes según la clasificación de la FDA y la contaminación microbiológica, se encontró que en el grupo 1 el 80% de los lentes (20/25) presentó bacterias, el 8% (2/25) hongos (contaminación mixta) y el 20% fue negativo (5/25). Para el grupo 2 el 88% de los lentes (22/25) presentó bacterias, el 4% (1/25) hongos (contaminación mixta) y el 12% (3/25) no tuvo crecimiento en los cultivos.

Para el grupo 3, el 72% (18/25) presentó bacterias, el 20% (5/25) hongos (contaminación mixta) y el 28% (7/25) fue negativo en los cultivos. En el grupo 4, el 80% (20/25) presentó bacterias, el 12% (3/25) hongos (contaminación mixta) y el 20% fue negativo (5/25) (Figura 4). No hubo diferencias significativas entre las proporciones de lentes contaminados, de cada grupo ( $p < 0.05$ ).



La identificación microscópica de las colonias obtenidas de los cultivos de cada lente, se realizó con la coloración de Gram, clasificándolas por morfología y

pared, su distribución se muestra en la Tabla 2, cabe aclarar que en varias ocasiones, el cultivo de un mismo lente, presentó más de un tipo de colonias.

**TABLA 2. DISTRIBUCIÓN DEL TIPO DE BACTERIAS HALLADAS EN LOS CULTIVOS DE LOS LENTES DE CONTACTO BLANDOS USADOS EN CADA GRUPO SEGÚN LA FDA**

Clasificación FDA LCB	% de contaminación bacteriana	N. de lentes contaminados con Bacilos Gram negativos	N. de lentes contaminados con Cocobacilos Gram negativos	N. de lentes contaminados con Bacilos Gram positivos
Grupo 1	80 (20/25)	16	3	1
Grupo 2	88 (22/25)	17	10	0
Grupo 3	72 (18/25)	14	6	0
Grupo 4	80 (20/25)	18	4	1

## DISCUSIÓN

El porcentaje de contaminación microbiana estuvo directamente relacionado con la cantidad de depósito encontrado, según los criterios de Rudko. El 100% de los lentes de la categoría II y IV presentó contaminación al realizar prueba microbiológica, mientras que sólo en el 43% de los lentes con depósitos no visibles con 15X de magnificación (categoría I) fue positivo en los cultivos. Butrus y Klotz (1990) demostraron que la adherencia de *Pseudomonas aeruginosa* a la superficie de los lentes de contacto blandos usados es directamente proporcional a la cantidad de depósitos determinados por el método de Rudko, concluyendo que los depósitos sobre los lentes de contacto blando, son los mayores determinantes en la adhesión de *Pseudomonas aeruginosa*. Con la técnica de microscopía electrónica y radiomarcaje, se ha determinado que la bacteria se adhiere a los depósitos focales grandes (mayor de 150  $\mu\text{m}$ ) y poca o nada a los depósitos pequeños (iguales o menores a 50  $\mu\text{m}$ ) ni a las aéreas no cubiertas (Aswad y cols., 1990). El examen cualitativo de Rudko, realizado en lámpara de hendidura, para clasificar los depósitos, podría ser muy útil, como un primer paso para valorar las condiciones microbiológicas de los lentes de pacientes y los lentes de prueba en las ópticas.

El análisis individual de la contaminación y el tipo de depósitos, en cada grupo de la FDA, arrojó que aproximadamente el 50% de los lentes en los grupos 1, 2 y 4 que se clasificaron en categoría I estaban contaminados, sólo en el grupo 3 este porcentaje fue inferior (36,4 %). Además, en este grupo (lentes iónicos, de bajo contenido acuoso (<50%)), se presentó la menor frecuencia de contaminación microbiana (72%), lo cual es consistente con los estudios de adherencia *in vitro*, donde se reporta que los lentes iónicos son los que presentan menor adherencia bacteriana (Miller y Ahearn, 1987). Lowin-Brussel y cols. (1991) reportaron que la hidrofobicidad se perdía cuando el lente se usaba, por lo cual ellos no

encontraron una relación directa entre la hidratación de los lentes y la adherencia bacteriana. En nuestro estudio, es posible que el contenido acuoso, tampoco haya influido en la contaminación de los lentes, ya que los lentes fueron usados (3-8 meses) y guardados por 20 días, si consideramos que después de 50 días de uso todos los lentes llegan a ser más hidrofílicos (Bruinsma y cols., 2002), la baja frecuencia de contaminación en el grupo 3, tal vez fue influenciada más por la carga iónica de los lentes que por el grado de humedad.

La mayor frecuencia de contaminación (88%) se presentó en los lentes del grupo 2 (no iónicos, de alto contenido acuoso >50%), acorde con lo reportado por Dang y cols. (2003), la menor frecuencia (72%) en el grupo 3 y en los lentes del grupo 1 y 4 se halló una contaminación intermedia (80%, en cada uno); sin embargo, no hubo diferencias estadísticas al comparar estas proporciones ( $p < 0.05$ ). A este respecto, contaminación Vs. carga iónica –grado de humedad, los reportes son muy contradictorios, incluso en los estudios *in vitro*, en los que se controla la gran cantidad de variables, que pueden influir en la contaminación microbiana de este tipo de lentes.

En los lentes de contacto blandos usados, los microorganismos más hallados, fueron las bacterias, siendo los bacilos Gram negativos los más identificados en los cultivos. Lipener y cols. (1995) encontraron que los contaminantes más frecuentes, de los lentes de contacto blando usados, eran los bacilos Gram negativos (*Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*). *Serratia spp.*, y otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* han sido identificados como contaminantes de los lentes de contacto blandos y estuches (Yung y cols 2007; Willcox y cols 1997). Las bacterias Gram negativas han sido aisladas, generalmente, de los lentes de pacientes sintomáticos (Williams y cols., 1997; Feys, 2004), su origen ha sido asociado con pobres condiciones de higiene y a la formación de biofilms en los estuches. En este estudio no se co-



noció si los usuarios de los lentes tenían o no alguna sintomatología. Se ha reportado que *Staphylococcus* contaminan principalmente los lentes de usuarios asintomáticos, siendo esta la bacteria Gram positiva más aislada de los lentes durante su uso y se sugiere que proviene de las estructuras oculares (Willcox y cols., 1997). Debido a que los lentes fueron almacenados por 20 días, es posible que esta sea una de las razones por las cuales no se encontraron cocos Gram positivos. A diferencia, los bacilos Gram negativos son microorganismos que se distribuyen ampliamente en el ambiente con mayor capacidad de formar biofilms, resistentes al uso de sistemas de desinfección. Además, el biofilms sobre los estuches podría prolongar el tiempo de retención de estas bacterias. La contaminación de los estuches ha sido planteada como uno de los principales riesgos de contaminación en los usuarios de lentes de contacto (Bharathi y cols., 2007; McLaughlin y cols., 1998; Midelfart y cols., 1996).

El porcentaje de los lentes contaminados por bacterias fue muy alto (88%-72%). Varios factores pueden estar involucrados, se ha reportado que la supervivencia de los microorganismos en los lentes, durante su uso, en pacientes saludables, no es permanente,

debido a los mecanismos de defensa presentes a nivel ocular (Hart y Shih, 1987). Lo cual es consistente con el hecho de que, en los lentes de contacto, usados ocasionalmente, hay mayor tasa de contaminación (Yung y cols., 2007). Finalmente, hay que tener en cuenta, la resistencia intrínseca de los microorganismos a los desinfectantes y la eficacia de estos por largos períodos de tiempo en los estuches.

A pesar de que son muchos los factores que influyen en el nivel de contaminación microbiológica de los lentes, la ventaja de uno sobre el otro, podría no ser relevante a la hora de la aplicación clínica, debido que la presencia de microorganismos potencialmente patógenos, sin importar la cantidad es considerado un riesgo para producir una keratitis infecciosa.

## AGRADECIMIENTOS

Al departamento de Ciencias Básicas de la Universidad de La Salle, por el suministro de materiales, reactivos y el préstamo del laboratorio para la realización de los cultivos microbiológicos. Al Instituto de Investigaciones Optométricas (IIO) y a la Facultad de Optometría de la Universidad de La Salle por el préstamo de sus instalaciones y equipos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ahanotu, EN, Hyatt, MD., Graham, MJ. y Ahearn, DG. 2000. "Comparative radiolabel and ATP analyses of adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* to hydrogel lenses". *CLAO J* 27. (2): 89 – 93.
- Aswad, MI., John, T., Barza, M., Kenyon, K. y Baum, J. 1990. "Bacterial adherence to extended wear soft contact lenses". *Ophthalmology* 97. (3): 296 - 302.
- Bharathi, MJ., Ramakrishnan, R., Meenakshi, R., Kumar, CS., Padmavathy, S. y Mittal, S. 2007. "Ulcerative keratitis associated with contact lens wear". *Indian J Ophthalmol* 55. (1):64 - 67.
- Bruinsma, G., y cols. 2002. "Influence of wear and overwear on surface properties of Etalfilcon A coantac lenses and adhesión of *Pseudomona aeruginosa*". *Inves Ophthal & V S* 43 : 3646 - 3653.

- Butrus, SI. y Klotz, SA. 1990. "Contact lens surface deposits increase the adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*". *Curr Eye Res* 9. (8): 717 - 724.
- Dang YN, y cols. 2003. "Quantifying *Pseudomonas aeruginosa* adhesion to contact lenses". *Eye Contact Lens* 29. (2):65 - 68.
- Donlan, RM. y Costerton, JW. 2002. "Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms". *Clin Microbiol Rev* 15. (2):167 - 193.
- Feys, J. 2004. "Rules and regulations concerning contact lens-related infection". *J Fr Ophthalmol* 27. (4):420 - 423.
- Gopinathan U, y cols. 1997. "Microbial contamination of hydrogel contact lenses". *J Appl Microbiol* 82. (5): 653 - 658.
- Hart, DE. y Shih, KL. 1987. "Surface interactions on hydrogel extended wear contact lenses: microflora and microfauna". *Am J Optom Physiol Opt.* 64. (10):739 - 748.
- Holden BA, y cols. 1996. "Gram-negative bacteria can induce contact lens related acute red eye (CLARE) responses". *CLAO J* 22. (1): 47 - 52.
- Lakkis C, Fleiszig SM. 2001. "Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to hydrogel contact lenses disinfection correlates with cytotoxic activity". *J Clin Microbiol* 39. (4): 1477 - 1486.
- Lawin-Brussel, C. Refojo, M. Leong, FL y Kenyon K. 1991. "Pseudomonas attachment to low water an high water, ionic and noionic, new and rabbit worn soft contact lenses". *Inves Ophthal & Visual Science* 32. (3): 657 - 662.
- Lipener C, Nagoya FR, Zamboni FJ, Lewinski R, Kwitko S, Uras R. 1995. "Bacterial contamination in soft contact lens wearers". *CLAO J* 21. (2): 122 - 124.
- Mayo MS, Schlitzer RL Ward MA, Wilson LA, Ahearn DG. 1987. "Association of *Pseudomonas* and *Serratia* corneal ulcers with use of contaminated solutions". *J Clin Microbiol* 25 1398 -1400.
- McLaughlin-Borlace, L., F. Stapleton, M. Matheson, and J. K. G. Dart. 1998. "Bacterial biofilm on contact lenses and lens storage cases in wearers with microbial keratitis". *J. Appl. Microbiol.* 84. (5):827 - 838.
- Midelfart J, Midelfart A, Bevanger L. 1996. "Microbial contamination of contact lens cases among medical students". *CLAO J.* 22. (1):21 - 24
- Miller MJ, Ahearn DG. 1987. "Adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to hydrophilic contact lenses and other substrata". *J Clin Microbiol* 25. (8): 1392 - 1397.
- Willcox MD, y cols. 1997. "Potential sources of bacteria that are isolated from contact lenses during wear". *Optom Vis Sci* 74. (12):1030- 1038.
- Willcox MD, Harmis N, Cowell , Williams T, Holden. 2001. "Bacterial interactions with contact lenses; effects of lens material, lens wear and microbial physiology". *Biomaterials.* 22. (24): 3235 - 3247.
- Williams TJ, Willcox MD, Schneider RP. 1997. "Role of tears in the growth of gram -negative bacteria on contact lenses". *Aust N Z J Ophthalmol* 25 (Suppl 1): S30 - S32.
- Yung MS, Boost M, Cho P, Yap M. 2007. "Microbial contamination of contact lenses and lens care accessories of soft contact lens wearers (university students) in Hong Kong". *Ophthalmic Physiol Opt.* 27. (1):11 - 21.