

Efecto antimicrobiano *in vitro* de cinco soluciones multipropósito para lentes blandos contra *Cándida albicans* y *Aspergillus fumigatus*¹

Myriam Teresa Mayorga C.* / Claudia Marcela Parra G.**

RESUMEN

La colonización de hongos en los lentes de contacto blandos puede ocasionar infecciones oculares severas que pueden prevenirse con el uso de soluciones multipropósito. **Objetivo:** evaluar la eficacia antimicrobiana *in vitro* de cinco soluciones multipropósito comerciales frente a dos hongos, *Cándida albicans* (levadura) y *Aspergillus fumigatus* (moho). **Materiales y métodos:** fueron analizadas *in vitro* cinco soluciones multipropósito comerciales: Solución 1 (PHMB AL 0,0001%), solución 2 (Polyquad al 0,001%), solución 3 (PAPB), solución 4 (trimetoprim al 0,01%), solución 5 (peróxido de hidrógeno al 3%), frente a *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus*. El inóculo fue estandarizado utilizando tres concentraciones para cada microorganismo. La efectividad de las soluciones se determinó mediante cálculo de porcentaje de reducción de unidades formadoras de colonias, obtenidas en el tiempo cero de desinfección y en el tiempo recomendado por cada casa comercial (4 ó 6 horas). Cada ensayo se realizó por triplicado. Los ensayos fueron paralelos con control de crecimiento,

inóculo sin solución multipropósito y control positivo de 100% de eliminación de los microorganismos con peróxido de hidrógeno al 3,7%. **Resultados:** Para *C. albicans*, las soluciones 1, 2, 3 y 5 presentaron 100% de eliminación en el tiempo 0 y en el tiempo sugerido por el fabricante (4 ó 6 horas); la solución 4 presentó, en las 6 horas de desinfección (recomendadas por la casa comercial): 85% de eliminación con la concentración más baja de *Cándida*, 31% de eliminación con la segunda concentración y -74% (resultado negativo) en la concentración más alta del microorganismo. Para *A. fumigatus*, la solución 5 mostró 100% de eliminación en el tiempo 0 y en las 6 horas de desinfección frente a las tres concentraciones; en el tiempo recomendado por el fabricante (4 ó 6 horas) la solución más efectiva fue la 2 (91,33%) en promedio con las tres concentraciones, seguida de la solución 1 (84,6%), la solución 3 (71,6%). La solución 4 presentó el menor porcentaje promedio de eliminación (38,66%). **Conclusiones:** de las cinco soluciones multipropósito evaluadas, la 4 mostró

¹ Investigación financiada por la Universidad de La Salle.

* Optómetra especialista en Lentes de contacto, Universidad de La Salle. Estudiante de Maestría en Ciencias de la Visión, Universidad de La Salle. Docente investigadora, Universidad de La Salle, Grupo de Investigación Óptica y Lentes de Contacto. mimayorga@unisalle.edu.co

** Bacterióloga, MSc en Microbiología, PUJ, Estudiante de doctorado. Docente investigadora, Pontificia Universidad Javeriana, Grupo de Investigación Óptica y Lentes de Contacto.

Fecha de recepción: 9 de febrero de 2009

Fecha de aprobación: 5 de marzo de 2009

menos efectividad. Las soluciones 1, 2 y 3 mostraron efecto cidal frente a *C albicans*, y efecto fungistático contra *A. fumigatus*. La solución 5 evidenció efecto fungicida contra los dos hongos evaluados. El *Aspergillus fumigatus* presentó mayor resistencia a las

soluciones que la *C. albicans*, excepto para la 5, con principio activo peróxido de hidrógeno.

Palabras clave: *Cándida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, lentes de contacto blandos, soluciones multipropósito.

Antimicrobial effect *in vitro* of five soft lenses multipurpose solutions against *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus*

ABSTRACT

Colonization by fungi in the soft contact lenses can cause severe ocular infections that can be prevented with solutions multipurpose. **Objective:** to evaluate the antimicrobial effectiveness *in vitro* of five commercial solutions multipurpose against two fungi, *Candida albicans* (leavening) and *Aspergillus fumigatus* (mould). **Materials and methods:** five commercial solutions multipurpose, Solution 1 (PHMB to 0.0001%), Solution 2 (Polyquad to 0.001%), Solution 3 (PAPB), Solution 4 (Trimetoprim to 0.01%), Solution 5 (hydrogen Peroxide to 3%), were analyzed *in vitro* as opposed to *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. The inocule was standardized using three concentrations for each microorganism. The effectiveness of the solutions was determined by calculation of the percentage average of reduction of training units of colonies obtained to time zero of disinfection and the time recommended by each commercial house (4 or 6 hours). Each test was made by triplicate. All the tests were made parallels with a growth control. The inocule without multipurpose solution and a positive control of the 100% of elimination of the microorganisms with hydrogenate peroxide to 3.7%. **Results:** For *C. albicans*: Solutions 1, 2, 3 and 5 showed 100% of elimination at time 0 and at the time suggested by the manufacturer (4 or 6 hours); solution 4, to the 6 hours of disinfection (according

to the recommendation by the commercial house), presented: with the lowest concentration of *C albicans*, a 85% of elimination, with the second concentration a 31% of elimination and in the highest concentration of the microorganism, obtained a negative result, -74%. For *A. fumigatus*: solution 5 demonstrated a 100% of elimination at time 0 and at 6 hours of disinfection to the three concentrations; of the other four, to the time recommended by the commercial house (4 or 6 hours) the most effective solution was the 2, with a 91.33% in average with the three concentrations of *Aspergillus*, followed of the solution 1 (84.6%), solution 3 (71.6%) and solution 4 with the smaller percentage average of elimination 38.66%. **Conclusions:** Among the five solutions multipurpose evaluated, the Solution 4 demonstrated less effectiveness. Solutions 1 and 2 demonstrated cidal effect for *C albicans*, and fungistatic effect against *A. fumigatus*. The solution 3 presented effectiveness of the 100% for *C. albicans*, and for *A. fumigatus* its effect was microbiostatic. Solution 5 demonstrated fungicidal effect against both fungi evaluated. The *Aspergillus fumigatus* offered greater resistance to the solutions that the *C. albicans*, except for the solution 5 with active principle hydrogen peroxide.

Keywords: *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, soft lenses multipurpose solutions.

INTRODUCCIÓN

Muchos hongos saprofitos son patógenos oportunistas, y son reconocidos como un factor de riesgo, especialmente, para usuarios de lentes de contacto blandos. Es probable que los hongos sean los microorganismos más resistentes a los métodos habituales de desinfección (Wachter, 2004).

La frecuencia de micosis causada por hongos es relativamente baja porque la superficie ocular está protegida contra la invasión de microorganismos por un conjunto de sustancias protectoras como lisozima, β -lisina, lactoferrina, transferrina, ceruloplasmina, ciertas inmunoglobulinas y complementos (Marqués, 2001). El epitelio corneal sirve como una barrera efectiva contra la mayoría de patógenos. Los daños al epitelio, la resequedad de los ojos, defectos inmunes, tratamientos prolongados con antibióticos o corticoesteroides pueden afectar la córnea y hacerla propensa a infecciones, en especial infecciones fúngicas (Rotman *et ál.*, 2003).

Hongos de géneros como *Candida* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Acremonium* sp., y *Paecilomyces* sp. han sido mencionados como invasores de lentes de contacto. La colonización consiste en la adhesión del microorganismo a la superficie del lente de contacto y la subsecuente liberación de enzimas hidrolíticas que pueden degradar polímeros hidrofílicos y permitir la invasión de la matriz de los lentes (Marqués, 2001, Kilvington, 2004, Borazjani y Kilvington, 2005).

El *Aspergillus fumigatus* es un hongo oportunista que se ha aislado prácticamente de cualquier tipo de sustrato, sobre todo del suelo y materiales orgánicos en descomposición. El polvo de los objetos es un nicho ecológico muy adecuado. La especie es termotolerante, capaz de crecer entre 12 y 57 °C. Es capaz de

crecer en atmósferas que contengan 100% de nitrógeno y tolera atmósferas *in vitro* que contengan 10% de CO₂. Varias especies de *Aspergillus* han sido encontradas en los lentes de contacto. Un derivado de la quitina del hongo parece permitir su adherencia a éstos; también influye el gran contenido de agua en los lentes de contacto (Marqués, 2004).

Los lentes de contacto con alto contenido de agua (hidrofílicas) se consideran teóricamente impermeables a los microorganismos debido a sus pequeños poros. Sin embargo, se ha demostrado que *A. fumigatus* puede invadir la superficie de los lentes de contacto blandos, porque el hongo es capaz de acceder a la superficie por la acción enzimática y la despolimerización de la lente (Wilhelmus y col., 1988).

Candida albicans puede interactuar con diferentes polímeros que permiten la adherencia de este patógeno a lentes de contacto de uso extendido, tanto rígidos (hidrofóbicos) como blandos (hidrofílicos). Las levaduras se adhieren a los lentes hidrofóbicos por el agua libre presente, mientras que los hidrofílicos se adhieren por su contenido de agua (Butrus, 1986). Las proteínas lacrimales tales como albúmina, lactoferrina y lisozima sumadas a la fibronectina aumentan la adherencia de *C. albicans* a ambos tipos de lentes (Grus *et ál.*, 2005).

Las soluciones multipropósito para el mantenimiento de los lentes de contacto, rígidos o blandos (sistemas de una botella), están formuladas para permitir la combinación de funciones de limpieza, enjuague y desinfección. Las soluciones multipropósito se prescriben en 80% en Europa, Canadá, Estados Unidos y Australia (Efron, 2002). En Colombia se usan en porcentaje similar. Muchos de estos productos no requieren el uso de otros componentes auxiliares en el proceso de cuidado de los lentes, particularmente cuando se usan lentes de remplazo frecuente.

La mayoría de las soluciones multipropósito contienen un surfactante, un agente antimicrobiano para desinfección, EDTA como quelante para remover iones de calcio e incrementar el efecto antimicrobiano, y agentes buferizantes para mantener el pH estable (Millis, 2005)

Aunque las soluciones utilizadas en la desinfección poseen una alta efectividad, ésta puede verse disminuida por la producción de biofilms que protegen potencialmente a los patógenos de la acción desinfectante (García *et ál.*, 2004).

PRINCIPIOS ACTIVOS DE LAS SOLUCIONES

Dymed™, PAPB, Poli(hexametileno biguanida), PHMB, Poli(hexanida): pertenece a la nueva generación de preservantes para soluciones de lentes de contacto. Fue desarrollada para resolver los problemas que los preservantes originaron: irritación ocular, hipersensibilidad ocular, etc. El PAPB es un miembro de la familia de las biguanidas, que incluye la clorhexidina (comparte la unidad repetitiva de biguanida-hexametileno con la clorhexidina pero tiene aproximadamente cuatro veces el peso molecular de la clorhexidina (PAPB=1300). En contraste con la clorhexidina, el PAPB se adhiere 30 veces menos a los materiales de los lentes RGP (McLaughlin *et al.*, 1991). El PAPB/PHPB es una molécula cargada positivamente que reacciona con fosfolípidos cargados negativamente y se adhiere selectivamente a la pared celular de éstos, causando daño en la membrana, salida del contenido celular y muerte celular. Se confirma que los desinfectantes poliméricos son más efectivos debido a que cada molécula causa, proporcionalmente, más daño que los desinfectantes convencionales. El PAPB se utiliza en soluciones para lentes de contacto RGP y blandos.

Polyquad™, Polyquad, Poli(quaternium-1): es también de la nueva generación de preservantes. Son compuestos de amonio cuaternario de alto peso mo-

lecular (poliméricos). Debido a su gran tamaño molecular (22,5 nm cf. 'poros' del material del lente, al 3-5 nm de Nilsson y Lindh, 1990, peso molecular 5,000, Morgan, 1987) no puede penetrar con facilidad los materiales del lente. Como resultado, la cantidad del preservante acumulado en el lente es mínima; por tanto, la incidencia de reacciones oculares es, al menos teóricamente, reducida.

Timetropim, trimetropín: inhibe de forma competitiva la enzima indispensable para la formación del cofactor activo en la síntesis de purinas. Es bactericida para muchos microorganismos, incluidos estreptococos, estafilococos, neumococos, *Bordetella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Aerobacter*, *Shigella*, *Haemophilus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Proteus*.

Peróxido de hidrógeno: fue uno de los primeros métodos de desinfección de lentes de contacto hidrofílicos. El peróxido de hidrógeno es un agente oxidante altamente reactivo (peso molecular 34,015). Produce radicales libres de oxígeno muy reactivos, que se adhieren con rapidez a muchos componentes celulares. Con los sistemas basados en un disco catalítico, no es necesario un retardo en la fase de neutralización. Independientemente del sistema utilizado, se requieren estuches especiales ventilados para permitir que escape el oxígeno generado. Los sistemas de un solo paso utilizan un disco (platino) catalítico o una tableta de catalasa de tiempo retardado. Hay una oferta variada de soluciones multiusos para el mantenimiento de los lentes, o sea cumplen con la función de lavado, hidratación y desinfección de estos (Fonn, 2002).

El peróxido es eficaz en la desinfección contra *C. albicans*, pero requiere un mínimo de 45 minutos para garantizar su efecto fungicida (Driebe, 1995). Aunque la infección corneal por hongos es excepcional en los usuarios de lentes de contacto, no son extraños la contaminación y el deterioro secundario del lente por depósitos.

Existen varias pruebas aceptadas para establecer la eficacia antimicrobiana de las soluciones de mantenimiento. En cada prueba, se selecciona un número grande (usualmente 10^6 unidades formadoras de colonias o UFC) de cada uno de los microorganismos para formar un panel de organismos de prueba, que son expuestos al desinfectante. El tiempo que tarda el desinfectante en cada unidad logarítmica se mide por tres unidades logarítmicas consecutivas de disminución, de 10^6 a 10^3 UFC.

En Colombia, país tropical, es importante realizar estudios sobre la efectividad de estas soluciones, que indiquen los protocolos adecuados de desinfección para los lentes; por tanto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana de cinco soluciones que comúnmente se en-

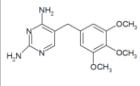
cuentran en el mercado contra *Cándida albicans* (levadura) y *Asperillus fumigatus* (moho).

MATERIALES Y MÉTODOS

SOLUCIONES DE MANTENIMIENTO

Cinco soluciones de mantenimiento cuyos agentes desinfectantes son Solución 1 (PHMB al 0,0001%), Solución 2 (Polyquad al 0,001%), Solución 3 (PAPB), Solución 4 (trimetoprim al 0,01%), Solución 5 (peróxido de hidrógeno al 3%); como control se empleó peróxido de hidrógeno al 3,7% (dioxogen, JGB, Lote k-4-5280). Se utilizaron botellas nuevas (no abiertas) en las siguientes presentaciones: Solución 1 de 355 ml, Solución 2 de 355 ml, Solución 3 de 360 ml, Solución 4 de 240 ml y Solución 5 de 120 ml. Su descripción detallada se encuentra en la tabla 1.

Tabla 1. Características de las soluciones empleadas en la investigación.

Soluciones	Solución 1	Solución 2	Solución 3	Solución 4	Solución 5
Sustancia Desinfectante	P HMB, (Polihexametilnbiguanida) 0,0001% Poloxamina 1%	POLYQUAD (Poliquaternium-1) al 0,001%	PAPB, (Polyaminopropil biguanida)	TMP (Trimetoprim al 0,01%)	Peróxido de hidrógeno al 3%
Preservante	EDTA, Acido bórico y Acido bórico	Acido bórico, Acido sórbico y Aldox al 0,0005% (miristamido-propildimetilamina)	EDTA	TMP	Sin preservantes
Surfactante	Monolaurato de sorbitano y retaina				Poloxamer
Efecto Bacteriano	Se adhiere selectivamente a la pared celular de los fosfolípidos cargados negativamente causando daño a la membrana, salida del contenido celular y muerte celular,	La eficacia antimicrobiana disminuye con el incremento del pH (alcalino),	Se adhiere selectivamente a la pared celular de los fosfolípidos cargados negativamente causando daño a la membrana, salida del contenido celular y muerte celular,		Produce radicales libres de oxígeno los cuales son muy reactivos y rápidamente se adhieren a muchos componentes celulares,
Tiempo de Desinfección	4 horas	6 horas	4 horas	6 horas	6 horas
Estructura Química	$\left[\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH-C-NH-C-NH-C-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-} \right]_n$ NH NH.HCl n=240	$\left[\text{(BLOCK A)}_3\text{-N}^+\text{-} \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{N}^+ \\ \\ \text{CH}_2\text{-(BLOCK B)} \end{array} \text{-(BLOCK A)}_3 \right]_{n=2}$	$\left[\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH-C-NH-C-NH-C-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-} \right]_n$ NH NH.HCl n=240		H ₂ O ₂
Lote	GK5041	26184	WMS-0615	IHA-0240406	39207
Fecha de Expiración	10 - 2007	12 - 2007	04 - 2010	04 - 2008	09 - 2006

MICROORGANISMOS

Dos cepas de hongos, aisladas e identificadas en el cepario de micología de la Pontificia Universidad Javeriana: *Cándida albicans* (CMHPUJ 009), aislada de una endoftalmitis de un paciente con candidemia, y *Aspergillus fumigatus* (CMPHPUJ 061), aislado del medio ambiente.

ESTANDARIZACIÓN DEL INÓCULO

Para *Cándida albicans*, el inóculo se preparó en solución salina al 0,85% con la levadura de 48 horas de crecimiento en agar Saboreaud. La solución se agitó con vortex por 30 segundos; la concentración del inóculo se estableció por espectrofotometría a una longitud de onda de 540 nm. El promedio de absorbancia obtenido fue 0,150. A partir de este inóculo se realizaron diluciones en serie 1:10 hasta 10^{-10} . Se escogió la dilución 10^{-5} , con recuentos de la levadura de aproximadamente 7×10^3 UFC/ml como solución madre. Cada vez que se preparó el inóculo, se utilizaron controles de crecimiento, viabilidad y pureza.

Para el inóculo de *A. fumigatus*, éste se cultivó en tubos durante cuatro días a temperatura ambiente en agar PDA. Posteriormente, se le agregaron 3 ml por tubo de solución salina estéril con 50 μ l de tween 80 y se agitó para remover las conidias. A partir de esta suspensión, se realizó una dilución 1/50 con un volumen final de 10 mL, y se contó en cámara de Newbaber hasta obtener una concentración de 10^8 conidias/mL.

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE LAS SOLUCIONES DE MANTENIMIENTO SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Para evaluar el efecto fungicida o fungistático de las soluciones de mantenimiento frente a los microorganismos se tomaron cinco tubos eppendorf para cada una de las cinco soluciones multipropósito;

para el peróxido de hidrógeno al 3,7%, como control positivo de efectividad antimicrobiana, 30 tubos por triplicado (90). De los cinco tubos o series, tres correspondieron a las diluciones estandarizadas de cada microorganismo, uno al control de esterilidad de cada solución y el último al control de crecimiento del inóculo (sin solución desinfectante). Los tubos tuvieron un volumen final de 1 ml.

Para *Candida albicans*: en la primera serie, se pusieron 100 μ l de la solución madre (7×10^3 del microorganismo); en la segunda, 200 μ l; y en la tercera, 300 μ l de la solución madre de la levadura. Cada tubo se llevó a 1000 μ l con la solución multipropósito para obtener una concentración final de 7×10^2 UFC/ml, $1,4 \times 10^3$ UFC/ml y $2,1 \times 10^3$ UFC/ml, respectivamente.

En el caso del *Aspergillus fumigatus*, la solución madre tuvo una concentración de 1×10^8 conidias/ml. En la primera serie de los cinco tubos, se adicionaron 100 μ l; en la segunda, 200 μ l; y en la tercera, 300 μ l de esta solución y se completó el volumen a 1000 μ l para obtener una concentración final de 1×10^7 , 2×10^7 y 3×10^7 conidias/ml, respectivamente.

En la cuarta serie se añadió 1 ml de la solución multipropósito; en la quinta serie, 1 ml del tubo de dilución, correspondiente a 7×10^2 UFC/ml de *Candida albicans* o 1×10^8 conidias/ml de *Aspergillus fumigatus*, como controles de crecimiento. Este procedimiento se repitió para cada una de las cinco soluciones multipropósito y para el peróxido de hidrógeno.

Inmediatamente después de colocar cada solución se realizó la siembra en placa, en superficie en agar Saboreaud, para *Candida*, y agar PDA para *Aspergillus*, correspondientes al tiempo 0 (cero) y después de la desinfección completa (4 ó 6 horas, de acuerdo con las recomendaciones de la casa comercial de cada solución). Se tomó una muestra de 100 μ l de cada tubo y se extendió con rastrillos de vidrio estériles. Se incubaron las cajas a temperatura ambiente y se

realizaron lecturas a las 24 y 48 horas en el caso de *Cándida albicans*, y a los 14 días para *Aspergillus fumigatus*. Cada tubo se sembró por triplicado.

CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE ELIMINACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS

El porcentaje de eliminación de los microorganismos se calculó como medida de la capacidad antimicrobica de las soluciones estudiadas, tomando el promedio de las UFC obtenidas de cada una de las tres repeticiones y aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de eliminación} = (\text{UFC del control de crecimiento} - \text{UFC después de la desinfección}^*) / \text{UFC del control de crecimiento}$$

*UFC después de la desinfección: se consideró tanto el tiempo 0 como después del tiempo recomendado por la casa comercial, cada una por separado.

RESULTADOS

EFEECTO ANTIMICROBIANO DE LAS SOLUCIONES EVALUADAS FRENTE A *CÁNDIDA ALBICANS*

Las soluciones 1, 2, 3 y 5 presentaron efecto fungicida frente a la levadura, con 100% de eliminación de la levadura en el tiempo 0 y el tiempo sugerido por el fabricante (4 ó 6 horas) en las tres concentraciones. Con el control positivo (peróxido de hidrógeno al 3,7%) se obtuvo el 100% de eliminación del hongo en los dos tiempos estudiados y para las tres concentraciones de la levadura.

Con la Solución 4, en el tiempo cero, se obtuvo 79% de eliminación con la concentración de 7×10^2 UFC de *C. albicans*, 52% de eliminación con la concentración de $1,4 \times 10^3$ y 40% cuando se puso frente a la concentración más alta de la levadura ($2,1 \times 10^3$). A las 6 horas de desinfección (según lo recomendado

por la casa comercial) se obtuvo 85% de eliminación con la concentración más baja de *Cándida*, 31% de eliminación con la segunda concentración y -74%, en la concentración más alta del microorganismo (resultado negativo), obteniéndose mayor crecimiento que en control sin solución multipropósito (figura 1).

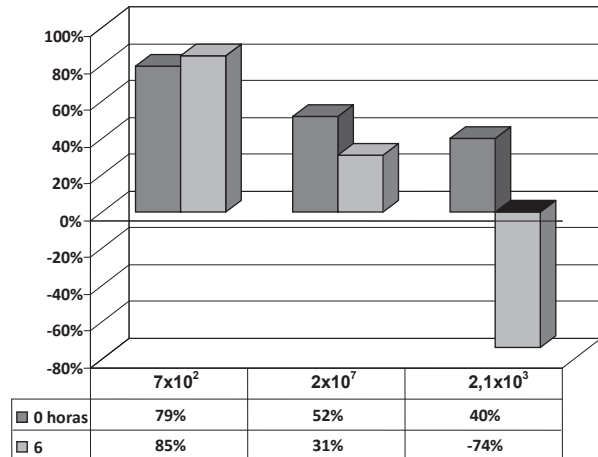


Figura 1. Porcentaje de eliminación de *C. albicans* con la Solución 4

EFEECTO ANTIMICROBIANO DE LAS SOLUCIONES DE EVALUADAS FRENTE A *ASPERGILLUS FUMIGATUS*

La Solución 5 y el control positivo (peróxido de hidrógeno al 3,7%) mostraron 100% de eliminación del *A. fumigatus*, en el tiempo 0 y a las 6 horas de desinfección frente a las tres concentraciones del hongo. El porcentaje de eliminación de las cuatro soluciones restantes se muestra en las tablas 2 y 3. En el tiempo 0, la Solución 3 fue la más efectiva (80% de eliminación en promedio con las tres concentraciones del hongo), seguida de la Solución 1 (78,67%), la Solución 2 (78%). La Solución 4 presentó el menor porcentaje promedio de eliminación (35,67%). Después del tiempo recomendado por la casa comercial (4 o 6 horas), la solución más efectiva fue la 2 (91,33%

en promedio con las tres concentraciones de *Aspergillus*), seguida de la Solución 1 (84,6%), la Solución 3

(71,6%). La solución 4 presentó el menor porcentaje promedio de eliminación (38, 66%) (figura 2, tablas 2 y 3).

Tabla 2. Porcentaje promedio de eliminación de *A. fumigatus* con las soluciones 1 y 3.

Tiempo de desinfección	Solución 1			Solución 3		
	1x10 ⁷	2x10 ⁷	3x10 ⁷	1x10 ⁷	2x10 ⁷	3x10 ⁷
0 horas	83%	78%	75%	89%	80%	71%
4 horas	89%	84%	81%	85%	70%	60%

Tabla 3. Porcentaje promedio de eliminación de *A. fumigatus* con las soluciones 2, 4, 5

Tiempo de desinfección	Solución 2			Solución 4		
	1x10 ⁷	2x10 ⁷	3x10 ⁷	1x10 ⁷	2x10 ⁷	3x10 ⁷
0 Horas	86%	78%	70%	69%	28%	10%
6 Horas	96%	92%	86%	68%	33%	15%

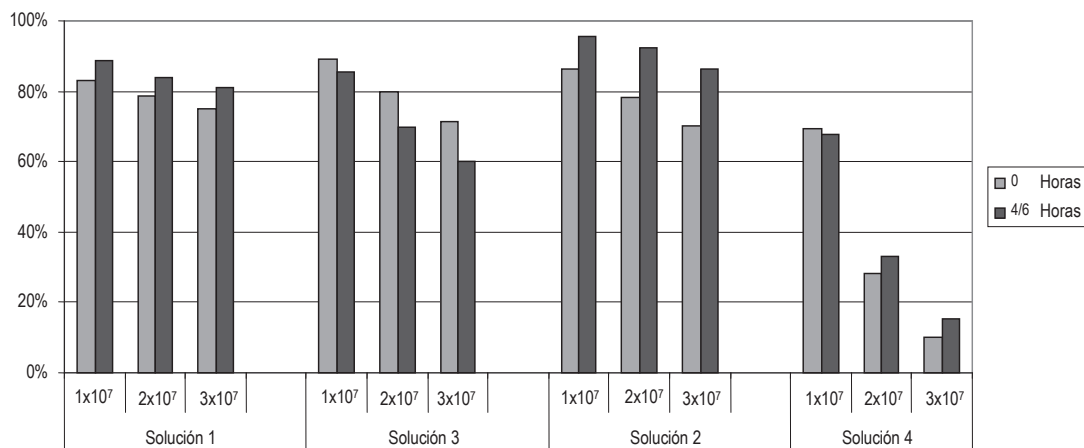


Figura 2. Porcentaje de eliminación de *A. fumigatus* con las soluciones multipropósito.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos indican que las soluciones multipropósito con principios activos con PHMB, Plyquatarnario y PAPB presentan un efecto fungis-

tático. La solución con H₂O₂ (al 3%) y el control H₂O₂ (al 3,7%) JGB® obtuvieron un efecto fungicida frente a *A. fumigatus* y *C. albicans*, mientras que la solución con trimetoprim no presenta ningún efecto antifúngico frente al *A. fumigatus*, pero sí presenta un efecto

microbiostático frente a la levadura. En la literatura revisada hasta el momento no se encontraron reportes del mecanismo de acción ni estudios que evalúen este compuesto en su actividad antimicrobiana en soluciones multipropósito.

Rosenthal *et ál.* (1999 y 2003) evaluaron el efecto de soluciones multipropósito sobre *A. fumigatus*, encontrando una limitada actividad antifúngica en las que tienen antimicrobianos diferentes a peróxido de hidrógeno. Paralelamente, Cano *et ál.* (1999) reportaron un efecto fungicida con la solución multipropósito que lleva peróxido de hidrógeno. Jones *et ál.* (2002) mostraron que las soluciones con contenido de PAPB solo tiene un espectro antimicótico limitado, lo cual se correlaciona con los resultados obtenidos, mientras que reportan un efecto microbicida frente a los microorganismos evaluados.

Rosenthal *et al.* (2006) afirmaron que el poliquaternium-1 (PQ-1) tiene efecto antimicrobiano frente a un rango de patógenos como *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium spp*, bacterias del género *Staphylococcus* y *Pseudomona aeruginosa*s. Codling *et ál.* (2003) reportaron que la variabilidad en el efecto fungicida de este componente puede deberse a la pared celular de los hongos, compuesta en un 90% por polisacáridos, y al tipo de polisacáridos, en especial glucanos y mananos. Esto podría explicar que, en este estudio, la desinfección de *Aspergillus fumigatus* no es suficiente ya que poliquaternium-1 (PQ-1) no presentó 100% de eliminación del hongo. El Polyquad™ es un compuesto de amonio cuaternario catiónico de alto peso molecular (polimérico); su modo de acción es selectivo de membrana, ya que es un agente que daña (disuelve, rompe o altera) las membranas celulares.

El mayor efecto antifúngico de las soluciones frente a *Cándida albicans* puede ser explicado por el porcentaje de estos polisacáridos, en general los hongos filamentosos presentan una mayor resistencia a los antifúngicos que las levaduras.

El peróxido de hidrógeno es un antimicrobiano de amplio espectro eficaz con en la desinfección contra bacterias y hongos (Nilsson, 1990, Wilson *et ál.*, 1991, Diebe, 1995) lo cual respalda el uso de este compuesto como control positivo de 100 de efectividad en la eliminación de los hongos, corroborado por los resultados obtenidos.

Estudios previos han demostrado que soluciones con PHMB (Renu plus) y Polyquad (Opti-free) tienen mayor efectividad en la eliminación de bacterias que contra patógenos fúngicos (Cano *et ál.*, 1999), lo cual se correlaciona con nuestros resultados. La solución 1 (PHMB) y 2 (Polyquad) mostraron 84,6% y 91% de eliminación del *A. fumigatus*, respectivamente.

En el presente estudio, las soluciones de mantenimiento evaluadas, excepto la 4 (trimetropin), lograron 100% de eliminación de la *Cándida albicans*, mostrando efecto microbicida en estas condiciones. Según Cano *et ál.* (1999), ninguna de las soluciones evaluadas por ellos, entre ellas Renu, Opti free y Aosept, pudo prevenir el crecimiento de *Cándida albicans*. Sus resultados están de acuerdo con Gopinathan (1994), quien encontró ineffectividad en la actividad antifúngica de las soluciones contra *Cándida albicans* y efectividad en la actividad antibacteriana.

Estudios *in vivo* han reportado que ninguna de las soluciones multipropósito evaluadas en esta investigación fue exitosa en la eliminación de todos los microorganismos por desinfección sola; otros factores, como la capacidad de limpieza y enjuague de las soluciones, también cumple un rol importante en la reducción del número de microorganismos. La combinación de limpieza, enjuague y capacidad de desinfección de cada solución determina finalmente esta actividad antimicrobiana del lente y del estuche porta lentes (Cano *et ál.*, 1999; Lever y Borazjani, 2001; Rosenthal *et ál.*, 2006).

Las soluciones que contienen biguanidas (PAPB y PHMB) fueron efectivas contra la levadura; presentaron efecto microbicida. La poliaminopropil biguanida PAPB es una molécula cargada positivamente que se adhiere selectivamente a la pared celular de los fosfolípidos cargados negativamente, causando daño en la membrana, salida del contenido celular y muerte celular. Se confirma que los desinfectantes poliméricos son más efectivos debido a que cada molécula causa, en proporción, más daño que los desinfectantes convencionales (Rosenthal *et ál.*, 2006).

La solución desinfectante cuyo principio activo es el peróxido de hidrógeno fue también efectiva contra los microorganismo evaluados, mostrando efecto microbicida. Estos resultados están acordes con la literatura que dice que el peróxido de hidrógeno al 3% es un agente antimicrobiano de amplio espectro y el más efectivo contra todos los microorganismos. El peróxido de hidrógeno es un agente oxidante altamente reactivo. Produce radicales libres de oxígeno, los cuales son muy reactivos y se adhieren con rapidez a muchos componentes celulares. En este caso, actuando como un agente antimicrobiano no específico, daña muchos componentes celulares.

Los resultados obtenidos en esta investigación son un aporte valioso para la práctica de adaptación de lentes de contacto, puesto que demuestran que soluciones con el mismo componente activo (soluciones 1 y 3, PAPB) se comportan de manera diferente frente a los microorganismos. Esto indica el valor que poseen los demás componentes de la solución multipropósito. Otro aspecto relevante derivado de este estudio es la importancia de cumplir el tiempo de desinfección sugerido por los fabricantes de las soluciones, dado que en tiempos inferiores no alcanzarían a lograr el grado de eficacia antimicrobiana necesaria para la seguridad ocular, como se aprecia en las gráficas 1 y 2 al comparar el porcentaje de eliminación a las 0 horas y en el tiempo sugerido por el fabricante.

La eficacia de estas soluciones disminuye cuando se aplican a lentes de contacto, si se asume que el material del lente y sus depósitos pueden servir de sustrato para la supervivencia microbiana.

CONCLUSIONES

De las cinco soluciones evaluadas, la 5, cuyo agente desinfectante es el peróxido de hidrógeno, evidenció efecto fungicida para *C albicans* y para *A fumigatus* en tiempo de desinfección de 6 horas, sugerido por el fabricante.

La solución 1, con agente antibacteriano PHMB, mostró efecto cidal para *C albicans*, y efecto fungistático contra *A. fumigatus*, para el tiempo de desinfección de 4 horas, sugerido por el fabricante.

La Solución 2, con antimicrobiano polyquad, funcionó como cidal para los microorganismos *C albicans*, y tuvo efecto fungistático contra *A. fumigatus*. Su desempeño fue similar al de la Solución 1 en el tiempo de desinfección de 6 horas.

La Solución 3 presentó efectividad de 100% para *C. albicans*. Para *A. fumigatus* su efecto fue fungistático en el tiempo de desinfección de 4 horas, sugerido por el fabricante.

La Solución 4, con agente desinfectante trimetropín, en el tiempo de desinfección de 6 horas (sugerido por el fabricante), mostró efecto antifúngico limitado puesto que su promedio de eliminación de los hongos evaluados (*C. albicans* y *A. fumigatus*) fue sólo 33%.

El microorganismo que presentó mayor resistencia a las soluciones, exceptuando a la 5 (con peróxido de hidrógeno), fue el *Aspergillus fumigatus*.

BIBLIOGRAFÍA

- Borazjani, R. & Kilvington, S. (2005). Efficacy of multipurpose solutions against *Acanthamoeba* species. *Contact Lens and Anterior Eye*, 28, 169-175.
- Butrus, S. & Klotz, S. (1986). Blocking *Candida* adherence to contact lenses. *Current. Eye Research*, 10, 745-750.
- Cano, J., Bueno, I., Laínez, B., Córdoba, J., & Montes, R. (1999). Antibacterial and antifungal effects of soft contact lens disinfection solutions. *Contact Lens Anterior Eye*, 22, 83-86.
- Codling, C., Maillard, J., & Russell, A. (2003). Aspects of the antimicrobial mechanisms of action of a polyquaternium and an amidoamine. *Journal of Antimicrobial Chemother*, 51, 153-158.
- Driebe, W. (1995). Contact Lens Cleaning and Disinfection. In *Contact Lenses*, In *The CLAO guide to basic science and clinical practice* (pp 237-262). Dubuque, IA: Kendall/Hunt Publishing Company.
- Efron, N. (2002). *Contact Lenses A-Z*. Elsevier Science. Butterworth-Heinemann. Philadelphia.
- García, S., Aubert, S., Iraqui, I., Janbon, G., Ghigo, J., & D'enfert, C. (2004). *Candida albicans* Biofilms: a Developmental state associated with specific and stable gene expression patterns. *Eukaryotic cell*, 3, 536-545.
- Gopinathan, U., Sharma, S., Boghani, S., & Rao, G. (1994). Sterility and the disinfection potential of Indian contact lens solutions. *Indian Journal of Ophthalmology*, 42, 65-70.
- Grus, F., Kraman, C., Bozkurt, N., Wiegel, N., & Bruns, K. (2005). Effects of multipurpose contact lens solutions on the protein composition of the tear film. *Contact Lens and Anterior Eye*, 28, 103-112.
- Jones, L., Macdougall, N., & Sorbara, L. (2002). Asymptomatic corneal staining associated with the use of balafilcon silicone-hydrogel contact lenses disinfected with a polyaminopropyl biguanide-preserved care regimen. *Optometric & Visual Science*, 79, 753-61.
- Kilvington, S. (2004). Antimicrobial efficacy of a povidone iodine (PI) and a one-step hydrogen peroxide contact lens disinfection system. *Contact Lens and Anterior Eye*, 27, 209-212.
- Lever, A. & Borazjani, R. (2001). Comparative antimicrobial efficacy of multipurpose hydrogel lens care solutions. *Contact Lens and Anterior Eye*, 24, 94-99.
- Marqués, M. (2001). Fungal growth in hydrophilic contact lenses. *International Contact Lens Clinic*, 27, 4-46.
- Marqués, M. (2004). Colonization of hydrophilic contact lenses by yeast. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 31, 255-260.
- Mclaughlin W. (1991). Chemical inactivation of microorganisms on rigid gas permeable contact lenses. *Optometry & Vision Science*, 68, 721-727.
- Millis, E. (2005). *Medical contact lens practice*. Elsevier Limited.

- Morgan J. (1987). Opti-Soft for the care of soft contact lenses: A triphasic, one-year clinical evaluation. *CLAO Journal*, 13, 268.
- Nilsson, S., & Lindh, H. (1990). Polyquad and hydrogen peroxide disinfecting solutions. A comparison of subjective comfort and objective findings. *Contactology*, 12, 102-105.
- Rosenthal, R., Bell, W., & Abshire, R. (1999). Disinfecting action of a new multipurpose disinfection solution for contact lenses. *Contact Lens Anterior Eye*, 22, 104-9.
- Rosenthal, R., Henry, C., Stone, R. & Schlech, B. (2003). Anatomy of a regimen: consideration of multipurpose solutions during non compliant use. *Contact Lens and Anterior Eye*, 26, 17-26.
- Rosenthal, R., Henry, C. & Schlech, B. (2004). Contribution of regimen steps to disinfection of hydrophilic contact lenses. *Contact Lens and Anterior Eye*, 27, 149-56.
- Rosenthal, R., Dassanayake, N., Schlitzer, R., Schlech, B., Meadows, D., & Stone, R. (2006). Biocide uptake in contact lenses and loss of fungicidal activity during storage of contact lenses. *Eye Contact Lens*, 32, 262-266.
- Rotman, S., Sandovsky-Losica, H., Sionov, E., & Segal, E. (2003). Effect of a chitin derivative in combination with cleaning and preservation solutions for contact lenses on adherence of fungi. *Mycoses*, 46, 90-95.
- Wachter, K. (2004). Eye trauma may lead to fungal infection. *Skin and Allergy News*, 35, 42-43.
- Wilhelmus, K., Robinson, N., Font, R., Hamill, M., & Jones, D. (1988). Fungal Keratitis in contact lens wearers. *American Journal of Ophthalmology*, 106, 708-714.
- Wilson, L., Sawant, A., & Ahearn, D. (1991). Comparative efficacies of soft contact lens disinfectant solutions against microbial films in lens cases. *Archives of Ophthalmology*, 109, 1155-1157.