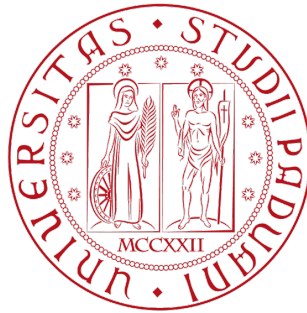


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI FISICA E ASTRONOMIA “GALILEO
GALILEI”

Corso di Laurea in Ottica e Optometria



TESI DI LAUREA

SOLUZIONI MULTIFUNZIONE:
ANALISI DEI CONSERVANTI, EFFETTI SUL
PORTATORE E GESTIONE OPTOMETRICA

Relatore:
Prof. MIRKO CHINELLATO

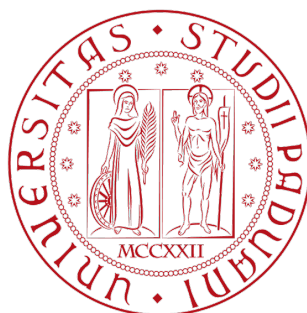
Correlatore:
Prof.ssa STEFANIA BORTOLUZZI

Laureando:
TROMBONI PIETRO
1142810

ANNO ACCADEMICO 2018/19

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI FISICA E ASTRONOMIA “GALILEO
GALILEI”

Corso di Laurea in Ottica e Optometria



TESI DI LAUREA

SOLUZIONI MULTIFUNZIONE:
ANALISI DEI CONSERVANTI, EFFETTI SUL
PORTATORE E GESTIONE OPTOMETRICA

Relatore:
Prof. MIRKO CHINELLATO

Correlatore:
Prof.ssa STEFANIA BORTOLUZZI

Laureando:
TROMBONI PIETRO
1142810

ANNO ACCADEMICO 2018/19

INDICE

CAP 1. INTRODUZIONI ALLE SOLUZIONI MULTIFUNZIONE

- 1.1 Soluzione multifunzione, definizione e requisiti..... p. 1
- 1.2 Soluzione multifunzione, caratteristiche generali..... p. 11

CAP 2. ANALISI DEI CONSERVANTI

- 2.1 Conservanti, equilibrio tra efficacia e sicurezza..... p. 16
- 2.2 Evoluzione dei conservanti nelle MPS..... p. 17
- 2.3 Poliesametilene Biguanide (PHMB)..... p. 19
- 2.4 Polyquaternium-1 (PQ-1)..... p. 21

CAP 3. EFFETTI SUL PORTATORE

- 3.1 MPS, effetti indesiderati..... p. 22
- 3.2 L'osservazione con fluoresceina sodica..... p. 23
- 3.3 Staining corneale associato all'uso di MPS, cosa vediamo?... p. 23
- 3.4 MPS, effetti sui tessuti oculari..... p. 30

CAP 4. GESTIONE E PREVENZIONE OPTOMETRICA

- 4.1 MPS, utilizzo consapevole e gestione..... p. 35
- 4.2 Rub e risciacquo contro lo SICS..... p. 37
- 4.3 Soluzione alternativa, i perossidi..... p. 39
- 4.4 Servizio efficace, una responsabilità comune..... p. 39

CAP 5. CONCLUSIONI..... p. 41

BIBLIOGRAFIA..... p. 44

ELENCO ACRONIMI

MPS: Soluzione multifunzione

UE: Unione Europea

CE: Comunità Europea

CEE: Comunità Economica Europea

BAK: Benzalconio Cloruro

EDTA: Acido etilendiamminotetraacetico

PHMB: Poliesametilene biguanide

PQ-1: Polyquaternium-1

MPS-PHMB: Soluzione multifunzione conservata con poliesametilene biguanide

MPS-PQ-1: Soluzione multifunzione conservata con polyquaternium-1

SICS: Staining corneale indotto da soluzione

PATH: Iperfluorescenza transiente associata a conservanti

FDA: Food And Drug Administration

RIASSUNTO

Il presente elaborato è una revisione scientifica sulle soluzioni multifunzione (note anche come soluzioni uniche o, con l'acronimo inglese, MPS), si basa sulla consultazione e su di una personale integrazione della letteratura scientifica disponibile. Nella selezione degli studi analizzati, reperiti in riviste scientifiche e in *database* come il “*National Center for Biotechnology Information*”, si è fatto riferimento ai lavori più recenti ed aggiornati, prendendo in considerazione solo gli studi statisticamente rilevanti come indicato dai ricercatori stessi. Incrociando i risultati di studi differenti è stata delineata una visione d'insieme sull'argomento che raccoglie dati e pareri di ricercatori e professionisti della visione.

Nonostante i dispositivi medici siano prodotti ben definiti e regolamentati, la conoscenza di chi vende (anche *e-commerce*, farmacie) e di chi acquista soluzioni multifunzione (consumatore finale) può essere superficiale o limitata al pratico utilizzo dei suddetti dispositivi. Nel testo verranno descritte le caratteristiche chimiche essenziali dei due conservanti attualmente utilizzati nella maggior parte delle soluzioni multifunzione in commercio. Una volta note le peculiarità dei due composti diventa infatti più semplice comprendere i meccanismi d'azione dei suddetti conservanti e gli effetti che ne derivano.

I processi chimici e biologici che si attuano quando i tessuti oculari vengono esposti alle soluzioni multifunzione non saranno, in questo elaborato, trattati in maniera approfondita, verrà invece lasciato più spazio alla descrizione delle conseguenze di tali processi poiché più significative per il ruolo professionale che l'applicatore ricopre.

I nomi commerciali delle soluzioni sono stati omessi, ma il lettore potrà risalire al prodotto confrontando i dati delle formulazioni citati con quelli dichiarati dai produttori dei dispositivi medici in commercio. L'elaborato si conclude con suggerimenti e accortezze sulla pratica quotidiana per gestire al meglio la

distribuzione delle MPS all'utenza, garantendo un servizio professionale che miri alla prevenzione di eventi avversi e quindi alla salute del portatore.

CAP 1. INTRODUZIONE ALLE SOLUZIONI MULTIFUNZIONE

1.1 SOLUZIONE MULTIFUNZIONE, DEFINIZIONE E REQUISITI

Le soluzioni multifunzione sono un prodotto rigorosamente definito, regolamentato e tutelato.

Ai sensi del regolamento (UE) 2017/745 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 5 aprile 2017 relativo ai dispositivi medici, che modifica la direttiva 2001/83/CE, il regolamento (CE) n. 178/2002 e il regolamento (CE) n. 1223/2009 e che abroga le direttive 90/385/CEE e 93/42/CEE del Consiglio.

Ai fini del presente regolamento si applicano le seguenti definizioni: 1) «dispositivo medico»: qualunque strumento, apparecchio, apparecchiatura, software, impianto, reagente, materiale o altro articolo, destinato dal fabbricante a essere impiegato sull'uomo, da solo o in combinazione, per una o più delle seguenti destinazioni d'uso mediche specifiche:

- diagnosi, prevenzione, monitoraggio, previsione, prognosi, trattamento o attenuazione di malattie,
- diagnosi, monitoraggio, trattamento, attenuazione o compensazione di una lesione o di una disabilità,
- studio, sostituzione o modifica dell'anatomia oppure di un processo o stato fisiologico o patologico,
- fornire informazioni attraverso l'esame *in vitro* di campioni provenienti dal corpo umano, inclusi sangue e tessuti donati, e che non esercita nel o sul corpo umano l'azione principale cui è destinato mediante mezzi farmacologici, immunologici o metabolici, ma la cui funzione può essere coadiuvata da tali mezzi. Si considerano dispositivi medici anche i seguenti prodotti:
 - dispositivi per il controllo del concepimento o il supporto al concepimento,
 - i prodotti specificamente destinati alla pulizia, disinfezione o sterilizzazione dei dispositivi di cui all'articolo 1, paragrafo 4, e di quelli di cui al primo comma del presente punto;

2) «accessorio di un dispositivo medico»: un prodotto che, pur non essendo esso stesso un dispositivo medico, è destinato dal fabbricante a essere utilizzato con uno o più dispositivi medici specifici, per permettere in particolare che questi ultimi siano impiegati conformemente alla loro destinazione d'uso, oppure per assistere specificamente e direttamente la funzionalità sul piano medico del dispositivo o dei dispositivi medici in relazione alla loro destinazione d'uso;

Secondo la Regola 16 appartenente al paragrafo 7.3 del Regolamento, tutti i dispositivi destinati specificamente a essere utilizzati per disinfettare, pulire, sciacquare o, se del caso, idratare le lenti a contatto rientrano nella classe IIb. Tutti i dispositivi destinati specificamente a essere utilizzati per la disinfezione o la sterilizzazione dei dispositivi medici rientrano invece nella classe IIa, a meno che si tratti di soluzioni disinfettanti o di apparecchi di lavaggio e disinfezione destinati specificamente a essere utilizzati per disinfettare i dispositivi invasivi al termine del trattamento, nel qual caso rientrano nella classe IIb. Questa regola non si applica ai dispositivi destinati a pulire dispositivi diversi dalle lenti a contatto solo mediante un'azione fisica.

Rientrano inoltre a far parte dei prodotti che non hanno una destinazione d'uso medica le lenti a contatto e altri elementi destinati a essere introdotti nell'occhio.

I dispositivi forniscono le prestazioni previste dal loro fabbricante e sono progettati e fabbricati in modo che, in normali condizioni d'uso, siano adatti alla loro destinazione d'uso. Essi sono sicuri ed efficaci e non compromettono lo stato clinico o la sicurezza dei pazienti, né la sicurezza e la salute degli utilizzatori ed eventualmente di altre persone, fermo restando che gli eventuali rischi associabili al loro utilizzo siano accettabili, considerati i benefici apportati al paziente, e compatibili con un elevato livello di protezione della salute e della sicurezza, tenendo conto dello stato dell'arte generalmente riconosciuto. Il requisito previsto richiede di ridurre la percentuale di rischi per quanto possibile, ovvero indica la riduzione dei rischi per quanto possibile, senza compromettere il rapporto benefici-rischi.

I fabbricanti stabiliscono, implementano, documentano e mantengono un sistema di gestione del rischio.

Per eliminare o ridurre i rischi connessi agli errori d'uso i fabbricanti devono:

- a) ridurre, per quanto possibile, i rischi connessi alle caratteristiche ergonomiche del dispositivo e all'ambiente in cui è previsto che quest'ultimo sia usato (progettazione per la sicurezza del paziente);
- b) considerare il livello di conoscenza tecnica, esperienza, istruzione, formazione e ambiente d'uso, e, ove possibile, le condizioni mediche e fisiche degli utilizzatori previsti (progettazione per utilizzatori profani, professionali, disabili o altri).

Le caratteristiche e le prestazioni di un dispositivo non devono essere influenzate negativamente oltre il grado in cui risultino compromesse la salute o la sicurezza di pazienti, utilizzatori e, se del caso, di altre persone durante la vita del dispositivo indicato dal fabbricante, quando il dispositivo è sottoposto alle sollecitazioni che possono verificarsi in normali condizioni d'uso nonché a una corretta manutenzione, secondo le istruzioni del fabbricante. I dispositivi sono progettati, fabbricati e imballati in modo che le loro caratteristiche e le loro prestazioni, durante l'utilizzo previsto, non vengano alterate durante il trasporto e la conservazione, ad esempio, mediante fluttuazioni della temperatura e del grado di umidità, ove si tenga conto delle istruzioni e delle informazioni fornite dal fabbricante.

Tutti i rischi noti e prevedibili e gli eventuali effetti collaterali non desiderati sono ridotti al minimo e risultano accettabili rispetto ai benefici valutati per il paziente e/o l'utilizzatore, derivanti dalle prestazioni del dispositivo in normali condizioni d'uso.

Per i dispositivi, i requisiti generali di sicurezza vanno intesi nel senso che il dispositivo, se utilizzato alle condizioni e per i fini previsti, non presenta alcun rischio o un rischio non superiore a quello massimo accettabile connesso all'uso del prodotto, che è coerente con un elevato livello di protezione della salute e

della sicurezza delle persone. Una particolare attenzione va rivolta agli elementi seguenti:

- scelta dei materiali e delle sostanze utilizzati, in particolare dal punto di vista della tossicità e, se pertinente, dell'inflammabilità;
- compatibilità tra i materiali e le sostanze utilizzati e i tessuti biologici, le cellule e i fluidi corporei, tenendo conto della destinazione d'uso del dispositivo e, se del caso, assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione;
- compatibilità tra le diverse parti di un dispositivo che consiste di più di una parte impiantabile;
- impatto dei processi sulle proprietà dei materiali;
- se del caso, i risultati della ricerca biofisica o modellistica la cui validità sia stata precedentemente dimostrata;
- proprietà meccaniche dei materiali utilizzati, tenendo conto, se del caso, di aspetti quali robustezza, duttilità, resistenza alla frattura, resistenza all'usura e resistenza alla fatica;
- proprietà di superficie;
- la conferma che il dispositivo soddisfa tutte le specifiche chimiche e/o fisiche definite.

I dispositivi sono progettati, fabbricati e imballati in modo tale da ridurre al minimo i rischi che i contaminanti e i residui presentano per i pazienti, in funzione della destinazione d'uso prevista per il dispositivo, nonché per il personale incaricato del trasporto, della conservazione e dell'utilizzo dei dispositivi. Occorre prestare un'attenzione particolare ai tessuti esposti a tali contaminanti e residui così come alla durata e alla frequenza dell'esposizione.

I dispositivi e i loro relativi processi di fabbricazione sono progettati in modo tale da eliminare o ridurre per quanto possibile i rischi d'infezione per i pazienti, gli utilizzatori e, se del caso, altre persone. La progettazione è tale da:

- ridurre per quanto possibile e appropriato i rischi derivanti da lesioni e punture involontarie, come ad esempio ferite provocate da aghi;

- consentire una manipolazione agevole e sicura;
- ridurre per quanto possibile qualsiasi dispersione microbica dal dispositivo e/o esposizione microbica durante l'uso;
- prevenire la contaminazione microbica del dispositivo o del suo contenuto, quali campioni o fluidi.

I dispositivi la cui etichetta ne indica lo stato microbico sono progettati, fabbricati e imballati in modo da garantire che mantengano tale stato al momento dell'immissione sul mercato, nelle condizioni di trasporto e di immagazzinamento previste dal fabbricante.

I dispositivi forniti allo stato sterile sono quindi progettati, fabbricati e confezionati secondo procedure appropriate in modo da garantire che siano sterili al momento dell'immissione sul mercato e che, salvo in caso di danneggiamento del confezionamento che ne conserva la sterilità, mantengano tale stato nelle condizioni di trasporto e di immagazzinamento specificate dal fabbricante fino a quando non sia aperto il confezionamento nel punto di utilizzo. Si garantisce che sia chiaramente evidente all'utilizzatore finale l'integrità di tale involucro. I dispositivi la cui etichetta indica che sono sterili sono trattati, fabbricati, confezionati e sterilizzati mediante metodi convalidati e appropriati. I dispositivi destinati a essere sterilizzati sono fabbricati e confezionati in condizioni e strutture adeguate e controllate.

I sistemi di confezionamento per dispositivi non sterili devono conservare l'integrità e la pulizia del dispositivo e, ove i dispositivi siano destinati a essere sterilizzati prima dell'uso, ridurre al minimo i rischi di contaminazione microbica; il sistema di confezionamento è adeguato, tenuto conto del metodo di sterilizzazione indicato dal fabbricante. L'efficacia antibatterica delle singole soluzioni viene valutata prima della commercializzazione tramite la procedura strutturata ISO 14729 (1). La prima fase di questa procedura è costituita dallo *Stand Alone Test* in cui si verifica la *performance* della sola soluzione (da qui il nome), che deve essere in grado di ridurre i livelli delle colture di microrganismi

(*Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Fusarium solani*) secondo i seguenti standard:

- 3.0 unità logaritmiche per i batteri;
- 1.0 unità logaritmiche per i funghi.

Se la soluzione supera lo *Stand Alone* può essere commercializzata come soluzione disinfettante, in caso contrario l'efficacia della soluzione sarà vagliata con test successivi: criteri secondari dello *Stand Alone e Regimen Test*. Con il *Regimen Test* vengono valutate le procedure di disinfezione indicate dal produttore, superato questo test il prodotto può entrare in commercio contrassegnato come parte di un sistema di disinfezione per lenti a contatto (1).

La terminologia utilizzata nell'ambito dell'azione dei prodotti per la manutenzione delle lenti a contatto può essere fuorviante e confondente, è opportuno dunque chiarire alcuni concetti. La conservazione è un processo in cui i microrganismi vegetativi e viventi vengono completamente uccisi o inattivati. Tuttavia alcuni organismi sono in grado di produrre spore, queste ultime non vengono uccise nel processo di disinfezione. Le spore possono germinare e contaminare il substrato sul quale sono localizzate portando ad una conseguente infezione oculare. La sterilizzazione è un processo in cui tutti gli organismi, spore incluse, vengono eliminati impedendo così ogni forma di crescita batterica.

Alla luce delle definizioni fornite è chiaro che un processo di sterilizzazione dovrebbe essere effettuato di norma da ogni portatore di lenti a contatto. Purtroppo però la sterilizzazione è raggiungibile solo esponendo i microrganismi ad alte temperature (121°C) per quindici minuti ad una pressione di 1 atmosfera (2), condizioni decisamente impossibili da raggiungere in realtà domestiche o non praticabili in quanto dannose per alcuni materiali.

Fondamentalmente i conservanti agiscono attraverso la loro capacità di uccidere o danneggiare le cellule microbiche.

Ci sono due suffissi che descrivono l'effetto di un agente chimico sulla crescita microbica: -statico e -cida. Il primo indica la soppressione della crescita di microrganismi senza che avvenga una riduzione in termini numerici dei

microrganismi presenti. Il secondo indica invece una eliminazione attiva dei microrganismi viventi. Questi suffissi vengono apposti a parole che descrivono il tipo di organismo sul quale gli agenti hanno effetto. È interessante notare che i due termini non sono mutualmente esclusivi, l'attività biocida può infatti essere spesso raggiunta semplicemente utilizzando una maggiore concentrazione di un agente impiegato come “-statico”.

I dispositivi destinati a utilizzatori profani sono infine progettati e fabbricati in modo tale da:

- permettere agli utilizzatori previsti di usarli in modo sicuro e preciso in tutte le fasi, se necessario dopo aver ricevuto formazione e/o informazioni appropriate;
- ridurre, per quanto possibile e appropriato, i rischi derivanti da lesioni e punture involontarie (3).

Fino agli anni 90 ogni paese dell'Unione Europea adottava un approccio diverso nella valutazione ed identificazione dei dispositivi medici. Per unificare le differenti procedure l'UE introdusse delle direttive con ‘Requisiti Essenziali’ (precedentemente descritti) perché ogni dispositivo potesse essere immesso nel commercio tra gli stati dell'Unione solo una volta ottenuta la certificazione a marchio CE; in UE le procedure di valutazione di conformità vengono attuate da terzi, sotto il controllo delle autorità nazionali. Grazie a queste direttive furono inserite, tra i dispositivi medici, anche le lenti a contatto.

La Commissione Europea ha inoltre proposto dei regolamenti sui dispositivi medici, il più recente dei quali risale al 2017 (4). Con questi regolamenti viene evidenziata la necessità di sviluppare dispositivi medici sempre più sicuri ed efficaci ottenibili mantenendo un approccio costantemente innovativo nella ricerca di settore.

È inoltre fondamentale comprendere che, la regolamentazione delle lenti a contatto e delle soluzioni per la loro manutenzione e disinfezione è necessaria per garantire la sicurezza dell'utente.

La classificazione dei dispositivi medici ad opera della Commissione Europea si basa su di un sistema di valutazione del rischio relativo alla vulnerabilità del

corpo umano. Ciò sta a sottolineare l'importanza nel regolamentare tutti i dispositivi medici, inclusi quelli delle categorie a basso rischio. Per garantire l'unificazione nella valutazione possono essere commercializzati solamente i prodotti che presentano la totalità dei 'Requisiti Essenziali' per l'UE.

Limitare i potenziali rischi e le complicanze associate all'utilizzo di lenti a contatto (e di eventuali soluzioni per la loro manutenzione) diventa dunque un obiettivo primario per il professionista che fornisce all'utente tali dispositivi.

Nella letteratura scientifica vengono trattate complicanze tossiche e microbiologiche anche pericolose, riconducibili al porto di lenti a contatto e alla loro capacità di alterare l'omeostasi della superficie corneale e di veicolare agenti patogeni (2, 5-7).

Effetti tossici ed allergici vengono riscontrati anche in soggetti che utilizzano soluzioni per lenti a contatto. Questi appena citati sono solo alcuni dei rischi attribuibili ad un uso incorretto e incontrollato dei suddetti dispositivi medici.

Ancora una volta le evidenze scientifiche (4) sottolineano l'importanza di una sorveglianza regolamentata per garantire la sicurezza dell'utente.

In Europa, come già anticipato, gli organi governativi classificano i dispositivi medici sulla base del loro basso, medio o alto rischio.

Sulla base del rischio valutato, le soluzioni per la disinfezione, la pulizia e il risciacquo delle lenti a contatto vengono collocate nella classe IIb del Regolamento Europeo per i dispositivi medici.

Lenti a contatto e rispettive soluzioni sono obbligatoriamente soggette a rigorose valutazioni volte a dimostrare: biocompatibilità, compatibilità fisica (tra lente e soluzione), stabilità e sterilizzazione.

La biocompatibilità viene valutata appunto per garantire l'assenza di interferenze biologiche negative del prodotto con il corpo umano. Gli accertamenti sui dispositivi permettono infatti di evitare risposte biologiche avverse che potrebbero scaturire dall'interazione tra il soggetto e il dispositivo in questione. Nel caso delle soluzioni per lenti a contatto la citotossicità viene valutata esponendo colture cellulari alle soluzioni stesse.

I rischi associati all'uso di lenti a contatto e alle rispettive soluzioni trovano ampio spazio sia nella letteratura scientifica che negli standard internazionali. Indagini e valutazioni metodologicamente rigorose sono infatti essenziali nel determinarne la sicurezza e l'efficacia. Ciò avviene attraverso un processo di studio della produzione, delle caratteristiche chimiche e fisiche e dei profili tossicologici e microbiologici dei dispositivi. I regolamenti sulle lenti a contatto e sulle soluzioni per la loro manutenzione prevedono che vengano conservate in condizioni di sterilità fino ad apertura da parte del consumatore finale (4).

1.2 SOLUZIONE MULTIFUNZIONE, CARATTERISTICHE GENERALI

Già nel 2015, il novanta per cento dei portatori di lenti a contatto morbide utilizzava soluzioni multifunzione disinfettanti (MPS) per la loro manutenzione (8). Quando un utente introduce nell'occhio una soluzione estranea alla normale composizione del film lacrimale, deve innanzitutto sapere che essa può interferire con la consueta integrità dell'epitelio corneale e le sue funzioni, causando così segni e sintomi riconducibili ad irritazione oculare. Proprio perché queste soluzioni risultano essere molto popolari, ogni effetto collaterale deve essere inizialmente di interesse dell'applicatore per poter garantire un più capillare monitoraggio sulla vasta popolazione di utilizzatori di soluzioni multifunzione.

Questo rivoluzionario dispositivo medico è stato ideato per detergere, disinfettare e umettare efficacemente le lenti tramite un'unica soluzione ed un'unica azione; il prodotto ideale dovrebbe quindi avere le seguenti caratteristiche:

- efficace disinfezione contro un'ampia varietà di organismi patogeni;
- assente tossicità nei confronti dei tessuti oculari;
- compatibilità con tutti i materiali per la costruzione di lenti a contatto;
- facile utilizzo;
- rapida attività disinfettante;
- capacità di aumentare l'umettabilità della lente a contatto e di migliorare il comfort durante il porto;

-minima deposizione di residui di film lacrimale sulla lente;

-costo contenuto per l'utente finale;

Direttamente o indirettamente tutti i prodotti per la manutenzione delle lenti vengono a contatto con l'occhio e pertanto devono essere chimicamente e fisicamente bilanciati per garantire il comfort del portatore e mantenere la salute oculare. È importante avere familiarità con le caratteristiche generali di una soluzione per poter consigliare prodotti alternativi nel caso in cui un portatore incontri difficoltà particolari. Le proprietà e l'efficacia dei prodotti raccomandati per la manutenzione delle lenti possono alterarsi nel tempo, per tale ragione tutte le soluzioni devono essere utilizzate prima della rispettiva data di scadenza. Le caratteristiche generali che devono essere prese in considerazione sono le seguenti:

Tonicità – l'osmolarità media del film lacrimale umano è di circa 320 mmol/kg, con una gamma di variabilità compresa fra i 300 e i 350 mmol/kg (9). Questo equivale ad una concentrazione di cloruro di sodio allo 0,9%. Idealmente, le soluzioni per le lenti a contatto dovrebbero avere una tonicità simile a quella del film lacrimale, per evitare la sensazione di discomfort qualora la lente applicata presentasse tracce residue di soluzione. Con l'aumentare della tonicità della soluzione, diminuisce il comfort e aumenta l'iperemia congiuntivale. Il fastidio e l'iperemia sono 'precoci segnali d'allarme' che precedono la sofferenza corneale (9).

pH – è la concentrazione di ioni di idrogeno o l'equilibrio acido/ alcalino della soluzione. Per garantire il comfort dovrebbe avere un valore il più vicino possibile al pH medio delle lacrime umane ($7,45 \pm 0,16$) (5) e comunque compreso tra 6,6 e 7,8. Va notato che il pH delle lacrime non è un valore statico e che, come quello di altri fluidi corporei, varia durante il giorno (10). L'occhio contiene agenti tampone in grado di riportare il film lacrimale ad un pH normale se le soluzioni utilizzate superano il normale range. Il fastidio temporaneo avvertito dal portatore dimostra tuttavia che le soluzioni dovrebbero avere un pH più simile possibile a quello neutro degli occhi. Esistono delle differenze nel pH delle soluzioni che,

discostandosi dal pH della lacrima, possono provocare fastidio in alcuni soggetti. Due tamponi comunemente usati nelle soluzioni per le lenti a contatto sono il borato ed il fosfato (10).

Viscosità – La viscosità è la resistenza al flusso dovuta alla frizione che si produce quando uno strato del fluido si muove rispetto all'altro. Viene misurata in centipoise (cP) e, nelle soluzioni multifunzione, varia con la temperatura (11). Tra le soluzioni in commercio i valori di viscosità rientrano in un range che va da 0.96 ± 0.00 cP a 3.02 ± 0.05 cP (11), mentre i valori di viscosità nel film lacrimale di un soggetto normale variano approssimativamente tra 5.0 cP e 1.5 cP a 25°C (12-13).

Per controllare la 'densità' della soluzione possono essere incorporati degli agenti di viscosità. L'agente più utilizzato per aumentare la viscosità è la metilcellulosa. Può essere aggiunto ad una soluzione umettante per aumentare il tempo di contatto dell'agente umettante con la lente oppure può essere aggiunto alle lacrime artificiali per aumentare il tempo di contatto della formulazione con l'occhio. Anche la viscosità dei prodotti surfattanti può essere aumentata per incrementare il tempo di contatto (11).

Agenti disinfettanti – una volta aperte, le soluzioni per le lenti a contatto possono essere soggette a contaminazione microbica. Per questa ragione, tutte le soluzioni che non sono monouso devono contenere dei conservanti che permettano di eliminare i microrganismi. La maggior parte degli agenti disinfettanti agisce rompendo la membrana cellulare dei batteri. Sfortunatamente, qualsiasi composto capace di rompere la membrana cellulare dei batteri è anche in grado di ledere le membrane delle cellule epiteliali danneggiandole (2, 5-7).

Nel formulare una soluzione disinfettante o conservante, è necessario trovare un equilibrio tra una formulazione sufficientemente forte da distruggere i batteri ed una formulazione abbastanza delicata da non diventare tossica per gli occhi. Nel tentativo di raggiungere questo equilibrio, sono state inizialmente utilizzate soluzioni come la clorexidina e il thimerosal. Questa strategia si è dimostrata efficace dal punto di vista della conservazione, ma non per la disinfezione perché,

non essendo sufficientemente battericide per l'uso come disinfettanti (2,5), le soluzioni non erano in grado di contenere l'aumento delle reazioni atopiche e tossiche, causate dalle elevate concentrazioni necessarie. Di conseguenza i produttori di soluzioni per lenti a contatto sono ora passati all'uso di sostanze chimiche come il poliesametilene biguanide (PHMB) o il polyquaternium-1 (PQ-1) come principali agenti disinfettanti nelle cosiddette soluzioni polivalenti. Queste sostanze chimiche sono meno tossiche per l'occhio rispetto ai vecchi composti, essenzialmente per via della loro maggiore dimensione molecolare, come approfondito in seguito.

La maggior parte delle soluzioni multifunzione contiene nella sua formulazione un agente surfattante per rimuovere i depositi di materiale dalla superficie della lente. I più comuni surfattanti sono definiti poloxameri tetronici o pluronici (14).

A causa delle differenze tra i componenti o tra le concentrazioni dei componenti nelle formulazioni, ogni soluzione può, ipoteticamente, manifestare diversi gradi di tossicità per la superficie oculare. Maggiore è l'entità della tossicità corneale osservata, maggiore è la probabilità che il portatore interrompa l'utilizzo delle lenti a contatto a causa del discomfort accusato. Nel corso degli anni sono state riscontrate frequenti intolleranze a specifiche formulazioni di MPS, associate poi ad effetti collaterali di diverso rilievo, da insignificanti a gravi (15).

CAP 2. ANALISI DEI CONSERVANTI

2.1 CONSERVANTI, EQUILIBRIO TRA EFFICACIA E SICUREZZA

Gli agenti antimicrobici, componenti essenziali per una sicura conservazione della soluzione, sono generalmente biguanidi, polimeri di biguanide (principalmente PHMB) o sali quaternari di ammonio (come il PQ-1). I derivati biguanidici e gli ammoni quaternari sono dei conservanti e come tali possono causare apoptosi cellulare e risultare tossici per la superficie oculare (16).

Il ruolo primario di un agente antimicrobico o biocida, è far in modo che la lente sia adeguatamente disinfettata e sicura quando inserita nell'occhio, tipicamente dopo essere stata immersa in soluzione per alcune ore. La scelta di un biocida adeguato è tecnicamente difficoltosa poiché deve prendere in considerazione tre caratteristiche fondamentali: efficacia, sicurezza e convenienza.

I meccanismi attraverso i quali i conservanti agiscono non sono stati ancora completamente compresi, è tuttavia noto che tra i vari processi sono annoverati la lisi delle membrane cellulari e l'inibizione di enzimi alla base della vitalità cellulare. L'attività antimicrobica è vincolata inoltre dal fatto che l'agente chimico debba obbligatoriamente entrare in contatto con gli organismi contaminanti per agire. Perché ciò avvenga il conservante deve essere libero in soluzione e non deve formare legami con le lenti a contatto o essere reso inattivo dalla presenza di depositi sulla superficie della lente o nella soluzione stessa (2).

Ogni agente chimico è caratterizzato da un peculiare spettro di efficacia. Sembrerebbe vantaggioso inserire nella formulazione di ogni soluzione un conservante con un ampio spettro d'azione ma l'individuazione di un agente con tali caratteristiche risulta limitata a pochi conservanti: poche soluzioni multifunzione riescono a garantire una vasta efficacia antimicrobica ad una concentrazione di conservante tale da non risultare dannosa per l'occhio (2).

L'agente deve essere efficace contro un'ampia varietà di patogeni, fornire una mortalità effettiva dei patogeni e non dei tessuti oculari e deve essere

economicamente accessibile e semplice nell'utilizzo. La scelta è ulteriormente complicata dalla duplice funzione che spetta al biocida: conservazione della soluzione e disinfezione delle lenti a contatto. Una di queste due funzioni (la conservazione della soluzione) ha origine in un elevato volume di soluzione, la conservazione avviene infatti nella totalità del volume della soluzione affinché tutto il prodotto risulti privo di microrganismi patogeni viventi o attivi; l'altra (la disinfezione) avviene in un volume di soluzione ridotto, all'interno del contenitore nel quale vengono immerse le lenti secondo le indicazioni riportate dal produttore. Conservazione e disinfezione richiedono diverse *performances* antimicrobiche. La ricerca di un equilibrio ottimale di questi due parametri, in concomitanza con la ricerca di un prodotto sicuro e semplice da utilizzare, prova la difficoltà della richiesta. (2).

2.2 EVOLUZIONE DEI CONSERVANTI NELLE MPS

Negli ultimi decenni una grande varietà di conservanti è stata utilizzata per preservare la sterilità delle soluzioni multi-dose. La prima generazione di conservanti includeva il noto benzalconio cloruro (BAK), molto utilizzato nei prodotti oftalmici sin dal 1940, composti contenenti mercurio, sali fenilmercurici (nitrati, acetati, borati) e thimerosal. Il BAK è un composto di ammoni quaternari con un esteso range di attività antimicrobica. Questo composto, comparso sul mercato nei primissimi anni del Novecento è stato inizialmente utilizzato come germicida espandendo il suo utilizzo negli anni Quaranta. Nell'industria oftalmica il BAK è stato appunto introdotto negli anni Quaranta come sostanza per conservare le soluzioni per lenti a contatto rigide. Da allora il BAK è stato utilizzato per la quasi totalità di soluzioni oftalmiche, dai farmaci antiglaucoma ai sostituti lacrimali. Il suo vasto utilizzo come conservante è dovuto in parte all'elevata compatibilità con le altre sostanze presenti nelle formulazioni e alla familiarità del composto all'interno dell'industria chimica e farmaceutica. Come il thimerosal anche il BAK non viene più utilizzato nella conservazione di soluzioni

multifunzione e in generale in soluzioni per lenti a contatto a causa degli effetti citotossici riscontrati nell'epitelio corneale. (2, 5).

Tra i vari agenti chimici, utilizzati in passato come conservanti in soluzioni oftalmiche e in MPS, compaiono alexidina idrocloride, colorobutanolo, acido sorbico, perborato di sodio, metilparabene, benzododecinio cloride, cretrimide, EDTA, nitrato fenilmercurico, metilparaidrossibenzoato, acetato di clorexidina, clorexidina digluconato, mirisamidopropil dimetilammina, fenossietanolo, fenietil alcol. Nonostante tutti questi conservanti possiedano un'elevata efficacia contro i microrganismi essi non vengono più inclusi nelle formulazioni delle MPS a causa della loro parallela azione citotossica nei tessuti oculari (2). Di conseguenza i produttori hanno sviluppato nuove soluzioni per consentire un'efficace eliminazione dei patogeni combinata ad utilizzo semplice e sicuro della soluzione sulla superficie oculare.

In risposta alle esigenze sopracitate sono stati scelti due nuovi composti, il PHMB e il PQ-1, tuttora utilizzati nella maggior parte delle soluzioni multifunzione per lenti a contatto; ciò nonostante essi rimangono oggetto di studio e discussione nell'ambito della sicurezza delle MPS poiché ad entrambi sono ancora attribuiti effetti indesiderati che potrebbero minare la salute dei tessuti oculari.

Per comprendere più a fondo la natura di questi conservanti e il loro utilizzo verrà, di seguito, analizzata la loro struttura chimica e la loro modalità d'azione sulla base di quanto fin ora noto ad esperti e ricercatori.

2.3 POLIESAMETILENE BIGUANIDE (PHMB)

Il PHMB ha un elevato numero di sinonimi, tra i più utilizzati rientrano: poliesanide, poliexidina, poliaminopropil biguanide, Dymed (nome commerciale utilizzato da Bausch & Lomb). Il PHMB è presente sul mercato da molti anni in quanto veniva utilizzato inizialmente per la disinfezione di piscine e nelle salviette umidificate. Il meccanismo d'azione del PHMB è correlato alla sua tendenza a

formare legami con i fosfolipidi carichi negativamente presenti nelle membrane plasmatiche microbiche. Il PHMB, una volta legato alle membrane ne causa la rottura a cui consegue la lisi cellulare. La membrana plasmatica esterna presenta degli agglomerati di fosfolipidi distintamente esposti ai quali il PHMB si lega molto rapidamente. La lunga struttura a catena costituita dai polimeri che formano il PHMB (gruppi di biguanidi separati da una catena di sei atomi di carbonio) fornisce un'attività antimicrobica ottimale dovuta alla moltitudine di siti ai quali possono legarsi le membrane delle cellule microbiche. Questa conformazione dà luogo ad un ingombrante complesso sulla membrana citoplasmatica microbica, rompendola (2, 5).

Nel tessuto umano la membrana plasmatica è più complessa e i siti fosfolipidici hanno una struttura differente che rende più difficile la creazione di legami con il conservante. Inoltre, la membrana cellulare delle cellule umane possiede ulteriori componenti come proteine e colesterolo che riescono a bloccare l'attività del PHMB rendendo più difficoltoso l'accesso ai siti fosfolipidici.

2.4 POLYQUATERNIUM-1 (PQ-1)

Il PQ-1 è un biocida ad alto peso molecolare che nei prodotti di Alcon assume il nome commerciale Polyquad. La sua modalità di azione è molto simile a quella del PHMB, ovvero rottura della membrana plasmatica dei patogeni.

Il PQ-1 è dotato di un peso molecolare (Figura 1) e di una struttura maggiore rispetto ai conservanti che lo hanno preceduto, come per esempio clorexidina e thimerosal, i quali conferiscono al polimero due notevoli vantaggi sugli altri conservanti. Primo, la molecola di PQ-1 non riesce a penetrare nei materiali porosi delle lenti hydrogel come poteva facilmente capitare con le molecole, di più esigue dimensione, dei conservanti utilizzati nelle prime generazioni di soluzioni multifunzione; ciò si traduce in un minore assorbimento di conservante nella lente e quindi una riduzione di eventi citotossici e di problemi legati al rilascio di agenti chimici durante il porto. Il secondo vantaggio è rappresentato

dalla maggiore capacità di danneggiare i microrganismi una volta raggiuntane la membrana cellulare, in questo modo si possono formulare soluzioni con concentrazioni di conservanti ridotte rispetto a quanto si poteva fare con sostanze come la clorexidina. Una minor quantità di conservante equivale a ridurre la potenziale tossicità e la comparsa di reazioni causate da ipersensibilizzazione. Ciò nonostante il PQ-1 può essere causa di danni all'epitelio superficiale corneale e alle cellule caliciformi della congiuntiva (2, 5, 17).

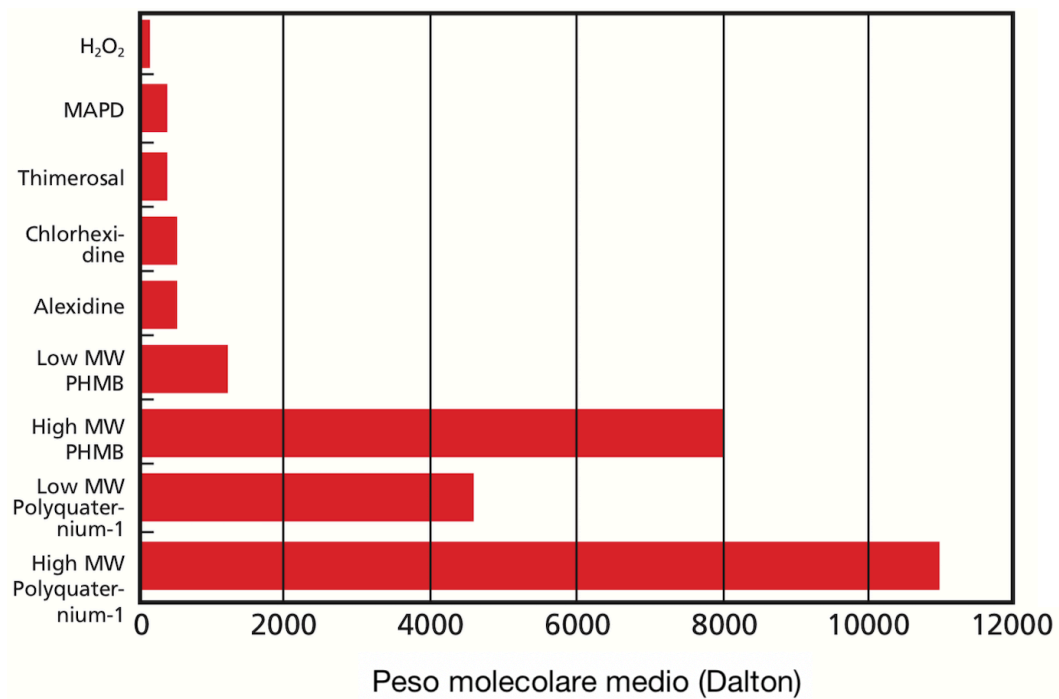


Figura 1. Il grafico riporta i diversi pesi molecolari delle sostanze utilizzate nella conservazione di MPS e di lenti a contatto (2).

CAP 3. EFFETTI SUL PORTATORE

3.1 MPS, EFFETTI INDESIDERATI

L'epitelio corneale è l'interfaccia tra l'ambiente oculare interno e l'esterno, costituendo una barriera difensiva contro le infezioni microbiche. Le sostanze che interferiscono con la normale funzionalità e integrità dell'epitelio possono quindi aumentare le possibilità di contrarre infezioni oculari. Il porto di lenti a contatto è stato associato a varie reazioni oculari avverse (18), specialmente se non gestito con le dovute accortezze nel seguire le indicazioni dei professionisti, tra cui quelle per il corretto uso delle soluzioni per lenti a contatto. Le soluzioni per lenti a contatto, come già detto, rendono più sicuro l'utilizzo di lenti poiché ne lubrificano la superficie, ne prevengono la disidratazione, aiutano nella rimozione dei depositi ed arrestano ed eliminano lo sviluppo microbico (5).

I due agenti disinfettanti presenti con più frequenza nelle formulazioni di MPS, PQ-1 e PHMB, pur essendo tra i più sicuri sul mercato, sono stati associati a fenomeni citotossici in ambiente oculare. Nonostante l'uso di MPS non sia direttamente correlato all'incremento di infezioni oculari, i componenti in esse contenuti (in particolare i biocidi), potrebbero danneggiare la superficie oculare creando situazioni predisponenti all'infiammazione (6, 7, 19-23). Quindi, una gestione scorretta di soluzioni multifunzione può portare ad eventi avversi che, se lasciati progredire, possono peggiorare portando l'utente a dover cessare l'utilizzo di lenti a contatto. Risulta ora più chiaro il motivo per cui le MPS devono mantenere un adeguato equilibrio tra attività antimicrobica e biocompatibilità mirando ad ottenere massima efficacia e minima tossicità.

3.2 L'OSSERVAZIONE CON FLUORESCEINA SODICA

Per identificare le reazioni oculari avverse associate alle MPS, molti studi (24-29) hanno adottato l'esame con fluoresceina sodica come metodo di indagine. Tuttavia questo sistema potrebbe risultare poco significativo (6, 30-32) poiché non

abbastanza sensibile e specifico da poter evidenziare danni citotossici a livello cellulare ma soprattutto perché non è ancora noto il meccanismo alla base dello *staining* associato alle MPS (32-33). L'osservazione clinica dello *staining* come strumento d'indagine per la valutazione della citotossicità delle MPS non è dunque ancora supportato sufficienti evidenze scientifiche (33).

3.3 STAINING CORNEALE ASSOCIATO ALL'USO DI MPS, COSA VEDIAMO?

Lo sviluppo di un eccessivo *staining* corneale associato all'uso di lenti silicone-hydrogel e di alcune soluzioni per la manutenzione di lenti a contatto ha fatto sì che i professionisti della visione iniziassero a riportare un numero sempre maggiore di casi. A causa di questa situazione lo *staining* dovuto alle soluzioni per lenti a contatto è diventato oggetto di svariate indagini scientifiche.

Il termine più utilizzato per descrivere questa condizione è SICS, acronimo della definizione inglese “solution induced corneal staining”, letteralmente “*staining* corneale indotto da soluzione”. I primi casi sono stati registrati quando lenti silicone-hydrogel costituite da balafilcon A venivano indossate dopo la pulizia avvenuta con soluzioni multifunzione conservate con PHMB (34-35).

Un successivo test clinico ad opera di Garofalo e colleghi ha stabilito che lo *staining* corneale risulta massimo approssimativamente due ore dopo l'inserimento della lente (25).

Molti altri studi hanno indicato che i livelli più elevati di SICS si registrano quando alcuni materiali silicone-hydrogel e altri hydrogel del secondo gruppo FDA (ad alto contenuto di acqua, non ionici) vengono esposti a soluzioni multifunzione contenenti PHMB (36-38).

Successivamente anche Carnt e colleghi, Andrasko e Ryen (26-27) hanno condotto esperimenti per verificare la risposta corneale successiva all'utilizzo delle lenti più vendute combinate con le soluzioni multifunzione più popolari. Dai loro lavori è emerso che alcune combinazioni erano causa di diversi livelli di

staining, altre invece non producevano effetti sulla cornea; i loro risultati (26-27) sono stati inseriti in una tabella (Figura 2) che raccoglie i diversi gradi di severità dello SICS in relazione alle diverse combinazioni di dispositivi. Gli esiti di

	Unisol® 4 Saline	Clear Care®	Opti-Free® Express®	Opti-Free® RepleniSH®	ReNu® with MoistureLoc®	ReNu MultiPlus®	Wal-Mart MPS	Target MPS	Complete® MoisturePlus®	AQuify®
Acuvue® 2	Mean=1.3 SD=2.2 N=30	Mean=0.9 SD=1.1 N=30	Mean=2.2 SD=4.6 N=30	Mean=4.7 SD=2.3 N=30	Mean=24.9 SD=2.3 N=30	Mean=0.9 SD=2.1 N=30	Mean=1.1 SD=2.3 N=30	Mean=1.0 SD=1.9 N=30	Mean=1.9 SD=2.3 N=30	Mean=1.1 SD=2.3 N=30
Proclear®	Mean=1 SD=1.3 N=30	Mean=1 SD=1.3 N=29	Mean=1 SD=2.8 N=30	Mean=2 SD=2 N=30	No Further Testing	Mean=57 SD=26.4 N=30	Mean=61 SD=21.4 N=29	Mean=54 SD=28.6 N=29	Mean=16 SD=19.5 N=30	Mean=12 SD=17.2 N=29
SofLens® 66	Mean=1 SD=1.2 N=30	Mean=1 SD=1.4 N=30	Mean=1 SD=1.1 N=30	Mean=1 SD=3 N=30	No Further Testing	Mean=73 SD=13.8 N=30	Mean=66 SD=22 N=30	Mean=62 SD=23.4 N=30	Mean=53 SD=24.6 N=30	Mean=8 SD=9.2 N=30
Acuvue® Advance™	Mean=0.5 SD=1.3 N=30	Mean=1.2 SD=2.2 N=30	Mean=1.3 SD=2.4 N=30	Mean=1.4 SD=3.0 N=30	No Further Testing	Mean=13.1 SD=9.0 N=30	Mean=16.0 SD=12.6 N=30	Mean=12.7 SD=8.3 N=30	Mean=20.2 SD=11.4 N=30	Mean=1.8 SD=3.5 N=30
Acuvue® Oasys™	Mean=1.7 SD=3.4 N=30	Mean=1.2 SD=2.5 N=30	Mean=3.1 SD=4.9 N=30	Mean=4.5 SD=4.7 N=30	Mean=9.5 SD=7.1 N=30	Mean=8.7 SD=11.8 N=30	Mean=11.5 SD=10.7 N=30	Mean=8.4 SD=11.2 N=30	Mean=4.5 SD=4.9 N=30	Mean=2.5 SD=5.5 N=30
PureVision®	Mean=2.0 SD=3.4 N=30	Mean=1.0 SD=1.7 N=29	Mean=3.9 SD=6.8 N=30	Mean=6.5 SD=7.0 N=30	Mean=5.8 SD=4.1 N=30	Mean=73.5 SD=21.9 N=30	Mean=70.9 SD=15.5 N=30	Mean=76.3 SD=14.3 N=29	Mean=47.9 SD=24.8 N=30	Mean=21.2 SD=23.2 N=30
Biofinity™	Mean=2 SD=2.6 N=29	Mean=2 SD=3 N=30	Mean=3 SD=3.4 N=29	Mean=2 SD=2.6 N=29	No Further Testing	Mean=4 SD=4.1 N=29	Mean=4 SD=4.5 N=30	Mean=3 SD=3.6 N=30	Mean=6 SD=6.9 N=29	Mean=2 SD=3.4 N=30
O2 Optix™	Mean=1.8 SD=4.9 N=30	Mean=1.0 SD=1.3 N=30	Mean=1.8 SD=2.0 N=30	Mean=4.8 SD=6.4 N=30	Mean=6.7 SD=7.8 N=30	Mean=24.5 SD=18.9 N=29	Mean=40.5 SD=27.9 N=30	Mean=28.4 SD=20.6 N=30	Mean=18.3 SD=16.3 N=30	Mean=2.7 SD=3.3 N=30
Night & Day®	Mean=1.8 SD=2.2 N=30	Mean=1.0 SD=1.9 N=30	Mean=2.3 SD=4.4 N=30	Mean=3.3 SD=4.1 N=30	No Further Testing	Mean=23.6 SD=17.7 N=30	Mean=35.8 SD=24.1 N=30	Mean=24.0 SD=21.2 N=30	Mean=15.9 SD=14.7 N=30	Mean=2.5 SD=2.5 N=30

SD = Standard deviation.

Figura 2. In soggetti che hanno interrotto il porto di lenti l'area interessata da *staining* occupa in media lo 0,63% dell'area totale della cornea, questa percentuale rimane pressoché costante fino a 18 ore di monitoraggio. Nella tabella sono riportati i valori di *staining* medio osservato dopo due ore dall'inserimento di ciascuna combinazione lente/soluzione multifunzione (26).

Andrasko e Ryen affermano che la risposta corneale più evidente (26-27), in accordo con i lavori precedenti, è stata identificata nell'utilizzo di soluzioni con PHMB costituendo un utile riferimento nella clinica (26-27, 39). Tuttavia, prodotti contenenti la stessa concentrazione di PHMB originano diversi livelli di *staining* corneale, situazione che resta difficile da spiegare perché ancora solo parzialmente compresa e studiata (26-27, 32, 40-42).

Questi dati (26-27) mostrano come lo SICS, nei lavori di Andrasko e colleghi, non sia associato ad un determinato tipo di dispositivo medico ma piuttosto ad una combinazione di dispositivi (lente/MPS).

Attualmente i sintomi associati allo SICS sono stati registrati in un ampio range i cui valori estremi sono rappresentati da situazioni con sintomatologia assente (28) e situazioni con sintomatologia importante (25-26, 43-44). Inizialmente invece le pubblicazioni scientifiche facevano riferimento allo SICS come ad un fenomeno asintomatico. Analisi cliniche retrospettive, effettuate su di un campione di oltre 600 individui, hanno riscontrato che lo SICS è associato ad una più alta frequenza nella comparsa di eventi infiltrativi (45-47), evidenza che alimenta ulteriormente l'interesse clinico nella ricerca in questo ambito.

Recentemente, Bright e colleghi hanno avanzato un'ipotesi riguardo alla comparsa di SICS, questa proposta è nota con l'acronimo PATH: "preservative associated transient hyperfluorescence", letteralmente, iperfluorescenza transiente associata a conservanti (48). Questa ipotesi spiega la comparsa di SICS come conseguenza di rilascio, sulla superficie oculare, di molecole di PHMB provenienti dalla lente a contatto. Queste molecole tendono a legarsi alle cellule dell'epitelio corneale e successivamente la fluoresceina sodica sembrerebbe legarsi al complesso cellula-PHMB; l'ipotesi suggerisce inoltre che il nuovo complesso creatosi risulti inerte, non inducendo alcuna sofferenza a livello cellulare e i reports con sintomatologia minima sembrano comprovare l'esistenza di un processo inerte. La teoria di Bright e colleghi è stata però sviluppata utilizzando un modello *in vitro* e mai replicata nell'occhio umano. Tuttavia essa risulta convincente e potrebbe aiutare spiegare alcuni aspetti dello SICS come la mancanza di sintomi gravi e la cinetica della risposta, la quale ha un picco dopo due ore e una successiva riduzione graduale nel tempo. Ciononostante alcune osservazioni non trovano spiegazione: se la fluoresceina si lega ai complessi formati da PHMB legato alle cellule epiteliali, ci si aspetterebbe di osservare uno *staining* equamente diffuso ed equamente distribuito su tutta la cornea. Viene invece spesso osservato un pattern anulare con *staining* minimo centralmente e molto più marcato in periferia (35, 42-43). La teoria PATH, inoltre, "funziona" solo quando si instilla fluoresceina. Eppure, quando viene indotto SICS, si possono osservare i cambiamenti a livello corneale anche utilizzando la luce bianca, quindi senza instillazione di

fluoresceina sodica (32). Inoltre attraverso l'utilizzo della microscopia confocale (quindi sempre in assenza di fluoresceina) si possono identificare le cellule iperflettenti associate allo SICS (49-53). Queste cellule, che appaiono iperflettenti danno indicazione della loro imminente morte (53). Queste due osservazioni minano l'argomentazione dell'ipotesi PATH, attestando come invece, in presenza di SICS ci siano comunque cambiamenti e conseguenze sulla superficie dell'epitelio corneale. Per di più, si è osservato che la fluoresceina instillata è contenuta nel citoplasma della cellula confermando la presenza di cambiamenti fisiologici al suo interno (54). In aggiunta, cellule colorate con fluoresceina, prelevate da una cornea con SICS, esaminate in microscopia confocale, hanno rivelato presenza di fluoresceina in tutta la cellula (anche all'interno del nucleo) e non solo lungo le membrane esterne della membrana cellulare e nel citoplasma (55).

Le osservazioni cliniche precedentemente descritte, insieme a studi successivi, hanno portato la comunità scientifica a riconsiderare ciò che può effettivamente rappresentare lo *staining* con fluoresceina (53, 33). Sembra infatti che le cellule, ancora vive, siano in grado di assorbire attivamente fluoresceina producendo *staining* (33). In un occhio sano, il meccanismo di ricambio cellulare è un processo organizzato in cui le cellule morte o danneggiate vengono rimosse senza che si generi una risposta infiammatoria potenzialmente dannosa, questo meccanismo è noto con il nome di apoptosi. In uno studio di Gorbet, Peterson e colleghi, il tasso di ricambio cellulare in cellule con SICS risulta più rapido del normale, suggerendo che lo *staining* da soluzione non sia un fenomeno benigno come asserito da altri esperti (29).

Molti ricercatori hanno ipotizzato che la fluoresceina colora solamente cellule danneggiate o in stato apoptotico. In questo caso però dovrebbero risultare marcate anche le cellule in cui le caspasi sono attivate (rappresentando un elemento caratteristico dell'apoptosi), situazione che però non si verifica, supportando così le evidenze che propongono un ipotetico meccanismo metabolico attivo nell'assorbimento di fluoresceina in cellule non danneggiate

(40, 52, 54, 56-57).

Una svolta, non tanto nella comprensione dei meccanismi di staining, ma piuttosto nella comprensione della valenza clinica dello SICS è stata fornita dal lavoro di Zhang e colleghi che, mediante la microscopia confocale, hanno indagato sull'iperiflettività delle cellule superficiali dell'epitelio corneale.

Nello studio (6) Zhang e colleghi, dimostrano come le cellule iperiflettenti dell'epitelio superficiale siano associate sia all'esposizione a soluzioni conservate con PHMB che alla presenza di SICS; non riuscendo a valutare separatamente le due variabili ipotizzano che SICS e iperiflettività siano tra loro legati.

Attraverso l'utilizzo della microscopia elettronica a scansione e della microscopia confocale identificano diverse sfumature di cellule superficiali. Le cellule più scure presentano una superficie più "spoglia", sono cellule che hanno perduto i microvilli. Cellule più chiare sono invece le più giovani presenti nello strato superficiale dell'epitelio corneale, esse presentano infatti una superficie ricca di strutture e di microvilli. Le cellule più scure rappresentano quindi le cellule più mature dell'epitelio, prossime ad incorrere nel processo di desquamazione (58-62).

Wilson, insieme ai colleghi, ha suggerito che le differenze nella riflettività citoplasmatica potrebbero rappresentare stadi di progressione verso la morte cellulare, in cui le cellule meno riflettive (ovvero le più scure) sono le più vicine alla desquamazione (63). Le cellule iperiflettenti sono diverse dalle cellule epiteliali più chiare descritte precedentemente, sono infatti associate a stati pro-infiammatori dei tessuti. L'iperiflettività è stata tuttavia associata anche ad occhio secco e al normale turnover cellulare (64-65). In aggiunta, le cellule superficiali iperiflettenti sono correlate con l'utilizzo di soluzioni e colliri conservati con il cloruro di benzalconio (66-68). Quindi, nonostante le conoscenze sui meccanismi che causano l'iperiflettività delle cellule superficiali dell'epitelio corneale siano scarse, essa è correlabile con situazioni di infiammazione e tossicità. Schneider (51) ha scoperto inoltre che in un occhio sano di un soggetto normale che non utilizza lenti a contatto sono presenti poche cellule superficiali iperiflettenti che

non hanno subito variazioni durante il periodo di osservazione di 9 mesi. Questa situazione non si verifica invece negli utilizzatori di MPS conservate con PQ-1 e PHMB in cui il numero di cellule iperiflettenti aumenta parallelamente alla presenza di SICS, in tempi ridotti (2 settimane-un mese); i valori più elevati si registrano in presenza di PHMB (32). I risultati appena citati supportano le scoperte precedenti che vedono valori elevati di SICS associati all'utilizzo di MPS contenenti PHMB, prima assorbito nella matrice della lente e poi rilasciato in ambiente oculare. Sempre nello studio di Schneider (51) viene riportata l'assenza di differenza a livello epiteliale tra occhi colorati con fluoresceina e occhi senza marcatore, ciò lascerebbe supporre che la fluoresceina e i suoi residui non siano causa dell'iperiflettività delle cellule.

3.4 MPS, EFFETTI SUI TESSUTI OCULARI

I test a livello cellulare, più sensibili e specifici, permettono di effettuare valutazioni in grado di fornire dati più significativi sulla citotossicità della soluzione. In molti studi *in vitro* sono stati investigati gli effetti delle MPS concentrando l'attenzione sul danneggiamento della membrana cellulare delle cellule dell'epitelio corneale umano prestando meno attenzione ai cambiamenti che subivano invece le funzioni cellulari. I nuovi approcci sperimentali hanno evidenziato come le MPS possano ridurre le abilità di turnover dell'epitelio, compromettere l'omeostasi corneale, indebolire la funzione di barriera dell'epitelio e inibire la comunicazione intercellulare attraverso le giunzioni gap tra i cheratociti corneali (69-73).

Choy e colleghi, nel loro studio (19) sulla citotossicità delle MPS e dei loro effetti sul metabolismo delle cellule dell'epitelio corneale umano, mettono a confronto diverse soluzioni conservate con PQ-1 allo 0.001% e PHMB allo 0.0001% riproducendo esattamente le formulazioni fornite dai produttori. Dallo studio, le soluzioni contenenti PHMB risultano meno citotossiche (19) rispetto a quelle conservate con PQ-1, in accordo con lavori precedenti. (74-75). Gli effetti, dovuti

all'esposizione alle MPS, osservati nello studio di Choy e colleghi (19) consistono principalmente in necrosi in stadio iniziale e avanzato e in poche cellule rimaste in stato apoptotico. Questi risultati si discostano dagli esiti dello studio di Tanti, Jones e Gorbet (7), in cui sono state evidenziate attivazione di caspasi e di meccanismi di apoptosi in maggior misura. In entrambi i lavori vengono tuttavia associati alle soluzioni con PQ-1 effetti avversi di più grave entità rispetto alle MPS conservate con PHMB (19, 7).

Secondo Santodomingo Rubido J. e colleghi (76) le differenze fra gli effetti citotossici trovano origine, in parte, anche nella natura degli altri componenti delle formulazioni; tuttavia il prescrittore e l'utente finale sono costretti a scegliere la soluzione più confortevole e sicura fra quelle presenti sul mercato. Essendo lo scopo di questo elaborato riassumere scientificamente l'impatto dei conservanti sulle soluzioni multifunzione e quindi sull'utente, si è ritenuto opportuno discutere degli effetti prodotti dai conservanti (causa principale) e dalle soluzioni nella loro totalità (ovvero nella formulazione d'acquisto).

Choy e colleghi, nella seconda parte del loro lavoro (19), hanno investigato sulla capacità di guarigione delle cellule dell'epitelio corneale umano successiva all'esposizione prolungata alle soluzioni conservate con PQ-1 e PHMB, diluite. La soluzione contenente PQ-1 ha dimostrato di inibire il metabolismo cellulare anche a concentrazioni molto basse, ovvero diluite al 20%. Alcuni effetti avversi si sono verificati anche con la soluzione conservata con PHMB, qui la ridotta presenza di effetti negativi è probabilmente dovuta ad una parziale diminuzione dell'attività biocida del composto: l'idrossipropilmetilcellulosa (lubrificante) contenuta nella soluzione si lega rapidamente al PHMB abbassando la disponibilità di siti di legame. Questi risultati (19) indicano che l'esposizione delle cellule dell'epitelio corneale umano per periodi di lunga durata (12h, simulazione di porto giornaliero) alle soluzioni diluite, nonostante non porti all'immediata morte cellulare, può interferire con il metabolismo cellulare causando cambiamenti tissutali in tempi più lunghi. Nella terza fase dello studio (19) le cellule dell'epitelio corneale umano sono state ricoltivate per 96 ore dopo essere

state esposte alle soluzioni contenenti i due conservanti, le cellule dell'epitelio corneale umano esposte al PQ-1 presentavano una ridotta proliferazione cellulare rispetto alle cellule dell'epitelio corneale umano esposte al PHMB (comunque non esenti da riduzione di proliferazione cellulare). L'effetto citotossico delle soluzioni si è dimostrato dose-dipendente (19). Le condizioni secondo le quali sono stati svolti i test potrebbero però non riprodurre fedelmente la realtà, infatti, una volta inserita la lente nell'occhio, l'ammiccamento e il film lacrimale contribuiscono a diluire la concentrazione del residuo di soluzione che può causare eventi avversi. L'analisi di lenti in silicone-hydrogel conservate in PQ-1 e PHMB ha indicato che questi composti, una volta a contatto con la superficie della lente vi si legano per poi essere lentamente rilasciati in ambiente oculare durante il porto (24, 77).

Willcox e colleghi hanno scoperto che il PQ-1 assorbito dal lotrafilcon B viene rilasciato più rapidamente rispetto al PHMB (24), permettendone uno smaltimento più rapido attraverso il turnover lacrimale. Ciò potrebbe essere il motivo che sta alla base del maggior numero di segnalazioni di discomfort da parte di portatori che utilizzano MPS con PHMB rispetto ai portatori che utilizzano MPS conservate con PQ-1 (20). Discomfort e interruzione del porto di lenti a contatto sono infatti elementi che hanno contribuito a suscitare l'interesse dei professionisti e dei clinici nell'ambito dell'indagine sugli effetti delle soluzioni multifunzione.

Come già anticipato all'inizio del capitolo la salute corneale è fondamentale per il mantenimento di un'adeguata superficie refrattiva e di una barriera funzionale alla prevenzione di intrusioni chimiche e microbiche all'interno dei tessuti oculari. Queste funzioni vengono compiute dall'epitelio squamoso stratificato corneale, costituito da 4 a 6 strati di cellule, con uno spessore totale di circa 40-50 μm (78). Le cellule degli strati più superficiali dell'epitelio corneale formano giunzioni occludenti formate da complessi proteici con occludine, claudine e proteine periferiche (zonula occludens protein), le quali interagiscono sia con le proteine transmembrana che con il citoscheletro di actina, formando così una barriera ad

elevata resistenza (79-81). La rottura della barriera corneale può causare irritazione oculare e divenire un fattore di rischio per le infezioni microbiche (82-85).

Gli studi *in vitro* che utilizzano cellule dell'epitelio corneale umano sono strumenti rapidi e sensibili che permettono di misurare direttamente gli effetti delle soluzioni multifunzione e valutarne efficacemente la biocompatibilità. Misurazioni della vitalità cellulare, degli effetti sull'attività metabolica e dell'integrità di membrana danno un'indicazione della complessiva salute cellulare.

Dallo studio di Cavet e colleghi (86) emerge che le MPS presenti sul mercato hanno diversi effetti sulla vitalità cellulare e sulle funzionalità della barriera epiteliale. Questo dato dovrebbe interessare tutti i professionisti della visione, applicatori *in primis*, perché possano fornire al cliente il prodotto non basandosi semplicemente sull'efficacia o sulla praticità di utilizzo, ma anche sulla sua sicurezza e biocompatibilità. A questo scopo anche Cavet e colleghi, riproducendo *in vitro* condizioni di ambiente oculare esposto a MPS, hanno indagato sugli effetti delle soluzioni multifunzione a livello epiteliale. È risultato che le soluzioni contenenti PHMB (diluite al 50%) non producono effetti sulla vitalità cellulare dopo due ore (tempo corrispondente alla massima presenza di *staining* corneale, comunemente preso come riferimento dalla comunità scientifica). Al contrario, con tutte le altre MPS testate (conservate con PQ-1 e diluite al 50%), si è registrato un calo di vitalità cellulare (86). Diminuzioni di vitalità cellulare con le stesse soluzioni conservate con PQ-1 sono state documentate precedentemente in numerosi studi (21-22, 70-71, 73, 87). Per valutare l'eventuale presenza di una situazione apoptotica dovuta alle MPS, Cavet e colleghi, hanno analizzato l'attività delle caspasi. Successivamente all'esposizione delle cellule dell'epitelio corneale umano alle MPS conservate con PQ-1, l'attività delle caspasi subisce un incremento significativo. La diminuzione di vitalità cellulare è perciò dovuta almeno in parte all'incremento di apoptosi cellulare causato dall'esposizione alle MPS-PQ-1 (86). Riassumendo, nello studio di Cavet è quindi stato attestato il

rilascio di proteasi (nello specifico caspasi) correlato alla perdita di integrità di membrana e quindi alla ridotta vitalità cellulare, dopo l'esposizione a MPS-PQ-1. Riguardo all'integrità strutturale dei complessi di giunzioni occludenti vengono registrati effetti diversi (86): la soluzione contenente PMHB (0,00013%) e PQ-1 (0,0001%) non produce alterazioni nella funzionalità della barriera epiteliale, l'altra soluzione conservata unicamente con PMHB (0,0001%) ha lievi effetti sulla funzionalità di barriera ma non provoca cambiamenti nella distribuzione delle giunzioni occludenti. Le tre MPS conservate con PQ-1 (0,001%) risultano causa di alterazione della barriera epiteliale con associati cambiamenti nella distribuzione delle giunzioni occludenti, dati che ricalcano i risultati di studi precedenti evidenziando la natura non propriamente innocua delle soluzioni multifunzione (70, 85, 87-89).

CAP 4. GESTIONE E PREVENZIONE OPTOMETRICA

4.1 MPS, UTILIZZO CONSAPEVOLE E GESTIONE

Conoscendo le caratteristiche dei biocidi utilizzati per conservare la maggior parte delle soluzioni MPS, i loro meccanismi d'azione contro i microrganismi nocivi e i loro effetti sui tessuti oculari si comprende facilmente come questi dispositivi medici debbano essere trattati con consapevolezza e professionalità.

La soluzione multifunzione è un prodotto facilmente reperibile da un portatore di lenti a contatto; questi dispositivi sono solitamente disponibili presso centri ottici e farmacie ma negli ultimi anni un'ampia porzione di mercato è stata assorbita da rivenditori che vendono tramite e-commerce. Ciò significa che il portatore di lenti a contatto può trovarsi ad acquistare un prodotto con potenziali conseguenze sulla salute oculare e sul comfort durante il porto, senza ricevere le informazioni necessarie a garantirne un utilizzo sicuro e corretto (oltre alle istruzioni presenti nella confezione). Una situazione analoga sussiste anche nel caso in cui l'applicatore o il farmacista non siano adeguatamente formati sul prodotto o non informino il cliente o non abbiano le dovute accortezze procedurali nella scelta del sistema di manutenzione adeguato. Un approfondito colloquio con il prescrittore permetterebbe invece di indagare sul sistema più adatto alle esigenze del portatore, facendo fronte alle esigenze pratiche (versatilità nell'utilizzo) e prevenendo gli eventuali effetti collaterali descritti nel precedente capitolo.

Come è già stato detto, le soluzioni multifunzione (conservate per la maggiore con PHMB e/o PQ-1) rappresentano il sistema di manutenzione e disinfezione più pratico e quindi più popolare fra gli utenti; proprio il grado di popolarità raggiunto e il numero sempre maggiore di persone che sceglie questo tipo di dispositivo dovrebbero allarmare i professionisti che operano in questo ambito poiché la ripercussione di eventi avversi si può avere su di un numero molto più elevato di utenti. La mancanza di controllo sulle vendite e l'utilizzo inconsapevole delle soluzioni incrementano i rischi nei quali può incorrere il portatore. Su questo

fronte devono agire i professionisti della visione. È innanzitutto compito e dovere del professionista conoscere i prodotti che vengono da lui forniti alla clientela; in secondo luogo l'applicatore deve essere in grado di indagare adeguatamente sulle conseguenze che possono esserci durante l'utilizzo di MPS, cogestendo il soggetto con un oftalmologo; è opportuno inoltre che, al momento della scelta del tipo di sistema più adatto, il professionista provveda a ricavare il tempo necessario per comprendere le esigenze dell'utente, fornire tutte le informazioni necessarie sul funzionamento del prodotto e sul prodotto stesso.

Nella scelta della soluzione è fondamentale che l'applicatore fornisca la combinazione lente/soluzione più favorevole evitando gli accoppiamenti che, secondo le evidenze scientifiche, sono associati con valori più elevati di SICS e di discomfort. Inoltre è importante che lo specialista valuti lo stato oculare tra le due e le quattro ore dopo l'inserimento della lente conservata con MPS per poter valutare gli effetti della soluzione nel momento di massima visibilità (26).

4.2 RUB E RISCIAQUO CONTRO LO SICS

In passato, alcuni ricercatori consigliavano di sciacquare le lenti, appena prima dell'inserimento, con soluzione salina (16, 23) per diminuire l'estensione di SICS sulla cornea del portatore. Ricerche successive (40, 90) hanno attestato come il singolo risciacquo con salina risulti invece inefficace nella riduzione dell'estensione di SICS, inefficacia evidenziata anche nello studio di Woods and Jones (32) in cui viene confermata l'assenza di differenze nelle cornee di soggetti ai quali sono state applicate rispettivamente una lente trattata con MPS-PHMB e un'altra lente identica, conservata con la stessa MPS ma risciacquata con soluzione salina prima dell'inserimento.

È risultato, al contrario, significativamente efficace il metodo proposto da Peterson e colleghi (91) per ridurre l'estensione di SICS (sempre associato all'utilizzo di una MPS-PHMB): l'aggiunta di uno step (precedente all'immersione della lente in soluzione), di risciacquo con la stessa MPS

accompagnato dallo sfregamento meccanico della lente fra il pollice e l'indice della mano (lo sfregamento è noto nella clinica con il termine inglese "rub"). I risultati di questo studio attestano la presenza clinicamente rilevante di SICS (>1200 GSS, Global *staining* score 1-10000 (91-92) nell'80% dei soggetti con lenti non trattate con risciacquo e sfregamento, contro una percentuale inferiore al 15% nei soggetti con lenti trattate con risciacquo e con uno sfregamento di durata almeno superiore ai 20 secondi (91) (Figura 3).

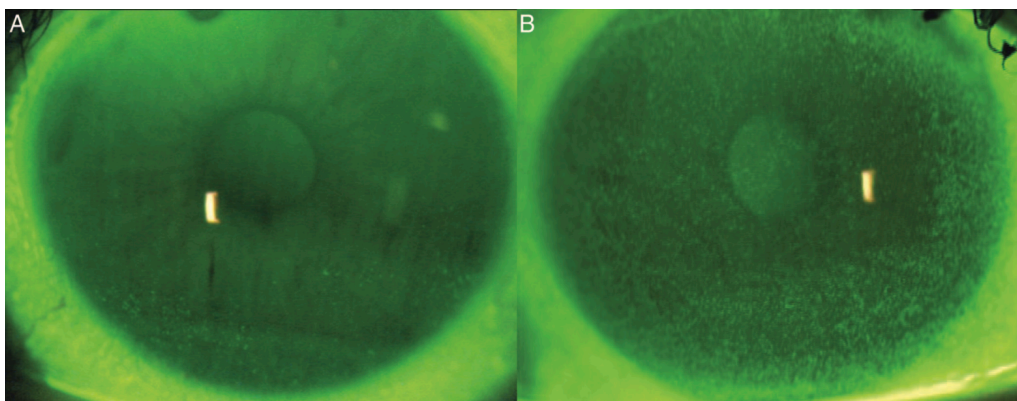


Figura 3. Differenza di estensione di SICS negli occhi di un soggetto esaminato da Peterson e colleghi in lampada a fessura. Nell'immagine A è stata applicata una lente trattata con risciacquo con MPS-PHMB e *rub* e immersa nella medesima soluzione; L'immagine B rappresenta l'occhio controlaterale nel quale è stata applicata una lente conservata nella stessa soluzione senza un precedente step di risciacquo e *rub* (91).

Non essendo ancora chiaro il meccanismo per cui si verifica lo *staining* corneale (in generale e in particolare lo SICS) (32), Peterson e colleghi (91) hanno avanzato un'ipotesi per spiegare il meccanismo con cui lo SICS viene ridotto aggiungendo uno step "meccanico" alla pulizia delle lenti. Secondo questa ipotesi il meccanismo che provoca SICS ha inizio con il contatto fra la superficie della lente e l'ambiente oculare. Il rilascio e l'assorbimento di conservante da parte della lente è regolato da forze ioniche e idrodinamiche (93); secondo Peterson e colleghi, l'alterazione di queste forze e della natura ionica della superficie del materiale della lente (nello studio balafilcon-A) ad opera dello sfregamento manuale, comporterebbe un cambiamento nelle dinamiche di assorbimento e

rilascio del conservante con una conseguente riduzione dello SICS (91). Indipendentemente dai risultati ottenuti da Peterson e colleghi, inserire uno step ulteriore di *rub* e risciacquo nella quotidiana pulizia delle lenti (anche quando non previsto dalle istruzioni presenti nella confezione della MPS) aiuta a ridurre la presenza di depositi (1, 94) sulla superficie della lente e quindi le possibilità di adesione batterica (1, 95).

4.3 SOLUZIONE ALTERNATIVA, I PEROSSIDI

Qualora si continuasse a riscontrare presenza di eventi avversi, SICS (il *rub* è stato testato per un'unica combinazione lente/soluzione (91)) o il portatore dovesse lamentare discomfort (avendone identificato come causa la MPS) è necessario valutare un diverso sistema di manutenzione. I sistemi che creano meno problemi in questo frangente sono quelli privi di conservanti, le soluzioni al perossido, fortemente consigliati nella contattologia pediatrica, specialmente dei neonati e nei soggetti allergici o sensibili ai conservanti (96-97). I sistemi al perossido consistono in soluzioni disinfettanti con una concentrazione di perossido di idrogeno (H₂O₂) al 3% (30 000 ppm) (5). L'efficacia e la sicurezza di queste soluzioni sono determinate dal processo con cui viene neutralizzato il perossido (convertito in acqua e ossigeno), tossico per i tessuti oculari in concentrazioni superiori alle 300 ppm (5). Gli unici svantaggi rappresentati da questi sistemi di disinfezione sono appunto la ridotta praticità, il costo lievemente superiore alle MPS e il rischio costituito da errori nella neutralizzazione del perossido (5).

4.4 SERVIZIO EFFICACE, UNA RESPONSABILITÀ COMUNE

Il portatore, da parte sua, è tenuto a seguire rigorosamente le indicazioni del professionista e le istruzioni fornite con il prodotto, per evitare l'insorgenza di problemi causati da scarsa *compliance*; molto importante è anche la pulizia del contenitore per le lenti a contatto, una pulizia inadeguata può portare tra l'altro a

cambi di osmolarità nella soluzione che, una volta rilasciata nell'occhio durante il porto, può essere causa di alterazioni dell'integrità della superficie oculare (98).

Per garantire risultati sempre migliori è necessario che i produttori di soluzioni continuino ad investire nella ricerca e nello sviluppo di nuove soluzioni, mirando ad ottenere la massima efficacia nell'azione contro i microrganismi mediante preparazioni con concentrazioni di conservante sempre più ridotte. A questo scopo risultano utili nuovi studi sugli effetti dei singoli elementi contenuti nelle soluzioni multifunzione e ulteriori indagini sulle *performances* MPS/materiale per la costruzione di lenti a contatto (26, 96, 99).

Rispettando le norme di buona pratica, prestando attenzione ai dispositivi medici e alle loro conseguenze, il professionista della visione sarà in grado di fornire un servizio sicuro e funzionale. Un'esperienza confortevole di porto in cui non viene compromessa la salute oculare genera un portatore soddisfatto e quindi un duplice beneficio, per il cliente e per il professionista.

CAP 5. CONCLUSIONI

Nonostante le soluzioni multifunzione in commercio siano dispositivi medici certificati e sicuri sono comunque oggetto di interesse clinico dacché possono dar luogo ad effetti indesiderati ed eventi avversi per salute oculare. Ciò avviene a causa della natura di alcune sostanze presenti nelle formulazioni delle soluzioni, prime fra tutte i conservanti che, nella loro azione di contrasto ai microrganismi patogeni, possono risultare tossici per i tessuti oculari. Per ridurre gli effetti citotossici delle moderne MPS i produttori hanno selezionato due nuovi biocidi, PQ-1 e PHMB; anche questi due composti, seppur in minor misura, possono compromettere la normale fisiologia della superficie oculare creando predisposizione ad eventi infiammatori.

Tra i fenomeni più frequentemente riscontrati nella clinica vi è lo SICS, manifestazione di sofferenza corneale associata ad una più alta frequenza nella comparsa di eventi infiltrativi, alla presenza di cellule epiteliali iperiflettenti (prossime alla morte) e ad un più rapido ricambio cellulare. Lo SICS, è valutato in lampada a fessura tramite l'instillazione di fluoresceina sodica (oltre che in luce bianca). L'utilizzo di questo marcatore ha sollevato dubbi nella comunità scientifica poiché non è ancora chiaro se il processo di fluorescenza venga alterato da possibili interazioni del colorante con le molecole dei conservanti presenti nelle MPS o se sia presente un processo metabolico attivo che consente alle cellule di assorbire il marcatore. La risposta corneale più evidente si ha infatti con il PHMB che paradossalmente risulta essere meno dannoso del PQ-1 a livello cellulare. Tuttavia l'eziologia dello SICS sembra trovarne la causa nel rilascio di conservante nell'ambiente oculare da parte delle lenti (precedentemente immerse in MPS). La sua estensione è massima dopo le due ore di porto e varia a seconda della combinazione di lente e MPS utilizzata. A livello cellulare gli effetti negativi correlati all'esposizione alle MPS sono molteplici: il contatto con i conservanti provoca infatti sia cambiamenti strutturali a livello della barriera epiteliale che svariate alterazioni della funzionalità cellulare come riduzioni nella vitalità

cellulare, attivazione di caspasi, aumento di necrosi cellulare e riduzioni nella proliferazione cellulare. Questi eventi avversi (tutti dose-dipendenti), se non vengono ridotti in tempo, possono essere causa di più gravi cambiamenti tessutali. Tutti gli effetti possono dare origine a situazioni di discomfort ma paradossalmente, come accade nella manifestazione di SICS, i livelli di discomfort più elevati si registrano con MPS-PHMB nonostante risultino essere meno dannose delle MPS-PQ-1; nel tentativo di spiegare questo paradosso si è ipotizzato che l'origine dell'incongruenza risieda nella diversa velocità di rilascio dei conservanti da parte della lente: il PQ-1 liberato più velocemente verrebbe smaltito in maniera più rapida riducendone la permanenza in ambiente oculare.

Le MPS sono uno strumento pratico e valido nella pulizia e manutenzione delle lenti a contatto, tuttavia non possono essere considerate innocue per i tessuti oculari. È opportuno che la vendita di questi prodotti sia affiancata ad un servizio professionale che preveda necessariamente valutazioni focalizzate sulla scelta del prodotto più benefico per la salute oculare del portatore. Queste valutazioni dovrebbero consistere in costanti verifiche in lampada a fessura dopo le due ore di porto. Nella scelta della combinazione lente/soluzione è opportuno che il professionista individui la coppia che produce la minor estensione di SICS, facendo riferimento alle ricerche presenti in letteratura. Se non vengono raggiunti risultati sufficienti con le MPS è utile anteporre la sicurezza alla praticità proponendo, quando possibile, soluzioni prive di conservanti come quelle al perossido. In ultima analisi, sono richiesti ulteriori studi sui singoli componenti delle MPS per una più completa comprensione delle interazioni fra le diverse sostanze e la superficie oculare.

BIBLIOGRAFIA

1. Ruth A. Rosenthal, Scott V. W. Sutton, Barry A. Schlech, Review of Standard for Evaluating the Effectiveness of Contact Lens Disinfectants, *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, Vol. 56, No. 1, January/February 2002;
2. Lyndon Jones PhD FCOptom DipCLP DipOrth FAAO (DipCL) FIACLE and Michelle Senchyna PhD, Soft Contact Lens Solutions Review Part 1: Components of Modern Care Regimens, *Optometry in Practice* Vol 8 (2007) 45–56;
3. REGOLAMENTO (UE) 2017/745 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 5 aprile 2017 relativo ai dispositivi medici, che modifica la direttiva 2001/83/CE, il regolamento (CE) n. 178/2002 e il regolamento (CE) n. 1223/2009 e che abroga le direttive 90/385/CEE e 93/42/CEE del Consiglio;
4. Marina Zaki, Jesús Pardo, Gonzalo Carracedo, A review of international medical device regulations: Contact lenses and lens care solutions, *Contact Lens and Anterior Eye* 42 (2019) 136–146;
5. Lyndon Jones PhD FCOptom DipCLP DipOrth FAAO (DipCL) FIACLE and Caroline Christie BSc FCOptom DipCLP, Soft Contact Lens Solutions Review: Part 2: Modern-Generation Care System, *Optometry in Practice* Vol 9 (2008) 43–62;
6. X. Zhang, et al., The impact of lens care solutions on corneal epithelial changes during daily silicone hydrogel contact lens wear as measured by in vivo confocal microscopy, *Contact Lens & Anterior Eye* (2016);
7. Tanti NC, Jones L, Gorbet MB. Impact of multipurpose solutions released from contact lenses on corneal cells. *Optom Vis Sci* 2011; 88: 483–492;
8. Morgan, P. B., Woods, C. A., Tranoudis, I. G., et al. (2016). International contact lens prescribing in 2015. *CL Spectrum*, 31(1), 28–33;
9. Fletcher EL and Brennan NA. The effect of solution tonicity on the eye. *Clin Exp Optom*, 1993; 76:1 17–21;
10. Harris MG, Higa CK, Lacey LL and Barnhart LA. The pH of aerosol saline solution. *Optom Vis Sci*, 1990; 67:2 84–88;
11. Kristine Dalton, OD, Lakshman N. Subbaraman, BSOptom, MSc, FAAO, Ronan Rogers, MSc, and Lyndon Jones, PhD, FCOptom, FAAO, Physical Properties of Soft Contact Lens Solutions, Vol. 85, No. 2, PP. 122–128 *OPTOMETRY AND VISION SCIENCE*, Copyright © 2008 American Academy of Optometry;
12. Pandit JC, Nagyova B, Bron AJ, Tiffany JM. Physical properties of stimulated and unstimulated tears. *Exp Eye Res* 1999;68:247–53;
13. Tiffany JM. The viscosity of human tears. *Int Ophthalmol* 1991;15: 371–6;
14. Elementi essenziali nella pratica delle lenti a contatto, cap 11: la manutenzione delle lenti a contatto, The Vision Care Institute™ è un marchio registrato di Johnson & Johnson Medical Holding S.p.A. © Johnson & Johnson Medical Holding S.p.A. 2009;
15. Christopher W. Lievens, Natasha Hakim, OD, and Andrea Chinn, OD, The Effect of Multipurpose Solutions on the Ocular Surface, *Eye & Contact Lens* 32(1): 8–11, 2006;
16. Me lody Dutot, PhD, Elisa Reveneau, MS, Thierry Pauloin, PharmD, PhD, Roxane Fagon, MS, Caroline Tanter, PharmD, Jean-Michel Warnet, PhD, PharmD, and Patrice Rat, PhD, PharmD, Multipurpose Solutions and Contact Lens: Modulation of Cytotoxicity and Apoptosis on the Ocular Surface, *Cornea* Volume 29, Number 5, May 2010;
17. López Bernal D, Ubels JL, Quantitative evaluation of the corneal epithelial barrier: effect of artificial tears and preservatives. *Curr Eye Res.* 1991 Jul; 10(7):645-56;
18. Philip B. Morgan, Soft Lens Care Systems, in *Contact Lens Practice* (Third Edition), 2018;
19. Choy, Cho and Boost, Effects of contact lens solutions on human corneal cells, *Clinical and Experimental Optometry* 95.2 March 2012;
20. Choy BSc(Hons) PhD Pauline Cho BOptom PhD FAAO Maureen V. Boost MSc MPH FIMLS DPhil, Cytotoxicity and effects on metabolism of contact lens care solutions on human corneal epithelium cells, *Clinical and Experimental Optometry* 95.2 March 2012;

21. Wright A, Mowrey-McKee M. Comparative cytotoxicity potential of soft contact lens care products. *Cutan Ocul Toxicol* 2005;24:53–64;
22. Horwath-Winter J, Simon M, Kolli H, Trummer G, Schmut O. Cytotoxicity evaluation of soft contact lens care solutions on human conjunctival fibroblasts. *Ophthalmologica* 2004;218:385–9;
23. Mé lody Dutot, Jean-Michel Warnet, Christophe Baudouin, Patrice Rat, Cytotoxicity of contact lens multipurpose solutions: Role of oxidative stress, mitochondrial activity and P2X7 cell death receptor activation, *European journal of pharmaceutical sciences* 33 (2008) 138–145;
24. Willcox MDP, Phillips B, Ozkan J, Jalbert I, Meagher L, Gengenbach T, Holden B et al. Interactions of lens care with silicone hydrogel lenses and effect on comfort. *Optom Vis Sci* 2010; 87: 839– 846;
25. Garofalo RJ, Dassanayake N, Carey C, Stein J, Stone R, David R. Corneal staining and subjective symptoms with multipurpose solutions as a function of time. *Eye Contact Lens* 2005;31:166Y74;
26. Andrasko G, Ryen K. Corneal staining and comfort observed with traditional and silicone hydrogel lenses and multipurpose solution combinations. *Optometry* 2008;79:444Y54;
27. Andrasko GJ, Ryen KA, Garofalo RJ, Lemp JM. Compatibility of silicone hydrogel lenses with multi-purpose solutions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47: E-abstract 2392;
28. Malet F. An acute clinical comparison of corneal staining and comfort associated with contact lens care solutions. *Cont Lens Anterior Eye* 2014;37:351Y7;
29. Maud Gorbet, Rachael Peterson, David McCanna, Craig Woods, Lyndon Jones and Desmond Fonn, Human Corneal Epithelial Cell Shedding and Fluorescein Staining in Response to Silicone Hydrogel Lenses and Contact Lens Disinfecting Solutions, *Curr Eye Res.* 2014 Mar;
30. Maud Gorbet, Ph.D. and Cameron Postnikoff, Review article, The Impact of Silicone Hydrogel–Solution Combinations on Corneal Epithelial Cells, *B.A.Sc, Eye & Contact Lens* 2013;39: 42–47;
31. Frank V. Bright, PhD, Mohinder M. Merchea, OD, PhD, Nadine D. Kraut, BS, E. Peter Maziarz, PhD, X. Michael Liu, PhD, and Alok K. Awasthi, PhD, A Preservative-and-Fluorescein Interaction Model for Benign Multipurpose Solution–Associated Transient Corneal Hyperfluorescence, *Cornea*, 2012 Dec;
32. Jill Woods and Lyndon W. Jones, Pilot Study to Determine the Effect of Lens and Eye Rinsing on Solution-Induced Corneal Staining (SICS), (2016) 1040-5488/16/9310-1218/0 VOL. 93, NO. 10, PP. 1218Y1227 *OPTOMETRY AND VISION SCIENCE*;
33. Philip B. Morgan, Carole Maldonado-Codina, Review, Corneal staining: Do we really understand what we are seeing?, *Contact Lens & Anterior Eye* 32 (2009) 48–54;
34. Epstein AB. SPK with daily wear of silicone hydrogel lenses and MPS. *Contact Lens Spectrum* 2002;17:30Y;
35. Jones L, MacDougall N, Sorbara LG. Asymptomatic corneal staining associated with the use of balafilcon silicone-hydrogel contact lenses disinfected with a polyaminopropyl biguanide-preserved care regimen. *Optom Vis Sci* 2002;79:753Y61;
36. Lebow KA, Schachet JL. Evaluation of corneal staining and patient preference with use of three multi-purpose solutions and two brands of soft contact lenses. *Eye Contact Lens* 2003;29:213Y20;
37. PritchardN, YoungG, ColemanS, HuntC. Subjective and objective measures of corneal staining related to multipurpose care systems. *Cont Lens Anterior Eye* 2003;26:3Y9;
38. Stiegemeier MJ, Cedrone R, Evans D, Friederichs G, Holle D, Jenkins W, Lutzi D, Roberson R, Schenker H, White E, Zigler L. Clinical performance of ‘no rub’ multi-purpose solutions. *Cont Lens Anterior Eye* 2004;27:65Y74;
39. Carnt N, Evans V, Holden BA, Naduvilath TJ, Tilia D, Papas EB, Willcox MD. IER matrix update: adding another silicone hydrogel. *Contact Lens Spectrum* 2008;23:28Y35;
40. Bakkar MM, Hardaker L, March P, Morgan PB, Maldonado Codina C, Dobson CB. The cellular basis for biocide-induced fluo- rescein hyperfluorescence in mammalian cell culture. *PLoS One* 2014;9:e84427;
41. Amos C. Performance of a new multipurpose solution used with silicone hydrogels. *Optician* 2004;227:18Y22;
42. Jones L. Understanding incompatibilities. *Contact Lens Spectrum* 2004;19:4Y7;
43. Diec J, Evans VE, Tilia D, Naduvilath T, Holden BA, Lazon de la Jara P. Comparison of ocular comfort, vision, and SICS during silicone hydrogel contact lens daily wear. *Eye Contact Lens* 2012; 38:2Y6;

44. Lazon de la Jara P, Papas E, Diec J, Naduvilath T, Willcox MD, Holden BA. Effect of lens care systems on the clinical performance of a contact lens. *Optom Vis Sci* 2013;90:344Y50;
45. Jalbert I, Carnt N, Naduvilath TJ, Papas EB. The relationship between solution toxicity, corneal inflammation and ocular comfort in soft contact lens daily wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47: E-abstract 2412;
46. Carnt N, Jalbert I, Stretton S, Naduvilath T, Papas E. Solution toxicity in soft contact lens daily wear is associated with corneal inflammation. *Optom Vis Sci* 2007;84:309Y15;
47. Carnt N, Jalbert I, Stretton S, Naduvilath T, Papas E. Solution toxicity in soft contact lens daily wear is associated with corneal inflammation. *Optom Vis Sci* 2007;84:309Y15;
48. Bright FV, Merchea MM, Kraut ND, Maziarz EP, Liu XM, Awasthi AK. A preservative-and-fluorescein interaction model for benign multipurpose solution-associated transient corneal hyperfluorescence. *Cornea* 2012;31:1480Y8;
49. Schneider S, Simpson TL, Woods CA, Richter D, Fonn D. Hyper-reflective cells observed by confocal microscopy as an indicator of lens and lens care interactions. *Optom Vis Sci* 2008;85: E-abstract 080028;
50. Schneider S, Woods CA, Fonn D. Hyper-reflective cells observed by confocal microscopy with staining caused by different lens/solution combinations. *Optom Vis Sci* 2009;86: E-abstract 95912;
51. Schneider S. The appearance of hyper-reflective superficial epithelial cells observed using in vivo confocal microscopy. PhD thesis. Waterloo, ON: University of Waterloo; 2010;
52. Bandamwar K, Garrett Q, Papas E. Significance of hyper-reflective corneal epithelial cells during confocal microscopy. *Cont Lens Anterior Eye* 2011;34:S19;
53. Bandamwar K, Garrett Q, Papas E. Sodium fluorescein staining of the corneal epithelium; what does it mean at a cellular level. *Cont Lens Anterior Eye* 2011;34:S19;
54. Mokhtarzadeh M, Casey R, Glasgow BJ. Fluorescein punctate staining traced to superficial corneal epithelial cells by impression cytology and confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52:2127Y35;
55. Situ P, McCanna DJ, Gorbet M. Confocal images of human corneal epithelial cells during and after contact lens wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;52: E-abstract 4698;
56. Efron N. Putting vital stains in context. *Clin Exp Optom* 2013; 96:400Y21;
57. Cira D., Viability profile of ex vivo corneal epithelial cell samples. Master's thesis. Waterloo, ON: University of Waterloo; 2011;
58. W.D. Mathers, et al., Morphologic effects of contact lens wear on the corneal surface, *CLAO J.* 18 (1) (1992) 49–52;
59. F. Hoffmann, The surface of epithelial cells of the cornea under the scanning electron microscope, *Ophthal. Res.* 3 (1972) 207–214;
60. N. Efron, Contact lens-induced changes in the anterior eye as observed in vivo with the confocal microscope, *Prog. Retin Eye Res.* 26 (4) (2007) 398–436;
61. R. Bochert, et al., Contribution to comprehension of image formation in confocal microscopy of cornea with Rostock cornea module, *Br. J. Ophthalmol.* 89 (10) (2005) 1351–1355;
62. A.Eckard,J.Stave,R.F.Guthoff,Invivoinvestigationsofthecornealepithelium with the confocal Rostock Laser Scanning Microscope (RLSM), *Cornea* 25 (2) (2006) 127–131;
63. G. Wilson, P.M. Ladage, H.D. Cavanagh, The epithelium in extended wear, in silicone hydrogels: continuous wear contact lens, in: D.F. Sweeney (Ed.), Butterworth-Heinemann, 2004, pp. 28–54;
64. J.M. Benitez del Castillo, et al., An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients with dry eye, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 45 (9) (2004) 3030–3035;
65. H.E. Kaufman, B.A. Barron, M.B. McDonald, *The Cornea*, 2nd ed., Butterworth-Heinemann, Newton, 1997;
66. H. Ichijima, et al., Confocal microscopic studies of living rabbit cornea treated with benzalkonium chloride, *Cornea* 11 (3) (1992) 221–225;
67. A. Labbe, et al., Comparison of toxicological profiles of benzalkonium chloride and polyquaternium-1: an experimental study, *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 22 (4) (2006) 267–278;
68. G. Martone, et al., An in vivo confocal microscopy analysis of effects of topical antiglaucoma therapy with preservative on corneal innervation and morphology, *Am. J. Ophthalmol.* 147 (4) (2009);

69. McCanna DJ, Harrington KL, Driot JY, Ward KW, Tchao R. Use of a human corneal epithelial cell line for screening the safety of contact lens care solutions in vitro. *Eye Contact Lens* 2008; 34: 6–12;
70. Chuang EY, Li DQ, Bian F, Zheng X, Pflugfelder SC. Effects of contact lens multipurpose solutions on human corneal epithelial survival and barrier function. *Eye Contact Lens* 2008; 34: 281–286;
71. Cavet M, Harrington KL, VanDerMeid KR, Ward KW, Zhang JZ. Comparison of the effect of multipurpose contact lens solutions on the viability of cultured corneal epithelial cells. *Cont Lens Anterior Eye* 2009; 32: 171–175;
72. Lim MJ, Hurst RK, Konynenbelt BJ, Ubels JL. Cytotoxicity testing of multipurpose contact lens solutions using monolayer and stratified cultures of human corneal epithelial cells. *Eye Contact Lens* 2009; 35: 287–296;
73. Dutot M, Reveneau E, Pauloin T, Fragon R, Tanter C, Warnet JM, Rat P. Multipurpose solutions and contact lens: modulation of cytotoxicity and apoptosis on the ocular surface. *Cornea* 2010; 29: 541–549;
74. Tchao R, McCanna DJ, Miller MJ. Comparison of contact lens multipurpose solutions by in vitro sodium fluorescein permeability assay. *CLAO J* 2002; 28: 151–156;
75. Oriowo MO. A fluorometric study of relative ocular lens cytosensitivity to multipurpose contact lens solutions using the resazurin assay method. *Toxicol in Vitro* 2006; 20: 1548–1554;
76. Santodomingo-Rubido J, Mori O, Kawaminami S. Cytotoxicity and antimicrobial activity of six multipurpose soft contact lens disinfecting solutions. *Ophthalmic Physiol Opt* 2006; 26: 476–482;
77. Sorbara L, Peterson R, Woods C, Fonn D. Multi-purpose disinfecting solutions and their interactions with a silicone hydrogel lens. *Eye Contact Lens* 2009; 2: 92–97;
78. Bucci, *Oftalmologia*, 1993;
79. Hartsock A, Nelson WJ. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta* 2008;1778:660–9;
80. Ban Y, Cooper LJ, Fullwood NJ, Nakamura T, Tsuzuki M, Koizumi N, et al. Comparison of ultrastructure, tight junction-related protein expression and barrier function of human corneal epithelial cells cultivated on amniotic membrane with and without air-lifting. *Exp Eye Res* 2003;76:735–43;
81. Sugrue SP, Zieske JD. ZO1 in corneal epithelium: association to the zonula occludens and adherens junctions. *Exp Eye Res* 1997;64:11–20;
82. Pflugfelder SC, Farley W, Luo L, Chen LZ, de Paiva CS, Olmos LC, et al. Matrix metalloproteinase-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. *Am J Pathol* 2005;166:61–71;
83. Yokoi N, Kinoshita S. Clinical evaluation of corneal epithelial barrier function with the slit-lamp fluorophotometer. *Cornea* 1995;14:485–9;
84. Fleiszig SM, Evans DJ, Do N, Vallas V, Shin S, Mostov KE. Epithelial cell polarity affects susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* invasion and cytotoxicity. *Infect Immun* 1997;65:2861–7;
85. Imayasu M, Shimizu H, Shimada S, Suzuki T, Cavanagh HD. Effects of multipurpose contact-lens care solutions on adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* to corneal epithelial cells. *Eye Contact Lens* 2009;35:98–104;
86. Cavet, Harrington, Van Der Meid, Ward, Zhang, In vitro biocompatibility assessment of multipurpose contact lens solutions: Effects on human corneal epithelial viability and barrier function, *Contact Lens & Anterior Eye* 35 (2012) 163–170;
87. McCanna DJ, Harrington KL, Driot JY, Ward KW, Tchao R. Use of a human corneal epithelial cell line for screening the safety of contact lens care solutions in vitro. *Eye Contact Lens* 2008;34:6–12;
88. Cavet ME, VanDerMeid KR, Harrington KL, Tchao R, Ward KW, Zhang JZ. Effect of a novel multipurpose contact lens solution on human corneal epithelial barrier function. *Contact Lens Anterior Eye* 2010;33(Suppl 1):S18–23;
89. Imayasu M, Shiraishi A, Ohashi Y, Shimada S, Cavanagh HD. Effects of multipurpose solutions on corneal epithelial tight junctions. *Eye Contact Lens* 2008;34:50–5;

90. Bandamwar KL, Garrett Q, Papas EB Mechanisms of superficial micropunctate corneal staining with sodium fluorescein: the contribution of pooling. *Contact lens & anterior eye* (2012): the journal of the British Contact Lens Association 35: 81–84;
91. Rachael C. Peterson, Desmond Fonn, Craig A. Woods, and Lyndon Jones, Impact of a Rub and Rinse on Solution-Induced Corneal Staining 1040-5488/10/8712-1030/0 VOL. 87, NO. 12, PP. 1030–1036 OPTOMETRY AND VISION SCIENCE, Copyright © 2010 American Academy of Optometry;
92. Woods J, Woods CA, Varikooty J, Jones LW, Simpson TL, Fonn D. A novel method of recording corneal staining that facilitates parametric analysis. *Optom Vis Sci* 2006;83:E-abstract 065153;
93. Powell CH, Lally JM, Hoong LD, Huth SW. Lipophilic versus hydrodynamic modes of uptake and release by contact lenses of active entities used in multipurpose solutions. *Cont Lens Anterior Eye* 2010;33:9–18;
94. Pauline Cho, Suk Yi Cheng, Wai Yip Chan and Wing Kin Yip, Soft contact lens cleaning: rub or no-rub?, *Ophthal. Physiol. Opt.* 2009 29: 49–57;
95. Victoria Butcko, O.D., F.A.A.O., Timothy T. McMahon, O.D., F.A.A.O., Charlotte E. Joslin, O.D., F.A.A.O., and Lyndon Jones, Ph.D., F.C.Optom., F.A.A.O., Microbial Keratitis and the Role of Rub and Rinsing, *Eye & Contact Lens* 33(6): 421–423, 2007 © 2007 Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc;
96. EMEA PUBLIC STATEMENT ON ANTIMICROBIAL PRESERVATIVES IN OPHTHALMIC PREPARATIONS FOR HUMAN USE, London, 8 December 2009 Doc. Ref.: EMEA/622721/2009;
97. Michel Guillon, Cécile Maissa, Stéphanie Wong, Trisha Patel, Renée Garofalo, The influence of lens care systems on eyelid tissue changes during silicone hydrogel contact lens wear , *Contact Lens and Anterior Eye* (2018);
98. José Pinto-Fraga, Antonio Abengózar-Vela, Alberto López-Miguel, Vicente Martín Montañéz, Alberto López de la Rosa, María J. González-García, Effect of the osmolarity change in multipurpose solutions induced by an improper contact lens case cleaning procedure, *Contact Lens and Anterior Eye* 39 (2016) 177–184;
99. Ling C. Huang, O.D., Ph.D., Mercedes Salvador-Silva, Ph.D., and Ronika S. Leang, Ph.D. Correlations of In Vitro Assays for Assessing Cytotoxicity and Biocompatibility of Contact Lens Multipurpose Solutions, *Eye & Contact Lens* Volume 0, Number 0, Month 2016;