

Efficacy of commercial soft contact lens disinfectant solutions against *Acanthamoeba*

Takeshi Kobayashi · Lindsay Gibbon ·
Tsuayoshi Mito · Atsushi Shiraishi · Toshihiko Uno ·
Yuichi Ohashi

Received: 29 August 2010 / Accepted: 19 April 2011 / Published online: 12 July 2011
© Japanese Ophthalmological Society 2011

Abstract

Purpose To investigate the relative efficacy of Japanese commercial soft contact lens disinfectant solutions against *Acanthamoeba* trophozoites and cysts.

Materials and methods Eight types of multipurpose solution (MPS), two types of hydrogen peroxide solution, and one povidone–iodine solution were evaluated to determine their effect against *Acanthamoeba* trophozoites and cysts (ATCC 50514). *Acanthamoeba* cysts were cultured in encystment medium for either 1 or 2 weeks (1 and 2-week-old cysts). The trophozoites and cysts were treated with each disinfectant solution for 0, 2, 4, 8, or 24 h. After performing four tenfold serial dilutions of each test solution, dilutions were cultured for 10 days. The number of surviving organisms was calculated using the trimmed Spearman–Karber method.

Results Among the MPS tested, only four were effective against trophozoites after treatment for 4 h, and none was effective against 2-week-old cysts. Hydrogen peroxide had

a significant effect on trophozoites and 1-week-old cysts, but not on 2-week-old cysts. In contrast, povidone–iodine caused a 2.6 log reduction in 2-week-old cysts.

Conclusions MPS were found to have limited efficacy against trophozoites and no efficacy against 2-week-old cysts. Only povidone–iodine had any efficacy against 2-week-old cysts.

Keywords *Acanthamoeba* · Soft contact lenses (SCL) · Disinfectant solution · Multipurpose solution (MPS) · Mature cysts

Introduction

Acanthamoeba, a genus of free-living protozoa, is known to cause a painful and potentially blinding form of keratitis on invading the cornea. *Acanthamoeba* keratitis (AK) occurs most commonly in contact lens wearers, with studies estimating that 90% of AK patients are soft contact lens (SCL) users [1]. Approximately 1 in 30,000 SCL users develops AK [2], and the incidence of the condition has increased dramatically in recent years [3]. A national survey performed jointly by the Japanese Contact Lens and Ocular Infection Societies revealed that, with *Pseudomonas aeruginosa*, *Acanthamoeba* is now the leading cause of serious cases of contact lens-related keratitis in Japan [4]. The recent increase in incidence of AK has been attributed to several factors, including the rising number of frequent replacement SCL wearers and widespread noncompliance with rubbing and rinsing regimens [5–8]. In addition to these factors, the use of ineffective SCL disinfectant solutions is also suspected to be closely linked with the recent increase in cases of AK. The United States Center for Disease Control and Prevention reports that in a 2006

T. Kobayashi · A. Shiraishi (✉)
Department of Ophthalmology and Regenerative Medicine,
Ehime University Graduate School of Medicine, Shitsukawa,
Toon, Ehime 791-0295, Japan
e-mail: shiraia@m.ehime-u.ac.jp

L. Gibbon · T. Mito · T. Uno · Y. Ohashi
Department of Ophthalmology, Ehime University Graduate
School of Medicine, Toon, Japan

A. Shiraishi
Department of Cell Growth and Tumor Regulation,
Ehime University Graduate School of Medicine, Toon, Japan

Y. Ohashi
Department of Infectious Diseases, Ehime University Graduate
School of Medicine, Shitsukawa, Toon, Ehime 791-0295, Japan

outbreak of AK in Illinois, 21 out of the 39 reported cases of AK were associated with the use of one brand of disinfectant solution, resulting in a voluntary global recall of the product [9].

Several types of SCL disinfectant solution are currently commercially available, including povidone–iodine and hydrogen peroxide-based solutions, and multipurpose solutions (MPS). To facilitate lens cleaning, rinsing, disinfection, and storage, these disinfectant solutions are formulated with a variety of different surfactants, buffers, stabilizing agents, and isotonicizing agents. Some of these inactive ingredients attenuate or potentiate the activity of the disinfectant, and, therefore, the specific formulation of each product has been found to significantly affect its efficacy as a disinfectant [10–12].

Although numerous studies have been performed to evaluate the effects of different SCL disinfectant solutions on *Acanthamoeba* [10–17], differences in methodology have made it difficult to compare the results of these studies and reach conclusions regarding the relative efficacy of the products. This situation is partially because there is no standardized method for evaluating the efficacy of lens care products against *Acanthamoeba*. Although the International Organization for Standardization (ISO) has adopted the Stand Alone Test (ISO 14729), a standard method for testing the disinfectant efficacy of lens-care products during development, the method does not include a specific protocol for *Acanthamoeba*. This is particularly important because of the unique characteristics of *Acanthamoeba*. The organism can assume two different forms during its life cycle: the motile, metabolically active trophozoite, and the dormant cyst, which forms as a protective response to environmental stress. Cysts are known to be more resistant to disinfectants than trophozoites [10, 14] and the maturity of the cyst may also have an effect on its sensitivity to disinfectant solutions. Because the effect of disinfectants on *Acanthamoeba* is strongly affected by the developmental stage of the organism, it seems likely that differences in the stage of organisms used in previous investigations may have led to discrepancies in their results [10, 11, 14].

In Japan, several varieties of SCL disinfectant solutions are commercially available. A comprehensive and objective investigation of the efficacy of these products against *Acanthamoeba* trophozoites or cysts has not yet been performed, however. In this study, we investigated the relative disinfectant efficacy of eight types of MPS, two types of hydrogen peroxide solutions, and one povidone–iodine solution currently on the market using *Acanthamoeba* trophozoites and cysts of different maturity (1 and 2-week-old cysts). The log reduction method used in this study is simple, yields quantitative results, and has been used for evaluation of the disinfectant efficacy of contact lens solutions in other previously reported research [11, 12]. In

addition, the strain of *A. castellanii* (ATCC 50514) used in this study is an established pathogenic strain which has been used in several previous studies [11, 18, 19]. Using this common strain of *Acanthamoeba* and the log reduction method, we were able to perform a quantitative investigation of the efficacy of SCL disinfectant solutions.

Materials and methods

Commercial soft contact lens disinfectant solutions

The commercial SCL disinfectant solutions examined in our investigation are shown in Table 1. Of the eight MPS tested, six (MPS 1, 2, 3, 4, 7, and 8) use 1.0 ppm polyhexamethylene biguanide (PHMB) as the disinfectant. MPS 6 contains 1.1 ppm PHMB and MPS 5 contains 11 ppm polydronium chloride (Polyquad). Hydrogen Peroxide Solution 1 and Povidone–Iodine Solution 1 are accompanied by neutralizing tablets to be added to the disinfectant solution at the onset of disinfection, whereas Hydrogen Peroxide Solution 2 uses a special container and platinum disks to achieve neutralization.

With the exception of MPS 4, all MPS had a recommended disinfection time of at least 4 h. The recommended disinfection time for MPS 4 was 10 min. The hydrogen peroxide and povidone–iodine solutions had recommended disinfection times of 6 and 4 h, respectively, for adequate disinfection and neutralization. All solutions contained inactive ingredients, including buffers, stabilizing agents, isotonicizing agents, and surfactants, in addition to the disinfectant. The main inactive ingredients in each solution are shown in Table 2.

Acanthamoeba trophozoites and cysts

Acanthamoeba castellanii (ATCC 50514) was used in this study. The trophozoites were cultured at 25°C in a peptone–yeast extract–glucose (PYG) medium (ATCC medium 712) in a tissue culture flask (Becton–Dickinson, Tokyo, Japan). Encystment was induced by transferring the trophozoites from PYG medium to Neff's constant-pH encystment medium [20] and incubating them at 25°C. Cysts which were incubated in the encystment medium for 1 week were designated 1-week-old cysts whereas cysts incubated in the medium for 2 weeks were designated 2-week-old cysts.

To determine whether different strains of *Acanthamoeba* respond differently to the disinfectant solutions, we also evaluated the efficacy of selected disinfectant solutions (MPS 1, 5, 6, and Povidone–Iodine Solution 1) against *Acanthamoeba castellanii* (ATCC 50370), another established pathogenic strain.

Table 1 Commercial soft contact lens disinfectant solutions used in the disinfectant efficacy test

	Disinfectant	Concentration (w/v)	Recommended disinfection time ^d	Product name	Manufacturer or distributor
MPS 1	PHMB ^a	1.0 ppm	≥4 h	Complete [®] Double Moist	AMO, Inc.
MPS 2	PHMB ^a	1.0 ppm	≥4 h	Bioclen [®] Zero	Ophtecs Corp.
MPS 3	PHMB ^a	1.0 ppm	≥4 h	Seedo Softcare	SEED Co., Ltd.
MPS 4	PHMB ^a	1.0 ppm	≥10 min	Fresh Look [®] Care 10 min	CIBA VISION
MPS 5	Polyquad ^b	11 ppm	≥4 h	Optifree [®] Plus	Alcon Japan, Ltd.
MPS 6	PHMB ^c	1.1 ppm	≥4 h	Renu [®] Multiplus	Bausch and Lomb Japan Company, Ltd.
MPS 7	PHMB ^a	1.0 ppm	≥4 h	Epica [®] Cold	Menicon Co., Ltd.
MPS 8	PHMB ^a	1.0 ppm	≥4 h	Rohto C Cube [®] Soft One [®] Moist i	Rohto Pharmaceutical Co., Ltd.
Hydrogen Peroxide Solution 1	Hydrogen peroxide	3.0%	≥6 h	Concept [®] One-Step	AMO, Inc.
Hydrogen Peroxide Solution 2	Hydrogen peroxide	3.42%	≥6 h	AO Sept [®]	CIBA VISION
Povidone–Iodine Solution 1	Povidone–iodine	0.5%	≥4 h	Bioclen [®] FR	Ophtecs Corp.

^a Polyhexamethylene biguanide

^b Polydronium chloride

^c Dymed[®]

^d Time indicated on the packaging of each product. For hydrogen peroxide or povidone–iodine solutions, the time necessary for neutralization is included

Table 2 Main inactive ingredients in soft contact lens disinfectant solutions

	Buffering agent	Stabilizing agent	Isotonizing agent	Surfactants (moisturizing/cleansing agents)
MPS 1	–	EDTA	+	+
MPS 2	Borate	Polylysine	+	Poloxamer ^e
MPS 3	+	–	+	+
MPS 4	Phosphate ^c	EDTA	NaCl, KCl ^c	Poloxamer ^e
MPS 5	Borate, citrate ^c	EDTA	NaCl ^c	Poloxamine ^c
MPS 6	Borate, Phosphate ^c	EDTA	NaCl ^c	Poloxamine, Hydranate [®]
MPS 7	–	EDTA	Propylene glycol, Alpha hydroxyl acid, AMPD, amino acids ^c	Propylene glycol, POE hydrogenated castor oil ^c
MPS 8	+	EDTA	+	Poloxamer ^e
Hydrogen Peroxide Solution 1 ^a	+ ^d	–	+ ^d	–
Hydrogen Peroxide Solution 2	Phosphate ^c	+	NaCl ^c	Poloxamer ^{c,e}
Povidone–Iodine Solution 1 ^b	Borate ^c	EDTA	NaCl ^c	Poloxamer ^{c,e}

+ Other inactive ingredients (exact formulation unknown); – inactive ingredients not present or unknown

^a Neutralizing tablets also include catalase, lubricants, coloring agents, and coating agents

^b Disinfectant granules or neutralizing tablets also include sodium sulfite, diluents, foaming agents, lubricants, and coating agents

^c Silvany et al. [17]

^d Included in the neutralizing tablets

^e Poloxamer: polyoxyethylene polyoxypropylene glycol

All procedures involving the organisms were carried out in Biosafety Level 2 laboratories.

Evaluation of the efficacy of soft contact lens disinfectant solutions using the log reduction method

Pre-cultured trophozoites or cysts were collected from a flask, and after centrifugation (150g, 10 min) the organisms were suspended in 1/4 Ringer's solution (Nihon Pharmaceutical, Tokyo, Japan) at a concentration of 5×10^6 organisms/ml. Each MPS, hydrogen peroxide solution, or povidone-iodine solution (10 ml) was inoculated with 100 μ l amoeba suspension so the final concentration was 5×10^4 organisms/ml. Control samples were also prepared with 1/4 Ringer's solution. Subsequently, each sample was incubated at 25°C for 2, 4, 8, or 24 h in a 15-ml conical tube (Becton-Dickinson) or a special container, if provided by the manufacturer (Hydrogen Peroxide Solution 2).

Immediately after the incubation period, samples containing PHMB or Polyquad were neutralized with Dey-Engley Neutralizing Broth (Sigma, St Louis, MO, USA) at a ratio of 9 parts Dey-Engley Neutralizing Broth to 1 part test solution. Dey-Engley Neutralizing Broth was also added to the hydrogen peroxide, povidone-iodine, and control samples (1/4 Ringer's solution) in the same manner to maintain consistent conditions in all samples. For hydrogen peroxide and povidone-iodine samples, neutralization was carried out in accordance with the manufacturer's directions with either neutralizing tablets or platinum disks immediately after inoculation of the amoeba suspension. The special container provided by the manufacturer, which contained a platinum disk neutralization system, was used for Hydrogen Peroxide Solution 2.

A 0-h sample for each MPS was prepared by neutralizing the test solution with Dey-Engley Neutralizing Broth immediately after inoculation of *Acanthamoeba*. 0 h samples for hydrogen peroxide and povidone-iodine samples were prepared using solution which had already been neutralized with either neutralizing tablets or platinum disks.

After neutralization with the Dey-Engley Neutralizing Broth, the log reduction method was used to evaluate the efficacy of each solution [11, 12]. Briefly, tenfold serial dilutions of each test solution were performed with PYG medium, resulting in four dilutions with theoretical maximum final concentrations of 5×10^3 , 5×10^2 , 5×10^1 , and 5×10^0 amoeba/ml. Four 200- μ l aliquots of each dilution were transferred to separate wells in a 96 well plate (Corning International, Tokyo, Japan), so that each dilution could be tested in quadruplicate. In order to provide organisms in the first dilution (9 parts Dey Engley Neutralizing Broth: 1 part test solution) with the nutrients

necessary to proliferate, 80 μ l PYG medium was added to each well. The 96-well plates were incubated at 25°C. Samples containing trophozoites were incubated for 1 week whereas those containing cysts were incubated for 3 weeks. At the end of the incubation period, amoebal growth in the wells was confirmed by use of a phase-contrast microscope. The wells containing amoebal growth were counted, and the number of surviving organisms in each test solution was calculated using the Spearman-Kärber equation as described elsewhere [21].

The decrease in the number of organisms in each test solution was determined relative to the baseline number of organisms detected in each solution immediately after inoculation (0 h). This value was calculated for each solution after 2, 4, 8, and 24 h of incubation, and expressed as a log reduction value. Results are presented as mean \pm SEM. One-way ANOVA and Dunnett's test were used to compare the difference between the log reduction values for the control (1/4 Ringer's solution) and each of the test solutions at each time point. $P < 0.05$ was used to indicate statistical significance.

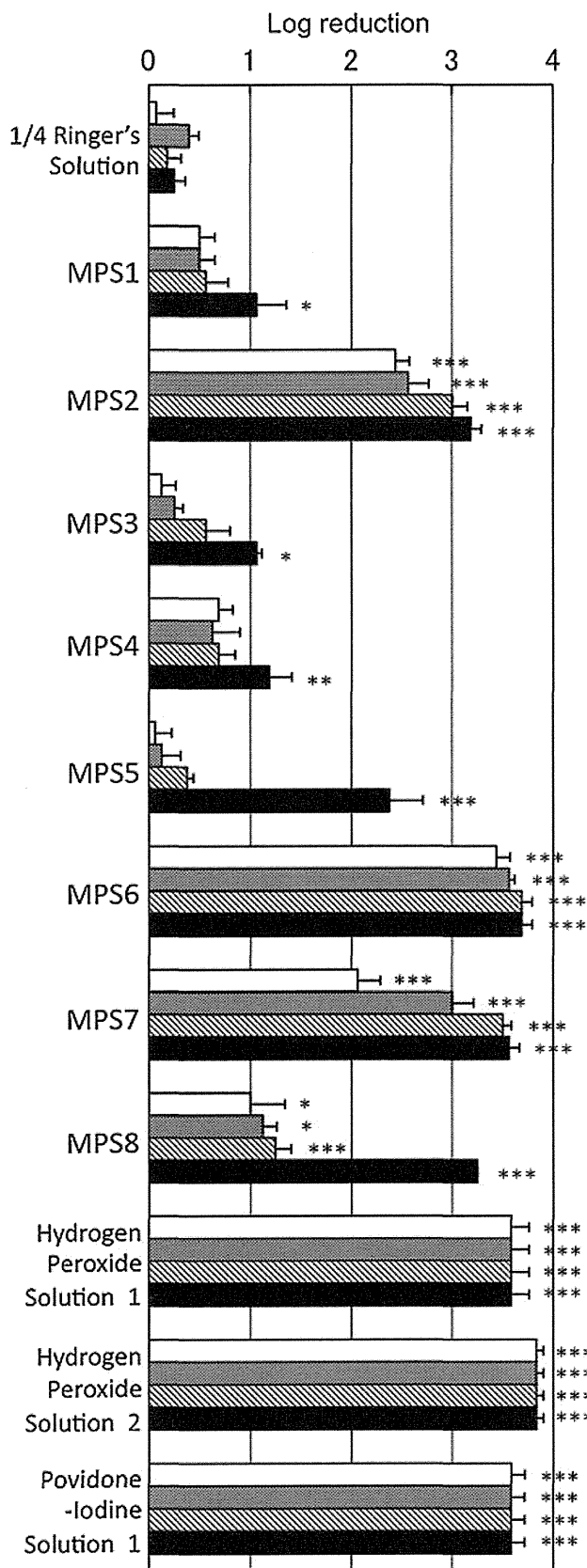
Verification of the log reduction method

To verify the reliability of the log reduction method used in this study, we evaluated the efficacy of selected disinfectant solutions (MPS 1, 5, 6, and Povidone-Iodine Solution 1) against *A. castellanii* (ATCC 50514) by another method. Briefly, *Acanthamoeba* trophozoites and 2-week-old cysts were suspended in 1/4 Ringer's solution or disinfectant solution for 4 h, then each sample was used to inoculate agar plates coated with *E. coli*, and incubated at 25°C for 2 weeks. The efficacy of the solutions were recorded as positive or negative as described elsewhere [22].

Results

Efficacy of soft contact lens disinfectant solutions against *Acanthamoeba* trophozoites

The eight types of MPS examined in this study had different effectiveness against *Acanthamoeba* trophozoites (Fig. 1). MPS 1, 3, and 4 (PHMB, 1.0 ppm) and MPS 5 (Polyquad, 11 ppm) were relatively ineffective against trophozoites. When trophozoites were treated with these solutions for the manufacturer's recommended disinfection time (10 min-4 h), no statistically significant differences were observed between the log reduction values for these solutions and the control (1/4 Ringer's solution). When trophozoites were incubated in these solutions for 24 h, a 1.1-2.4 log reduction was achieved. In contrast, MPS 2 and 7 (PHMB, 1.0 ppm) and MPS 6 (PHMB, 1.1 ppm) had



◀ **Fig. 1** Efficacy of commercial soft contact lens disinfectant solutions against *Acanthamoeba* trophozoites (ATCC 50514). Eight types of multipurpose solution (MPS; $n = 4$), two types of hydrogen peroxide solution ($n = 3$), and one povidone-iodine solution ($n = 3$) were examined to determine their efficacy against *Acanthamoeba* trophozoites. 1/4 Ringer's solution was used as the control ($n = 7$). White bar 2-h treatment; gray bar 4-h treatment; hatched bar 8-h treatment; black bar 24-h treatment. The decrease in the number of surviving organisms in each solution was expressed logarithmically (log reduction value). The error bars indicate SEM. The log reduction value for each solution was compared with that for the control (* P value 0.01–0.05; ** P value 0.001–0.01; *** P value <0.001)

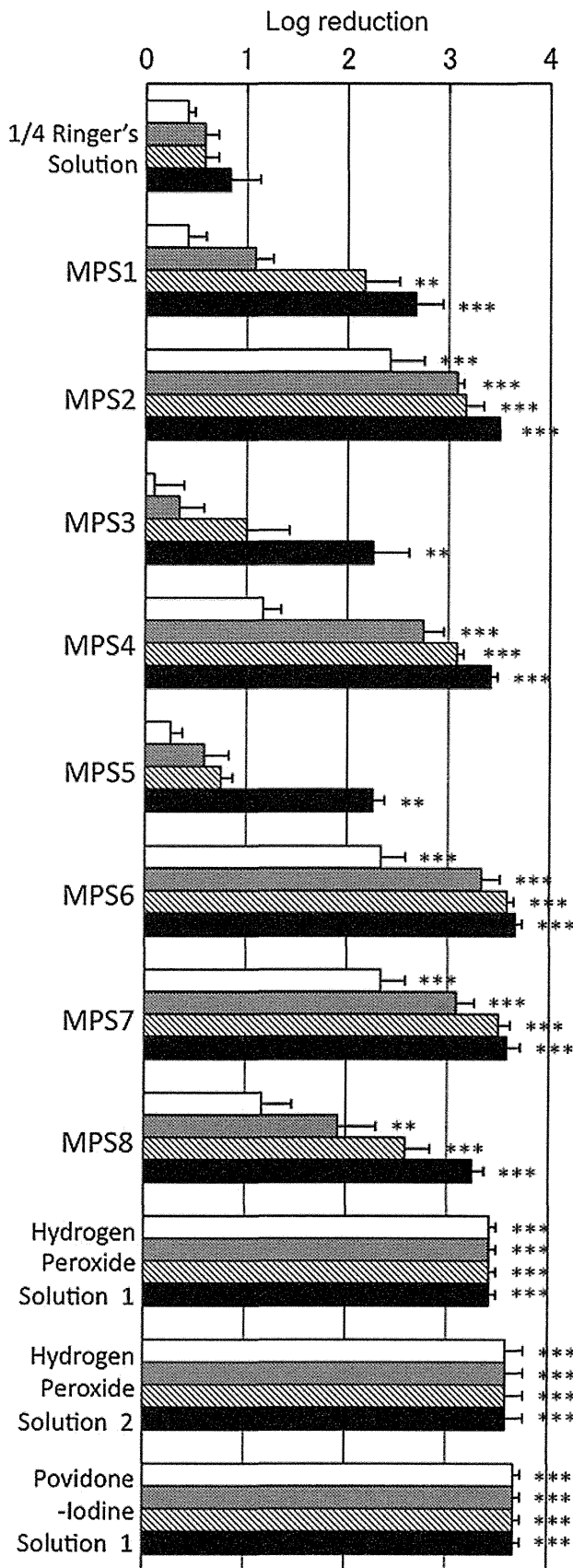
relatively high biocidal activity against trophozoites; these solutions produced a 2.6–3.6 log reduction within the manufacturers' recommended disinfection time (4 h), a significantly greater decrease in surviving organisms than that found for the control ($P < 0.001$). MPS 8 (PHMB, 1.0 ppm) was moderately effective against *Acanthamoeba* trophozoites, giving a 1.1 log reduction within the 4 h recommended disinfection time, also significantly greater than that produced by the control ($P > 0.03$).

Both hydrogen peroxide solutions and the povidone-iodine solution had a greater disinfectant effect on trophozoites than the MPS (Fig. 1). Treatment with either hydrogen peroxide or povidone-iodine solution for 2 h yielded more than a 3 log reduction in trophozoites, significantly greater than that produced by the control ($P < 0.001$) (Fig. 1).

Efficacy of soft contact lens disinfectant solutions against 1-week-old cysts

Most of the MPS examined in this study had greater disinfectant efficacy against 1-week-old cysts than against trophozoites (Figs. 1, 2), although the efficacy of each type of MPS varied greatly. MPS 1 and 3 (PHMB, 1.0 ppm) and MPS 5 (Polyquad, 11 ppm) were relatively ineffective against 1-week-old cysts, and no statistically significant differences were observed between the log reduction values for these solutions and the control (1/4 Ringer's solution). In contrast, MPS 2, 4, and 7 (PHMB, 1.0 ppm) and MPS 6 (PHMB, 1.1 ppm) had greater biocidal activity against 1-week-old cysts. These solutions produced 2.8–3.3 log reductions in 1-week-old cysts within the manufacturer's recommended disinfection time (4 h), significantly greater than that produced by the control ($P < 0.001$). MPS 8 (PHMB, 1.0 ppm) was moderately effective against 1-week-old cysts, giving a 1.9 log reduction after 4 h of treatment, also significantly greater than that produced by the control ($P = 0.006$).

Both the hydrogen peroxide solutions and the povidone-iodine solution had greater disinfectant effects than the MPS on 1-week-old cysts (Fig. 2). Treatment for 2 h with either the hydrogen peroxide solutions or the povidone-



◀ **Fig. 2** Efficacy of commercial soft contact lens disinfectant solutions against 1-week-old *Acanthamoeba* cysts (ATCC 50514). Eight types of multipurpose solution (MPS; $n = 4$), two types of hydrogen peroxide solution ($n = 3$), and one povidone–iodine solution ($n = 3$) were examined to determine their efficacy against 1-week-old *Acanthamoeba* cysts. 1/4 Ringer's solution was used as the control ($n = 7$). White bar 2-h treatment; gray bar 4-h treatment; hatched bar 8-h treatment; black bar 24-h treatment. The decrease in the number of surviving organisms in each solution was expressed logarithmically (log reduction value). The error bars indicate SEM. The log reduction value for each solution was compared with that for the control (* P value 0.01–0.05; ** P value 0.001–0.01; *** P value <0.001)

iodine solution yielded more than a 3 log reduction in 1-week-old cysts, significantly greater than that produced by the control ($P < 0.001$) (Fig. 2).

Efficacy of soft contact lens disinfectant solutions against 2-week-old cysts

The MPS examined in this study were less effective against 2-week-old cysts than against trophozoites or 1-week-old cysts (Fig. 3). When the 2-week-old cysts were treated with any of the eight MPS for the manufacturer's recommended disinfection time (10 min–4 h), no statistically significant differences were observed between the log reduction values for the MPS and the control (1/4 Ringer's solution). Compared with all other MPS tested in this study, MPS 7 and 8 (PHMB 1.0 ppm) were more effective against 2-week-old cysts, producing a 1.4–1.8 log reduction after treatment for 24 h, significantly greater than that produced by the control ($P = 0.03$ and 0.004 for MPS 7 and 8, respectively).

In contrast with the results for trophozoites and 1-week old cysts, the hydrogen peroxide solutions were ineffective against 2-week-old cysts (Fig. 3). When the 2-week old cysts were treated for 2, 4, 8, or 24 h with either hydrogen peroxide solution, no statistically significant differences were observed between the log reduction values for the hydrogen peroxide solutions and the control (1/4 Ringer's solution).

The povidone–iodine solution had greater disinfectant efficacy against the 2-week-old cysts than the MPS and the hydrogen peroxide solutions.

When the 2-week-old cysts were treated with povidone–iodine solution for 4 h, a 2.6 log reduction was achieved, significantly greater than that produced by the control ($P < 0.001$) (Fig. 3).

Verification of the log reduction method

Table 3 shows the efficacy of disinfectant solutions against *Acanthamoeba* trophozoites as measured by inoculating agar plates coated with *E. coli* with the treated samples. The results show that MPS 6 and povidone–iodine solution

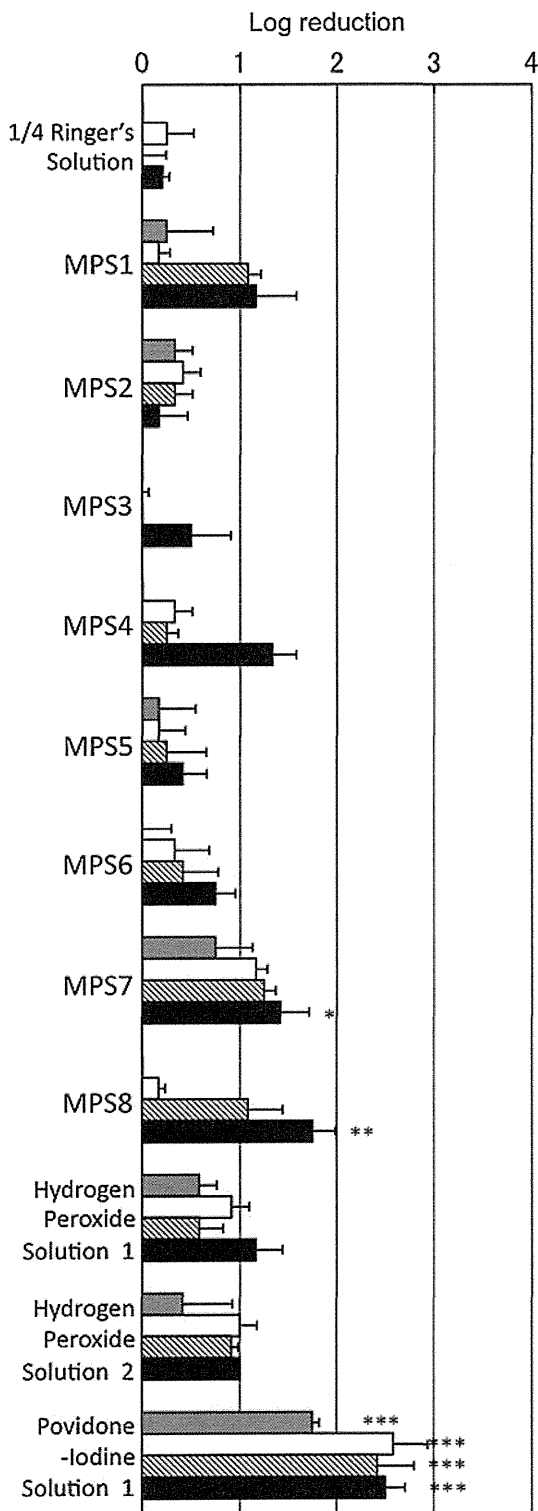


Fig. 3 Efficacy of commercial soft contact lens disinfectant solutions against 2-week-old *Acanthamoeba* cysts (ATCC 50514). Eight types of multipurpose solution (MPS; $n = 3$), two types of hydrogen peroxide solution ($n = 3$), and one povidone-iodine solution ($n = 3$) were examined to determine their efficacy against 2-week-old *Acanthamoeba* cysts. 1/4 Ringer's solution was used as the control ($n = 6$). White bar 2-h treatment; gray bar 4-h treatment; hatched bar 8-h treatment; black bar 24-h treatment. The decrease in the number of surviving organisms in each solution was expressed logarithmically (log reduction value). The error bars indicate SEM. The log reduction value for each solution was compared with that for the control (* P value 0.01–0.05; ** P value 0.001–0.01; *** P value <0.001)

the log reduction method, and suggest that the log reduction method is a reliable means of evaluating disinfectant efficacy (Table 4).

Evaluation of disinfectant solution efficacy against *A. castellanii* (ATCC 50370)

Figure 4 shows the efficacy of selected disinfectant solutions against *A. castellanii* (ATCC 50370) as measured by the log reduction method. MPS 1 and 5 were not statistically different from the control (1/4 Ringer's solution), whereas MPS 6 and povidone-iodine solution had high biocidal activity against trophozoites; these solutions produced a 2.2–3.4 log reduction, significantly higher than that found for the control ($P < 0.001$). When 2-week-old cysts were treated with povidone-iodine solution, a 1.1 log reduction was achieved, significantly greater than that produced by the control ($P < 0.001$). However, no statistically significant differences were observed between the log reduction values for MPS 1, 5, or 6 and the control (1/4 Ringer's solution) (Fig. 4). These results are similar to the results obtained for *A. castellanii* (ATCC 50514), and suggest that the two strains respond similarly to the disinfectant solutions tested in this study.

Discussion

This study investigated the efficacy of commercially marketed SCL disinfectant solutions against *Acanthamoeba* trophozoites and cysts. MPS had widely variable effects on the organisms, despite the fact that all solutions except for MPS 5 use PHMB as the disinfecting agent. Most MPS currently marketed in Japan contain 1 ppm PHMB, which is within the range of the minimum trophozoite amoebicidal concentration for PHMB (0.87–1.3 ppm; minimum concentration required for complete destruction of trophozoites in 24–48 h), but lower than the established minimum cysticidal concentration (2.11–3 ppm; minimum concentration required to prevent excystment and trophozoite replication) [24–26]. This may explain why the MPS tested in this study were ineffective against 2-week-old cysts.

were effective against *Acanthamoeba* trophozoites whereas MPS 1 and 5 had no observable effect. When tested against 2-week old *Acanthamoeba* cysts, MPS 1, 5 and 6 were ineffective, whereas povidone-iodine solution was effective. These results are consistent with those obtained using

Table 3 Efficacy of commercial soft contact lens disinfectant solutions against *Acanthamoeba* trophozoites (ATCC 50514) tested by culturing samples on agar plates coated with *E. coli*

	Number of plates positive for <i>A. castellanii</i> (%)		
	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3
1/4 Ringer's solution	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)
MPS 1	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)
MPS 5	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)
MPS 6	0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)
Povidone-Iodine Solution 1	0/3 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)

Table 4 Efficacy of commercial soft contact lens disinfectant solutions against *Acanthamoeba* cysts (ATCC 50514) tested by culturing samples on agar plates coated with *E. coli*

	Number of plates positive for <i>A. castellanii</i> (%)		
	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3
1/4 Ringer's solution	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)
MPS 1	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)
MPS 5	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)
MPS 6	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)
Povidone-Iodine Solution 1	3/3 (100)	1/3 (33.3)	1/3 (33.3)

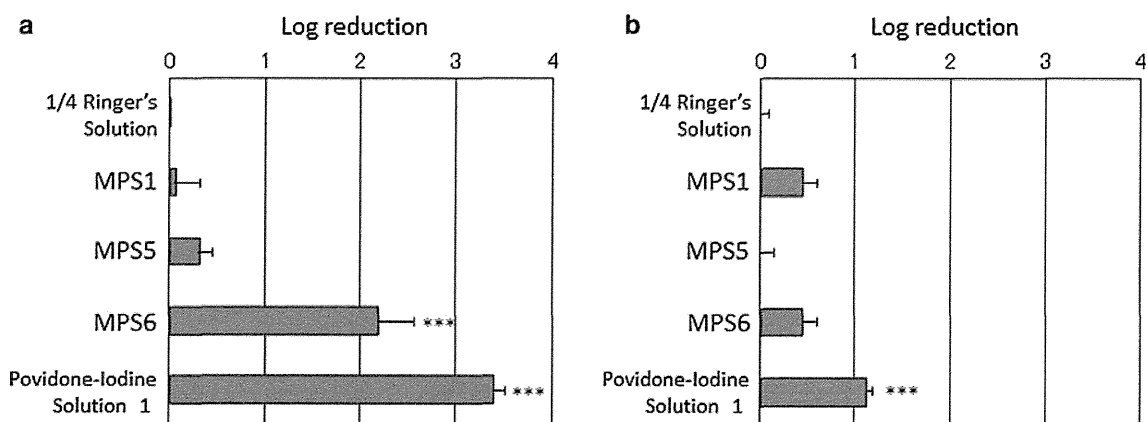


Fig. 4 Efficacy of commercial soft contact lens disinfectant solutions against *Acanthamoeba* trophozoites and cysts (ATCC 50370). Three types of multipurpose solution (MPS; $n = 4$) and one povidone-iodine solution ($n = 4$) were examined to determine their efficacy against *A. castellanii* ATCC 50370 trophozoites (a) and cysts (b). 1/4 Ringer's solution was used as the control ($n = 4$). The decrease in the

number of surviving organisms in each solution was expressed logarithmically (log reduction value). The error bars indicate SEM. The log reduction value for each solution was compared with that for the control (* P value 0.01–0.05; ** P value 0.001–0.01; *** P value <0.001)

With regard to MPS activity against trophozoites, our study found that many types of MPS are ineffective, although MPS 6 and MPS 7 had strong biocidal activity similar to that of hydrogen peroxide or povidone-iodine solutions (>3 log reduction after 4 h). Numerous previous studies suggest that the effect of PHMB may be altered by inactive ingredients included in the commercially marketed contact lens disinfectant solutions. Beattie et al. [10] evaluated the efficacy of six different types of MPS containing either PHMB or Polyquad against *Acanthamoeba*, and reported that even MPS which contained the same concentration of the disinfectant had different disinfectant

efficacy. Similar phenomena were reported for the effects of different formulations of disinfectants against bacteria and fungi [27]. These differences were attributed to inactive ingredients in MPS, for example buffering agents, stabilizing agents, isotonicizing agents and surfactants, which may interfere with the mechanism of PHMB. PHMB contains biguanide, a cation which enables it to adhere to the negatively charged surface of microorganisms. Upon adhering to phosphate-containing compounds, PHMB induces changes in cell membrane permeability leading to potassium efflux and eventual loss of membrane function and cell death [23]. Therefore, negatively charged

ingredients are particularly likely to interact electrostatically with PHMB and interfere with its ability to adhere to cell membranes and compromise their integrity [27].

Several types of inactive ingredient found in the products tested in this study may affect their efficacy. Buffering agents ensure that the pH of the MPS is similar to that of tears, and are necessary to minimize discomfort during lens wear. Most MPS contain phosphate, borate, or citrate buffers (Table 2). Of these, citrate has been found to attenuate the effect of PHMB against bacteria and fungi [28], possibly because citrate contains a negatively charged carboxyl group which interacts electrostatically with positively charged PHMB. Most stabilizing agents (EDTA and polylysine) and isotonicizing agents (NaCl, KCl, amino acids) used in MPS are also ionic compounds (Table 2). Some of these ingredients, for example EDTA, have intrinsic disinfectant effects, but these ingredients also have the capacity to interact electrostatically with positively charged PHMB. One study found that EDTA can actually attenuate the effect of PHMB on *Acanthamoeba* [30]; it is, therefore, still unclear whether it is beneficial to include EDTA in MPS.

MPS also contain several types of surfactant, which are included to remove protein residues from lenses and to improve comfort during lens wear. Most surfactants found in MPS are nonionic compounds (poloxamer, poloxamine, propylene glycol), and are not likely to directly affect the activity of PHMB. However, these ingredients are reported to contribute to the survival of *Acanthamoeba*, because of their tendency to protect microorganisms by aiding biofilm formation and inducing amoebal encystment [31, 32]. Nevertheless, much about the individual and collective effects of these compounds on the disinfectant efficacy of PHMB remains unclear, and further studies are necessary to clarify these matters.

The hydrogen peroxide and povidone–iodine solutions used in this study were effective against *Acanthamoeba* trophozoites, but less effective against 2-week-old cysts, especially hydrogen peroxide. All of these solutions were the one-step type, meaning that neutralization was initiated concurrently with the start of disinfection. Therefore, during the 4 h allowed for disinfection, it is possible that the neutralization tablets or platinum disks may have neutralized the active ingredients (hydrogen peroxide or povidone–iodine) such that the concentration of active disinfectant prematurely fell below that needed for adequate disinfection. This theory is supported by the fact that both the hydrogen peroxide and povidone–iodine solutions caused a decrease in the number of surviving organisms during the first 4 h of treatment, but no further significant decrease in surviving organisms was observed during 20 subsequent hours. In addition, previous studies show that two-step hydrogen peroxide solutions, which enable neutralization to be carried out after disinfection, are more

effective than one-step solutions against *Acanthamoeba* [33, 34]. If adequate disinfection is the top priority, two-step solutions may be ideal. However, as these solutions are more complicated, and are associated with the risk of forgetting to neutralize the solution, further discussion is necessary to determine how best to resolve this dilemma. One possible solution may be to improve the efficacy of one-step solutions by making adjustments to the formulation that delay the onset of neutralization.

Acanthamoeba cysts are highly resistant to many forms of environmental stress, including desiccation, ultraviolet light, and extreme cold or heat, and can, therefore, survive in a variety of different environments [29, 35]. Encystment also enables organisms to gain increased resistance to chemical stresses such as disinfectants [10, 14]. MPS and hydrogen peroxide solutions tested in this study were less effective against 2-week-old cysts than against trophozoites. All the MPS tested failed to significantly reduce numbers of 2-week-old cysts compared with the control (1/4 Ringer's solution) within the manufacturer's recommended disinfection time (4 h). In addition, consistent with previous reports [14, 17, 35], this study found that both types of hydrogen peroxide solution were also relatively ineffective against 2-week-old cysts. These results suggest that MPS and hydrogen peroxide solutions do not provide adequate protection against mature cysts. In contrast, treatment with the povidone–iodine solution led to an approximately 2.5 log reduction in 2-week-old cysts within the manufacturer's recommended disinfection time (4 h), efficacy superior to that of all the other solutions tested.

When the effects of disinfectant solutions against 1 and 2-week-old cysts were compared in this study, 2-week-old cysts were found to be highly resistant to all solutions, whereas 1-week-old cysts were either equally or slightly more susceptible to the solutions than trophozoites. Previous investigations of cyst sensitivity to disinfectants have been carried out at different times after inducing encystment. However, the results of this study suggest that cyst maturity should be considered more carefully when carrying out studies of disinfectant efficacy. In the past, cyst maturity was thought to be affected by the method used to induce encystment. However, subsequent studies have shown that cysts respond similarly to PHMB irrespective of whether encystment is induced by culture in Neff's constant-pH encystment medium or non-nutrient agar [36, 37]. On the other hand, when Kilvington and Anger [37] examined the sensitivity to MPS of comparatively immature cysts (0.5–7 days from the onset of encystment), they discovered that cysts become progressively less sensitive to the solutions as they mature. Our results and Kilvington and Anger's findings both suggest that cysts remain sensitive to PHMB even after incubation in an encystment medium for 1 week, and only gain resistance to the

disinfectant after undergoing further maturation. Because the maturity of the cysts seems to have a strong effect on their sensitivity to disinfectants, it is necessary to adopt standardized methods of inducing encystment and evaluating cyst maturity when conducting comparative investigations of disinfectant solutions.

The results of this study confirm that many SCL disinfectant solutions commercially marketed in Japan are not adequately effective against *Acanthamoeba*, and cannot be expected to completely disinfect SCL. These findings highlight the importance of warning SCL users about the risks of AK, and thorough education about correct lens care practices. Previous studies indicate that topping up old disinfectant solution, inadequate lens case hygiene, failure to wash the hands before handling SCL, and elimination of rubbing and rinsing steps are risk factors for AK. In particular, rubbing and rinsing should be emphasized to SCL wearers because it can prevent *Acanthamoeba* from adhering to SCL [38]. In addition, further investigation of the inactive ingredients in disinfectant solutions is warranted in order to maximize the efficacy of disinfectants in future products. Objective standards for evaluating disinfectant efficacy against *Acanthamoeba* have not yet been established. However, the log reduction method used in this study yields objective and quantitative results, and should be regarded as a simple and reliable way of evaluating the biocidal activity of disinfectant solutions against *Acanthamoeba*.

Acknowledgments This study was a collaborative effort made possible by assistance from the National Consumer Affairs Center of Japan and the Japan Contact Lens Society. The authors would like to thank Ai Onodera, Satoshi Fukuyama, Kazumi Hishida, Saori Sourin, and Tetsuo Yanagihashi of the National Consumer Affairs Center of Japan Product Testing Department for their contributions to this study. The authors would also like to thank Dr Yasuhisa Ishibashi for his critical suggestions.

References

- Radford CF, Lehmann OJ, Dart JK. Acanthamoeba keratitis: multicentre survey in England 1992–6. National Acanthamoeba Keratitis Study Group. Br J Ophthalmol. 1998;82:1387–92.
- Seal DV. Acanthamoeba keratitis update—incidence, molecular epidemiology and new drugs for treatment. Eye (London). 2003;17:893–905.
- Thebpatiphat N, Hammersmith KM, Rocha FN, Rapuano CJ, Ayres BD, Laibson PR, et al. Acanthamoeba keratitis: a parasite on the rise. Cornea. 2007;26:701–6.
- National Surveillance of Infectious Keratitis in Japan—current status of isolates, patient background, and treatment. Nippon Ganka Gakkai Zasshi. 2006;110:961–72.
- Gray TB, Cursons RT, Sherwan JF, Rose PR. Acanthamoeba, bacterial, and fungal contamination of contact lens storage cases. Br J Ophthalmol. 1995;79:601–5.
- Illingworth CD, Cook SD. Acanthamoeba keratitis. Surv Ophthalmol. 1998;42:493–508.
- Kilvington S, Gray T, Dart J, Morlet N, Beeching JR, Frazer DG, et al. Acanthamoeba keratitis: the role of domestic tap water contamination in the United Kingdom. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004;45:165–9.
- Larkin DF, Kilvington S, Easty DL. Contamination of contact lens storage cases by Acanthamoeba and bacteria. Br J Ophthalmol. 1990;74:133–5.
- Acanthamoeba keratitis multiple states, 2005–2007. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2007;56:532–4.
- Beattie TK, Seal DV, Tomlinson A, McFadyen AK, Grimason AM. Determination of amoebicidal activities of multipurpose contact lens solutions by using a most probable number enumeration technique. J Clin Microbiol. 2003;41:2992–3000.
- Borazjani RN, Kilvington S. Efficacy of multipurpose solutions against Acanthamoeba species. Contact Lens Anterior Eye. 2005;28:169–75.
- Lonnen J, Heaselgrave W, Nomachi M, Mori O, Santodomingo-Rubido J. Disinfection efficacy and encystment rate of soft contact lens multipurpose solutions against Acanthamoeba. Eye Contact Lens. 2010;36:26–32.
- Kilvington S, Anthony Y, Davies DJ, Meakin BJ. Effect of contact lens disinfectants against Acanthamoeba cysts. Rev Infect Dis. 1991;13(Suppl 5):S414–5.
- Mowrey-McKee M, George M. Contact lens solution efficacy against Acanthamoeba castellanii. Eye Contact Lens. 2007;33:211–5.
- Nauheim RC, Brockman RJ, Stopak SS, Turgeon PW, Keleti G, Roat MI, et al. Survival of Acanthamoeba in contact lens rinse solutions. Cornea. 1990;9:290–3.
- Silvany RE, Dougherty JM, McCulley JP. Effect of contact lens preservatives on Acanthamoeba. Ophthalmology. 1991;98:854–7.
- Silvany RE, Dougherty JM, McCulley JP, Wood TS, Bowman RW, Moore MB. The effect of currently available contact lens disinfection systems on Acanthamoeba castellanii and Acanthamoeba polyphaga. Ophthalmology. 1990;97:286–90.
- Kilvington S, Heaselgrave W, Lally JM, Ambrus K, Powell H. Encystment of Acanthamoeba during incubation in multipurpose contact lens disinfectant solutions and experimental formulations. Eye Contact Lens. 2008;34:133–9.
- Niederhorn JY, Ubelaker JE, McCulley JP, Stewart GL, Meyer DR, Mellon JA, et al. Susceptibility of corneas from various animal species to in vitro binding and invasion by Acanthamoeba castellanii [corrected]. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1992;33:104–12.
- Neff R, Ray S, Benton W, Wilborn M. Induction of synchronous encystment (differentiation) in Acanthamoeba sp. Methods Cell Physiol. 1964;1:55–83.
- Hamilton M, Russo R, Thurston R. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. Environ Sci Technol. 1977;11:714–9.
- Johnston SP, Sriram R, Qvarnstrom Y, Roy S, Verani J, Yoder J, et al. Resistance of Acanthamoeba cysts to disinfection in multiple contact lens solutions. J Clin Microbiol. 2009;47:2040–5.
- McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clin Microbiol Rev. 1999;12:147–79.
- Elder MJ, Kilvington S, Dart JK. A clinicopathologic study of in vitro sensitivity testing and Acanthamoeba keratitis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1994;35:1059–64.
- Hay J, Kirkness CM, Seal DV, Wright P. Drug resistance and Acanthamoeba keratitis: the quest for alternative antiprotozoal chemotherapy. Eye (London). 1994;8(Pt 5):555–63.
- Larkin DF, Kilvington S, Dart JK. Treatment of Acanthamoeba keratitis with polyhexamethylene biguanide. Ophthalmology. 1992;99:185–91.
- Yanai R, Ueda K, Nishida T, Mori O. Comparison of antimicrobial activity and cytotoxicity of commercial multipurpose solution. J Jpn CL Soc. 2007;49:S13–8.

28. Yanai R, Ueda K, Nishida T, Mori O, Toyohara M. Influence of buffering agents on anti-microbial efficacy of polyhexamethylene biguanide. *J Jpn CL Soc.* 2008;50:234–7.
29. Shiraishi A. Current issue of multipurpose contact lens solutions. *Nihonno Gannka.* 2008;79:727–32.
30. Khunkitti W, Lloyd D, Furr JR, Russell AD. The lethal effects of biguanides on cysts and trophozoites of *Acanthamoeba castellanii*. *J Appl Bacteriol.* 1996;81:73–7.
31. Imayasu M, Uno T, Ohashi Y, Cavanagh HD. Effects of multipurpose contact lens care solutions on the adhesiveness of *Acanthamoeba* to corneal epithelial cells. *Eye Contact Lens.* 2009;35:246–50.
32. Zhang S, Ahearn DG, Noble-Wang JA, Stulting RD, Schwam BL, Simmons RB, et al. Growth and survival of *Fusarium solani-F. oxysporum* complex on stressed multipurpose contact lens care solution films on plastic surfaces in situ and in vitro. *Cornea.* 2006;25:1210–6.
33. Hiti K, Walochnik J, Haller-Schober EM, Faschinger C, Aspöck H. Viability of *Acanthamoeba* after exposure to a multipurpose disinfecting contact lens solution and two hydrogen peroxide systems. *Br J Ophthalmol.* 2002;86:144–6.
34. Hughes R, Kilvington S. Comparison of hydrogen peroxide contact lens disinfection systems and solutions against *Acanthamoeba polyphaga*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:2038–43.
35. Aksozek A, McClellan K, Howard K, Niederkorn JY, Alizadeh H. Resistance of *Acanthamoeba castellanii* cysts to physical, chemical, and radiological conditions. *J Parasitol.* 2002;88:621–3.
36. Hughes R, Heaselgrave W, Kilvington S. *Acanthamoeba polyphaga* strain age and method of cyst production influence the observed efficacy of therapeutic agents and contact lens disinfectants. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:3080–4.
37. Kilvington S, Anger C. A comparison of cyst age and assay method of the efficacy of contact lens disinfectants against *Acanthamoeba*. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:336–40.
38. Butcko V, McMahon TT, Joslin CE, Jones L. Microbial keratitis and the role of rub and rinsing. *Eye Contact Lens.* 2007;33:421–3 (discussion 4–5).

CLケア教室 第39回

コンタクトレンズケアの指導と定期検査の重要性 — 最近の傾向から —

近畿大学医学部眼科学教室¹, アイアイ眼科医院² 宮本裕子^{1,2}, 下村嘉一¹

はじめに

自分が使用しているコンタクトレンズ（以下 CL）名やケア用品の名前を知らないユーザーが非常に多い。処方時に CL 名やケア用品の説明を受けているはずである。初めて CL を処方するときに処方者は一連のケア方法を説明するが、その後ユーザーがどこまで最初のケア方法を正しく守っているのか疑問の残るところである。はじめのころはユーザーも慎重で、指導された CL ケアを遵守しているが、慣れてくると気持ちの上で過信してしまいがちになり、正しいケア方法が守られていない場合が散見される。2009年12月に発表された国民生活センターの報告のなかで、頻回交換ソフト CL（以下 SCL）使用者の実態調査の結果をみると、CL ケアの前に毎回石けんで手洗いをしていなかった人が65.5%もあるということが明らかになっている。更に、多目的用剤（以下 MPS）使用者のなかでこすり洗いを毎回しないという人が49.6%で、2/3の人は SCL のレンズケースを3カ月以内に交換していなかったことがわかった。CL ケアの基本的注意点として、「レンズを取り扱う前は必ず石けんで手指を洗う」、「こすり洗いをする」、「レンズケースは1.5～3カ月に一度は新しいものと交換する」の三点が挙げられるが、この基本的注意点を遵守していない人は遵守した人に比較して、緑膿菌やアカントアメーバの検出率が高いという結果も出ている。正しいケアができていないことが明らかになっており、CL ケアの基本的注意点が遵守されていないほど、緑膿菌やアカ

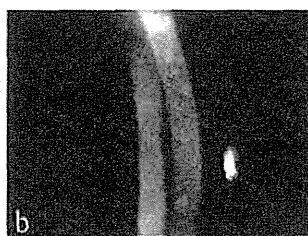
ントアメーバの感染の機会が増えてしまうことが考えられる。

CL ケアの指導と定期検査

CL の取り扱いに慣れてくるとケアに対する気配りが減り、手抜きケアとなってしまう。そういった意味でも定期検査は重要で、来院時に正しいケアができているかどうかを確認する必要がある。ところが、昨今はインターネットでの購入が非常に増えているように感じる。医師の診察を受けるようにという記載はあるが、実際はデータを自分で入力すれば、いとも簡単に購入できてしまう。インターネット上には様々なおしゃれ用カラー CL が氾濫している。洋服やアクセサリと同じ雑品のごとく販売されている。先日、友人が韓国のサイトで購入したおしゃれ用カラー CL をもらって装用し、合併症を来してから初めて眼科受診した例を経験した。ケアについて聞くと MPS は使っていたが、指導を受けていないためレンズを浸け置くだけであった。同じような例として、水道水で洗浄し、MPS に浸けて置いて使用していたという例もあった。処方せんがなくても前回と同じであれば販売するという販売店（もあると聞く）やインターネットでの購入を続けると、正しいケアができていないかどうかの確認ができず、眼疾患の早期発見が遅れてしまう。図 1 a～d は19歳、女性。6～7年前に初めて CL の処方を受け、その後、定期検査は全く受けず、ネットで購入を続けていた。1カ月交換の SCL を使用していたとのことであるが、レンズ名は



a 角膜上方からの新生血管の侵入と角膜浸潤



b 多数の角膜浸潤と角膜瘢痕



c 角膜全周から強い新生血管の侵入



d 多数のフルオレセイン染色

図1 定期検査を受けずに放置されていた症例

わからない（どうやって購入していたのか疑問である）とのことである。ケアについては、こすり洗いは行っていたが、軽く数回のみで、石けんでの手洗いは行っていなかった。自分でも調子の悪いときはあったが装用を続けていたとのことである。今回初めて、診察を希望して来院した。多数の角膜浸潤と角膜混濁および全周にわたる強い新生血管の侵入を認めていた。ケアについて指導を受けていても、次第にケアがおろそかになるというのに、雑品を購入するかのごとくネットなどで購入し、CLケアの重要性について知識のないままCLを使用し、定期検査を受けずにいると、本例のように眼疾患が存在していても気が付かないままで過ごしている場合がある。

更に、定期検査の受診率が悪いのはハードCL（以下HCL）使用者である。レンズの破損、紛失など何かなければ受診しないユーザーが非常に多いように思われる。たとえどのようなCLであっても、定期検査を受け、眼合併症の有無やCLの状態を観察するだけでなく、正しいケアを続けて行っているかをチェックすることが重要である。感染症のことを考えればできるだけ微生物に対する効果の高いケア用品を選択し、それを正しく使うよう指導しなければならない。更には、CL関連角膜感染症の原因となる

環境菌による影響を考えると、ケアを行っている場所、洗面所などの水回りを清潔に保つことにも注意を払うよう指導が必要になってくる。先日の第54回日本コンタクトレンズ学会では、レンズやケア用品を保存する温度についても議論されていた。近年はHCLに対しても除菌効果の期待できるケア用品が出ている。市販でケア用品を購入する際には、一番低価格のものを選択する機会が多いということを目にするが、できるだけ微生物に対する効果の高いケア用品を購入し、正しい方法でケアを行うようにユーザーを指導するべきであると考えます。

おわりに

処方する側も多忙ななか、CLについての説明とケア用品の特徴やケアの方法を説明し理解されたと思っていても、ユーザーはそのとき安く販売されているケア用品を購入する。その上にケアが手抜きになり、やがて気が緩んだころに角膜感染症が忍び寄る。処方医は正しいケアの指導と定期検査の重要性（ネットで購入を続けることの危険性）を常に心にとどめ、それをユーザーに啓発していかなければならない。

コンタクトレンズケース内汚染の現状

稲葉昌丸¹, 糸井素純², 井上幸次³, 植田喜一⁴, 大橋裕一⁵, 佐渡一成⁶, 水谷 聡⁷,
宮崎 大³, 宮本仁志⁸, 矢倉慶子³

大阪市 (稲葉眼科)¹, 東京都 (道玄坂糸井眼科医院)², 鳥取大学医学部視覚病態学³, 下関市 (ウエダ眼科)⁴,
愛媛大学大学院医学系研究科視機能外科学分野⁵, 仙台市 (さど眼科)⁶, 名古屋市 (水谷眼科診療所)⁷,
愛媛大学医学部附属病院臨床検査部⁸

Present Status of Contact Lens Contamination

Masamaru Inaba¹, Motozumi Itoi², Yoshitsugu Inoue³, Kiichi Ueda⁴, Yuichi Ohashi⁵, Kazushige Sado⁶,
Satoshi Mizutani⁷, Dai Miyazaki³, Hitoshi Miyamoto⁸ and Keiko Yagura³

Osaka City (Inaba Eye Clinic)¹, Tokyo (Dougenzaka Itoi Eye Clinic)²,
Division of Ophthalmology and Visual Science, Faculty of Medicine, Tottori University³, Shimonoeki City (Ueda Eye Clinic)⁴,
Department of Ophthalmology, Ehime University School of Medicine⁵, Sendai City (Sado Eye Clinic)⁶,
Nagoya City (Mizutani Eye Clinic)⁷, Department of Clinical Laboratory, Ehime University School of Medicine⁸

コンタクトレンズ (CL) ケースの細菌, 真菌およびアカントアメーバ汚染の現状を調査するために, コンプライアンス良好なソフト CL (SCL), ハード CL (HCL) 装用者の使用中の CL ケースを回収した。351個の CL ケースが回収され, うち SCL ケースが237個, HCL ケースが114個であった。アカントアメーバは培養では検出されず, polymerase chain reaction (PCR) 法による DNA 検査結果も否定的であった。培養検査によって SCL ケースの27.0%に細菌が, 4.7%に真菌が, 28.7%に細菌または真菌が検出された。HCL ケースでは50.9%に細菌が, 7.0%に真菌が, 50.9%に細菌または真菌が検出され, HCL ケースの方が有意に高い汚染率を示した。また, 使用者の CL および CL ケース管理に関するコンプライアンスは, HCL 装用者の方が不良だった。CL ケースの乾燥程度を「乾燥」, 「液滴が残る」, 「液体が入っている」に分けると, 「液滴が残る」ケースが最も高い汚染率を示した。よい CL および CL ケース管理によって CL ケースの汚染を防止することはある程度可能である。HCL 装用者の CL ケースは汚染されていることが多い。CL ケースは完全に乾燥するように注意する必要がある。

(日コレ誌 54 : 31-40, 2012)

キーワード : コンタクトレンズケース, 汚染, コンタクトレンズケア, 細菌, アカントアメーバ

To investigate the current status of contact lens (CL) case contamination, CL cases were collected from users of soft CLs (SCLs) and hard CLs (HCLs) who were in good compliance with lens care procedures. Among the 351 CL cases collected, 237 were for SCLs and 114 were for HCLs. *Acanthamoeba* was not found on cultures, and polymerase chain reaction (PCR) amplification found low levels of *Acanthamoeba* DNA. The results of culturing SCL cases showed bacteria in 27.0% of cases, fungi in 4.7%, and bacteria or fungi in 28.7%. Cultures of HCL cases showed higher proportions with bacteria (50.9%), fungi (7.0%), and bacteria or fungi (50.9%). In addition, compliance with CL and CL case care was worse in HCL wearers. When CL cases were classified according to whether they were "dried", had "drop remains", or were "filled with fluid", the highest contamination rate was among cases with "drop remains". Good CL and CL case care can prevent CL case contamination to some extent. CL cases from HCL users are frequently contaminated. Care should be taken to dry CL cases completely.

(J Jpn CL Soc 54 : 31-40, 2012)

Key Words : Contact Lens Case, Contamination, Contact Lens Care, Bacteria, *Acanthamoeba*

緒 言

コンタクトレンズ (以下 CL) 装用に伴う角膜感染症は, 重症化すれば入院加療が必要となり, 治療を行っても矯正

視力の低下を残すことがあるため, 医学的にも社会的にも重大な問題となっている¹⁻³⁾。角膜感染症の病原菌は細菌, 真菌, アカントアメーバなどと多彩であるが, ケア不良が原因となって CL ケースの病原菌汚染が生じ, これが CL

装用時に眼表面に移動して感染を起こすと考えられる⁴⁾。このため、CL ケースの汚染調査は以前から国内外で行われてきたが、大半の報告は調査対象の半数以上においてCL ケース、あるいはCL ケース液が汚染されていることを示している⁵⁾ (国民生活センター：ソフトコンタクトレンズ用消毒剤のアカントアメーバに対する消毒性能。報道発表資料：2009年12月16日。2011年6月現在、http://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20091216_1.pdf からダウンロード可能)。CL およびCL ケースケアの有効性を確認するためには、良好なケアによってCL ケースの汚染を防ぐことが可能なのか、どの程度までCL ケースを清潔に保つことができるかを知る必要がある。

このため良好なCL およびCL ケースケアを行っていると考えられるソフトCL (以下 SCL) およびハードCL (以下 HCL) 装用者が、現在使用しているCL ケースの細菌、真菌、アカントアメーバによる汚染の発生率を調査した。

対象および方法

1. 対象

CL ケアの指導を積極的に行っている(表1)、全国5箇所のCL 処方施設(表2)を、2010年6~10月の間に、定期検査のために再診した、ほかに眼疾患がなくコンプライアンスが良好な2週間交換または1カ月、3カ月交換SCL

表1 参加した調査施設における、コンタクトレンズ (CL) およびCL ケースケアの指導内容

CL種別	ソフトCL(SCL)						
	多目的用剤(MPS)		過酸化水素剤		MPS, 過酸化水素剤共通		
ケア内容	CLを脱後にこすり洗いをします	CLを脱後にすすぐ	装用前にCLをすすぐ	装用前にCLをすすぐ	装用後のCLケースをすすぐ	装用後のCLケースを乾燥させる	定期的にCLケースを交換する
施設A	○	○	○	○	○	○	○
施設B	○	○	○	○	○	○	○
施設C	○	○	○	△	○	○	○
施設D	○	○	○	△	○	○	○
施設E	○	○	○	○	○	○	○

CL種別	ハードCL(HCL)			
	装用後のCLケースを空にする	装用後のCLケースをすすぐ	装用後のCLケースを乾燥させる	定期的にCLケースを交換する
施設A	○	○	○	△
施設B	○	○	○	○
施設C	○	○	△	△
施設D	○	○	○	○
施設E	○	○	○	○

○：必ず指導している、△：時々指導している

装用者およびHCL 装用者である。

2. 方法

調査施設に各80セットずつのCL ケース回収用封筒およびCL ケア状況調査のためのアンケート用紙(表3)を、新品CL ケースとともに用意し、定期検査のために来院した患者に配布した。患者には帰宅後、使用中のCL ケースをそのまま(ふたを開けておいてある場合はふたを閉めさせて)、記入したアンケート用紙とともに回収用封筒に入れて調査施設に返送させた。調査施設は返送された封筒を冷蔵保存し、1週間ごとにまとめて菌検査施設に送付した。菌検査は愛媛大学医学部附属病院臨床検査部が表4の手順に従って半定量検査を行った。また、最初の305例については、アカントアメーバの polymerase chain reaction (以下PCR) 検査を、鳥取大学が表5の手順に従って行った。同時に回収されたアンケート用紙も各調査項目を解析した。細菌検査結果については、検出菌種数と半定量結果に基づく各CL ケースの「汚染度」を表6のように定義して算出した。

CL ケースはHCL 用、SCL 用ともに、左右眼で保存区画が分かれているものと、同一区画に左右のCL を保存するものがあった。すべての保存区画を調査対象とする

表2 調査施設一覧

施設名	所在地	調査担当医師
さと眼科	宮城県	佐渡一成
道玄坂糸井眼科医院	東京都	糸井素純
水谷眼科診療所	愛知県	水谷 聡
稲葉眼科	大阪府	稲葉昌丸
ウエダ眼科	山口県	植田喜一

表3 患者に記入させたCL ケア状況調査用アンケート用紙の記入項目概要

性別
年齢
使用CLの種別、メーカー名、製品名
ケア用品名
ケア用品をほかの容器に移し替え使用しているか?
CL ケア前に手を洗っているか? 石けんを使用しているか?
脱後のCLをこすり洗いしているか?
脱後のCLをすすいでいるか?
装用前にCLをすすいでいるか?
装用後、CL ケースを空にしているか?
装用後、CL ケースをすすいでいるか?
装用後、CL ケースを乾燥させているか?
CL ケースを定期的に交換しているか?
現在使用中のCL ケース(回収したCL ケース)の使用期間
連続装用の有無
連続装用する場合、1週当たりの連続装用日数
SCLの交換期間を守っているか?
定期検査の受診間隔
こすり洗いの方法は?(掌上でCLを動かす、指先にはさんでこする、など)
CLの週平均装用日数
CLの1日平均装用時間

表 4 CL ケース汚染調査の菌検査手順

1. CL ケースに液が入っているか、液滴が認められる程度か、乾燥しているかを判定し、記録する。レンズケースに液がない場合は、1 ml の滅菌生理食塩水を入れて、ミキサーで混ぜる。
2. 液のうち、0.5ml を滅菌した大腸菌を塗ったクロモアガーカンジダ培地に落とし、室温にて10日培養後、鏡検にてアメーバの有無を確認する。
3. 液のうち、約50 μ l を血液寒天培地/BTB 寒天培地に広げ、35 $^{\circ}$ C 48時間培養する。
4. 残った液はアcantアメーバ polymerase chain reaction (PCR) 検査 (表 5) に使用する。
5. 48時間後、3. の培地でコロニーのグラム染色を行い、以下の手順で染色性および形態で区別し、性状を検査し同定を行う。
 - I. グラム陽性球菌
 - ①カタラーゼ試験陽性の場合、結合型コアグラゼ試験を行い、黄色ブドウ球菌 (陽性) とコアグラゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) に分類する。
 - ②陰性の場合、EF 寒天培地に接種し発育が認められた場合は腸球菌と同定する。
 - ③EF 寒天培地に発育しない場合、血液寒天培地での β 溶血性を観察し、溶連菌 (陽性)、他のレンサ球菌 (陰性) に分類する。溶連菌は群別を行う (A 群から F 群)。
 - ④ α 溶血を示した場合、オプトヒン感受性試験を行い、感受性であれば *Streptococcus pneumoniae* と同定し、耐性であれば α -*Streptococcus* とする。
 - ⑤溶血のない場合は γ -*Streptococcus* とする。
 - II. グラム陽性桿菌
 - ①芽胞陽性の場合 *Bacillus* 属と同定する。
 - ②芽胞陰性の場合、カタラーゼ試験陽性は *Corynebacterium* 属、陰性は通性嫌気性の *Lactobacillus* 属とする。
 - III. グラム陰性桿菌

クリグラー寒天培地でグルコースの発酵性の確認およびオキシダーゼ試験を行う。

 - ①グルコース発酵、オキシダーゼ陽性菌
ビブリオ科, エロモナス科, プレジオモナス属として同定を進める。
 - ②グルコース発酵、オキシダーゼ陰性菌
腸内細菌科として、
クリグラー寒天培地、リジン鉄寒天培地、シモンズ・クエン酸ナトリウム培地、DNA 培地、SIM 培地、VP 半流動培地の性状により同定を進める。
 - ③グルコース非発酵、オキシダーゼ陽性菌
シュードモナス属、バークホルテリア属、アルカリゲネス属、アクロモバクター属、クリセオバクテリウム属として同定を進める。
 - ④グルコース非発酵、オキシダーゼ陰性菌
ステノトロホモナス属、アシネトバクテリウム属として同定を進める。
 - ⑤グルコース非発酵 (上記の③、④以外)
ID テスト NF-18 を使用して、菌名を同定する。
6. 菌量はおよそ次のような基準で簡易定量を行う (単位は CFU/ml)。
(\pm) 10^3 以下
(+) 10^{4-5}
(2+) 10^6
(3+) 10^7 以上

BTB : brom thymol blue, SIM : sulfide-indole-motility, CFU : colony forming unit

と、1 症例で 1 区画が対象となるものと、2 区画が対象になるものが生じ、統計解析が複雑になるため、左右眼で保存区画が分かっている CL ケースについては、右眼用保存区画のデータのみを調査対象とすることにした。

結 果

5 施設合計で 400 セット配布した回収用封筒のうち、351 セットが回収され、回収率は 87.8% であった。内容は SCL ケースが 237 個、HCL ケースが 114 個であった。装用者の

表 5 アcantアメーバ PCR 検査の手順

Real time-PCR (TaqMan Probe 法), Riviere D et al. J Microbiological Method 64 : 78-83, 2006 を改修して構築したもの

1. DNA 抽出 : QIAamp[®] DNA Mini Kit
 2. Real-time PCR 施行 : LightCycler[®]
 - i) プライマー : *Acanthamoeba* の 18S rDNA 領域を特異的に認識
forward : 5' -CGACCAGCGATTAGGAGACG-3'
reverse : 5' -CCGACGCCAAGGACGAC-3'
 - ii) プローブ : 5' -FAM-TGAATACAAAACACCACCATCGGCGC-BHQ
 - iii) 条件
- | | 時間 (秒) | 温度 ($^{\circ}$ C) | ランプ ($^{\circ}$ C/秒) |
|----------------------------|--------|--------------------|-----------------------|
| 初期活性化ステップ | 900 | 95 | 20 |
| 2 ステップサイクリング 変性 | 0 | 95 | 20 |
| (サイクル数 : 50) アニール/エクステンション | 60 | 60 | 20 |
3. 既知濃度サンプル (*Acanthamoeba castellanii* strain Neff の genomic DNA (ATCC 30010D) より PCR で増幅した DNA fragment による検量線作成
 4. 解析 : LightCycler Software version 3.5

表 6 CL ケース汚染度の定義

表 4 の半定量検査結果を基に、(-) : 0, (\pm) : 1, (+) : 2, (2+) : 3, (3+) : 4 のスコアを与え、複数検出例では各菌種についてのスコアを合計したものを、その CL ケースの汚染度とした。真菌は細菌と尺度が異なるため、汚染度算出から除外した。

- 例 1 : CNS (\pm) \rightarrow 汚染度 = 1
 例 2 : CNS (2+), *Acinetobacter* sp. (2+), *Steno. maltophilia* (3+) \rightarrow 汚染度 = 3 + 3 + 4 = 10

CNS : coagulase-negative *Staphylococcus*

表 7 回収された CL ケースの使用者概要

	例数	性別	平均年齢 \pm 標準偏差 (年齢幅)
全症例	351	男 : 92 例, 女 : 259 例	37.6 \pm 12.5 歳 (14~77 歳)
SCL 装用者	237	男 : 58 例, 女 : 179 例	34.6 \pm 11.5 歳 (14~68 歳)*
HCL 装用者	114	男 : 34 例, 女 : 80 例	43.9 \pm 12.1 歳 (20~77 歳)*

*Wilcoxon 順位和検定にて男女間で年齢分布に有意差あり ($p=0.000$)

表 8 SCL 装用者の CL 種別, ケア用品種別

CL 種別・使用期間	例数
2 週間交換 SCL	217
1 カ月交換 SCL	17
3 カ月交換 SCL	3
CL 種別・CL 素材	
シリコーンハイドロゲル	133
シリコーンハイドロゲル以外の SCL 素材	104
ケア用品種別	
MPS (PHMB 含有)	112
MPS (Polyquad [®] 含有)	85
不明な多目的用剤	14
過酸化水素剤	18
不明なケア用品	8

MPS : 多目的用剤, PHMB : polyhexamethylenebiguanide, Polyquad[®] : poly-quaternium-1

表9 CL ケースの左右区画分離の有無 (例)

	左右同区画	左右別区画
SCL ケース	16*	221**
HCL ケース	95	19

*16例中15例は過酸化水素剤使用, 1例はケア用品名不明,
**221例中3例は過酸化水素剤使用, 7例はケア用品名不明,
ほかはMPS使用

表11 左右同区画のCL ケースと左右別区画のCL ケース間での菌検出率比較

	菌検出率*	検出菌種数**	汚染度	アカントアメーバDNA 検出率	
SCL ケース (n=221)	左右別区画***	28.5%	0.5±0.9	0.7±1.7	12.2%
	左右同区画	31.3%	0.8±1.6	2.0±5.1	18.8%
	差	なし****	なし*****	なし*****	なし****
HCL ケース (n=19)	左右別区画***	31.6%	0.6±1.0	1.1±2.1	26.3%
	左右同区画	54.7%	1.1±1.2	2.7±3.7	22.1%
	差	なし****	なし*****	なし*****	なし****

細菌あるいは真菌の検出率, 汚染度 (表6), アカントアメーバDNA 検出率とも有意差はなかった

*: 平均値±標準偏差, 真菌含む, **: 平均値±標準偏差, 細菌のみ,
: 右眼用区画のデータを使用, *: χ^2 検定,
*****: Mann-Whitney U 検定

表10 同一CL ケースの左右区画間での菌検出率比較

	菌検出率*	検出菌種数**	汚染度 (表6)***	アカントアメーバDNA 検出率	
SCL ケース (n=221)	右眼用区画	28.5%	0.5±0.9	0.7±1.7	12.2%
	左眼用区画	28.5%	0.4±0.8	0.8±2.2	17.6%
	左右差	なし****	なし*****	なし*****	なし****
HCL ケース (n=19)	右眼用区画	31.6%	0.6±1.0	1.1±2.1	26.3%
	左眼用区画	47.4%	0.8±1.1	1.9±2.9	15.8%
	左右差	なし****	なし*****	なし*****	なし****

*: 半定量で (±) およびそれ以上となった例, 真菌含む (培養ではアカントアメーバは検出されず),
** : 平均値±標準偏差, 真菌含む, *** : 平均値±標準偏差, 細菌のみ,
**** : χ^2 検定, ***** : Mann-Whitney U 検定

表12 細菌, 真菌の検出率と汚染度

	細菌検出例	真菌検出例	細菌または真菌検出例	真菌のみ検出例	汚染度 (表6)
全CL ケース (351例)	122例 (34.8%)	18例 (5.1%)	126例 (35.9%)	4例 (1.1%)	1.3±2.7
SCL ケース (237例)	64例 (27.0%)*1	10例 (3.7%)	68例 (28.7%)*2	4例 (1.5%)	0.8±2.1*3
HCL ケース (114例)	58例 (50.9%)*1	8例 (7.0%)	58例 (50.9%)*2	0例 (0.0%)	2.4±3.5*3

*1, *2 : χ^2 検定にて SCL, HCL ケース間に有意差あり (p=0.000),
*3 : Wilcoxon 順位和検定 (p=0.000), 分散分析 (p=0.000) にて SCL, HCL ケース間に有意差あり

表13 Real-time PCR 法によるアカントアメーバDNA 検出結果

SCL ケース	検査例数	207
	陽性例数	35
	最大値	497.5copies/ μ l
	平均	3.1copies/ μ l
	標準偏差	34.8copies/ μ l
	10.0copies/ μ l 以上の症例数	2
HCL ケース	検査例数	78
	陽性例数	20
	最大値	14.2copies/ μ l
	平均	0.9copies/ μ l
	標準偏差	2.4copies/ μ l
	10.0copies/ μ l 以上の症例数	2
	100.0copies/ μ l 以上の症例数	0

性別, 年齢などを表7に, SCL 装用者については使用CLの詳細とケア用品種別を表8に示す。HCL 装用者はSCL装用者より有意に年齢が高かった。使用SCLの大半は2週間交換SCLであり, 過半数をシリコンハイドロゲルレンズが占めていた。また, SCL 装用者の大半は多目的用剤 (以下MPS) を使用していた。

CL ケース保存区画の左右分離の有無を表9に示す。HCL 保存ケース, 過酸化水素剤を使用しているSCL装用者の保存ケースにおいては, 左右の区画が共通しているケースが大半を占めていた。逆に, MPSを使用するSCL装用者の保存ケースはすべて左右別区画であった。左右が別区画になっているCLケースについて, 菌検出率, 検出菌種数, 汚染度 (表6), PCR法によるアカントアメーバDNAの検出率の差をみたのが表10である。統計的に有意なレベルの左右差はなく, 左右別区画のCLケースについて右眼用保存区画のデータのみを採用するのは妥当と判断した。また, 左右別区画のCLケースと左右同区画のCLケースについて, 菌検出率, 検出菌種数, 汚染度, PCR法によるアカントアメーバDNA検出率の差を検討した (表11) が, 両者の間に統計的な有意差はなかった。以後の結果は, 左右別区画のCLケースにおいてはすべて右眼用区画のデータのみを使用する。

全CLケース中34.8%で細菌が, 35.9%で細菌または真菌が検出された (表12)。真菌の検出率は5.1%であった。

SCL ケースの28.7%, HCL ケースの50.9%で細菌または真菌が検出された。細菌検出, 細菌または真菌の検出率, 汚染度ともにHCL ケースの方がSCL ケースより有意に高かった。真菌検出率にはSCL, HCL ケース間で有意差を認めなかった。アカントアメーバは培養では検出されなかった。Real-time PCR 法によるアカントアメーバDNA 検出率

表14 SCL ケースについて、ケア用品の違いによる検出菌種数、汚染度比較

ケア用品種別	例数	菌検出率*	検出菌種数**	汚染度**
過酸化水素剤	18	27.8%	0.6±1.5	1.4±4.7
MPS (PHMB 含有)	112	26.8%	0.4±0.8	0.6±1.5
MPS (Polyquad [®] 含有)	85	29.4%	0.5±0.9	0.7±1.5
不明な MPS	14	28.6%	0.6±1.3	0.6±1.4
全 MPS	211	28.0%	0.5±0.9	0.7±1.5

分散分析および Wilcoxon 順位検定にて各群間に有意差を認めず
*：平均値±標準偏差，真菌含む，**：平均値±標準偏差，細菌のみ

表16 SCL ケースについて、乾燥状態の違いによる検出菌種数、汚染度比較

CL ケースの乾燥状態	例数	菌検出率*	検出菌種数**	汚染度
乾燥している	208	27.9%	0.5±1.0	0.7±2.1
液滴を認める	17	47.1%	0.9±1.2	1.5±2.6
液体が入っている	12	16.7%	0.2±0.4	0.7±1.6

分散分析および Wilcoxon 順位検定にて、全データにおいて各群間に有意差を認めず
*：平均値±標準偏差，真菌含む，**：平均値±標準偏差，細菌のみ

表17 SCL ケースについて、乾燥状態の違いによる細菌汚染度比較

CL ケースの乾燥状態	汚染度	
	汚染度 0	汚染度 1 以上
乾燥している	154例	54例
液滴を認める	9例	8例
液体が入っている	10例	2例

CL ケースの乾燥状態	汚染度 1 以下	汚染度 2 以上
乾燥している	179例	29例
液滴を認める	12例	5例
液体が入っている	10例	2例

汚染度 0、汚染度 1 をそれぞれ基準として、乾燥状態の違いによる細菌汚染度を比較
汚染度 0 は細菌半定量 (-)，汚染度 1 は細菌半定量 (±) が 1 菌種のみ検出を意味する
 χ^2 検定にて有意差なし

は表13に示すとおりであるが、ほとんどが10.0copies/ μ l 未満であり、10.0copies/ μ l 以上の症例は 4 例、100.0copies/ μ l 以上の症例は 1 例にすぎず、それも500.0copies/ μ l 以下であった。今回用いた real-time PCR 法の感受性はアメーバの個数をカウントするのと比較して、シストでは50倍以上、栄養体で300倍以上である。したがって、10copies/ μ l 未満の PCR 陽性例は、ケース内のアcantアメーバに限らず環境中のアcantアメーバの残渣などを検出している可能性が高く、今回の結果は臨床的に問題となるレベルには達しないと判断した。そのため、real-time PCR 法によるアcantアメーバ DNA 検出率は以後の検討対象から除外

表15 SCL ケースについて、ケア用品の違いによる細菌汚染度比較

ケア用品種別	汚染度 0 以下	汚染度 1 以上
過酸化水素剤	13例	5例
MPS (PHMB 含有)	85例	27例
MPS (Polyquad [®] 含有)	61例	24例
不明な MPS	10例	4例
全 MPS	156例	55例

ケア用品種別	汚染度 1 以下	汚染度 2 以上
過酸化水素剤	15例	3例
MPS (PHMB 含有)	96例	16例
MPS (Polyquad [®] 含有)	73例	12例
不明な MPS	12例	2例
全 MPS	181例	30例

汚染度 0、汚染度 1 をそれぞれ基準として、ケア用品の違いによる細菌汚染度を比較
汚染度 0 は細菌半定量 (-)，汚染度 1 は細菌半定量 (±) を 1 菌種のみ検出を意味する
 χ^2 検定および分散分析にて有意差なし

表18 HCL ケースについて、乾燥状態の違いによる検出菌種数、汚染度比較

CL ケースの乾燥状態	例数	菌検出率* ¹	検出菌種数* ²	汚染度(表 6)
乾燥している	60	53.3%	0.8±1.1* ³	1.9±3.1* ⁵
液滴を認める	17	76.5%	1.8±1.3* ^{3, *4}	5.1±4.5* ^{5, *6}
液体が入っている	37	45.9%	0.8±1.0* ⁴	2.0±3.2* ⁶

*¹：平均値±標準偏差，真菌含む，
*²：平均値±標準偏差，細菌のみ，
*³⁻⁶：分散分析にて群間に差あり
(*³：p=0.002，*⁴：p=0.004，*⁵：p=0.001，*⁶：p=0.006)，
*⁷： χ^2 検定にて有意差なし

した。

SCL について、ケア用品の種別による検出菌種数、汚染度を比較したが、すべてのパラメータについてケア用品による差は認められなかった(表14)。また、汚染度によって 0 と 1 以上、および 1 以下と 2 以上にグループ分けし、ケア用品の種別との関連をみたが、統計的な有意差は認められなかった(表15)。

SCL について CL ケースの乾燥状態による菌検出率、検出菌種数、汚染度を比較した。液滴を認めるケースが最も検出率、菌種数、汚染度とも高かったが、統計的有意差は認められなかった(表16)。更に汚染度によって 0 と 1 以上、および 1 以下と 2 以上にグループ分けし、CL ケースの乾燥状態との関連をみたが、統計的な有意差は認められなかった(表17)。HCL について同様に CL ケースの乾燥状態による検出菌種数、汚染度を比較したところ、CL ケースに液滴を認めた症例は、CL ケースが乾燥、あるいは CL ケースに液体が入っている症例より、検出菌種数、汚染度ともに有意に大きかった(表18)。また、汚染度に

表19 HCL ケースについて、乾燥状態の違いによる細菌汚染度比較

CL ケースの乾燥状態	汚染度 0	汚染度 1 以上
乾燥している* ¹	32例	28例
液滴を認める* ¹ * ²	4例	13例
液体が入っている* ²	20例	17例

CL ケースの乾燥状態	汚染度 1 以下	汚染度 2 以上
乾燥している* ³ * ⁴	47例	13例
液滴を認める* ³	7例	10例
液体が入っている* ⁴	29例	8例

汚染度 0, 汚染度 1 をそれぞれ基準として、乾燥状態の違いによる細菌汚染度を比較

汚染度 0 は細菌半定量 (-), 汚染度 1 は細菌半定量 (±) が 1 菌種のみ検出を意味する

*¹~*⁴: χ^2 検定にて群間に有意差あり

(*¹: p=0.029, *²: p=0.004, *³: p=0.003, *⁴: p=0.007)

表21 シリコンハイドロゲルレンズとそれ以外の素材の SCL の比較

SCL 素材	例数	菌検出率* ¹	検出菌種数* ²	汚染度* ³
シリコンハイドロゲル	133	30.1%	0.5±0.8	0.7±1.5
それ以外	104	23.1%	0.4±1.0	0.9±2.7

SCL 素材の違いによる検出菌種数, 汚染度比較

*¹: χ^2 検定にて有意差なし

*²: 平均値±標準偏差, 真菌含む。Wilcoxon 順位和検定, 分散分析にて有意差なし

*³: 平均値±標準偏差, 細菌のみ。Wilcoxon 順位和検定, 分散分析にて有意差なし

表23 性差による検出菌種数, 汚染度比較

CL 種別	性別	例数	菌検出率* ¹	検出菌種数* ²	汚染度* ³
SCL	男	58	34.5%	0.6±0.9	1.1±2.2
	女	179	24.6%	0.7±2.9	0.8±2.1
HCL	男	34	58.8%	1.1±1.1	2.9±3.8
	女	80	47.5%	0.9±1.1	2.2±3.4

*¹: 真菌含む, χ^2 検定にて有意差なし,

*²: 平均値±標準偏差, 細菌のみ, Wilcoxon 順位和検定, 分散分析にて有意差なし,

*³: 平均値±標準偏差, 細菌のみ, Wilcoxon 順位和検定, 分散分析にて有意差なし

よって 0 対 1 以上, および 1 以下対 2 以上にグループ分けを行って CL ケースの乾燥状態との関連をみたところ, いずれのグループ分けにおいても, CL ケースに液滴を認めた症例において有意に汚染度が高かった (表19)。

真菌検出の有無と CL ケースの細菌汚染の関連を表20に示す。真菌が検出された CL ケースでは細菌の検出率, 汚染度ともに高く, SCL, HCL ともに細菌汚染と真菌汚染が関連して発生していることが示された。SCL ケースについてシリコンハイドロゲルレンズとそれ以外の SCL

表20 SCL, HCL ケースについて、真菌検出の有無と細菌汚染との関連比較

	真菌検出	細菌検出なし	細菌検出あり	汚染度
SCL	なし	169例	58例* ¹	0.4±0.8* ²
	あり	4例	6例* ¹	1.5±1.6* ²
HCL	なし	56例	50例* ³	2.2±3.4* ⁴
	あり	0例	8例* ³	5.3±4.0* ⁴

*¹: χ^2 検定にて群間に有意差あり (p=0.016)

*²: Wilcoxon 順位和検定 (p=0.004), 分散分析 (p=0.000) にて有意差あり

*³: χ^2 検定にて群間に有意差あり (p=0.010)

*⁴: Wilcoxon 順位和検定 (p=0.003), 分散分析 (p=0.016) にて有意差あり

表22 施設間の細菌検出率, 汚染度の比較

CL 種別	施設名	細菌検出なし	細菌検出あり	汚染度
SCL	A	53	13	0.8±3.0
	B	31	13	0.6±1.3
	C	22	11	0.9±1.8
	D	50	19	0.8±1.7
	E	18	25	0.8±3.9
HCL	A*	3	0	0.0±0.0
	B*	5	12	3.8±4.2
	C	15	20	2.8±3.5
	D	3	2	4.4±6.1
	E	30	24	1.6±2.9

* χ^2 検定にて AB 間のみ有意差あり (p=0.021)

ほかは χ^2 検定および分散分析にて, 施設間に有意差なし

間で, 菌検出率, 検出菌種数, 汚染度に有意な差はなかった (表21)。調査施設間における細菌の検出率, 汚染度の差を検討したところ, 2 施設間でのみ細菌の検出率に有意差が認められた (表22) が, 例数自体が非常に少ないため, 統計的な意義は少ないと考えられる。性差については, SCL ケース, HCL ケースとも, 性別による細菌検出率, 検出種数, 汚染度に有意な違いはなかった (表23)。SCL の使用期間には 2 週間交換, 1 カ月交換, 3 カ月交換の 3 種があったが, 表 8 のとおり 1 カ月交換, 3 カ月交換の使用者は少なかったため, 使用期間の違いに対する検討は行わなかった。

検出された細菌の菌種と CL 種別の関連を図 1 に示す。SCL ケースにおいても HCL ケースにおいてもグラム陰性桿菌がグラム陽性球菌より多く検出されたが, とくに HCL ケースの方が SCL ケースよりも有意に高率にグラム陰性桿菌が分離された。一方, グラム陽性球菌については逆に SCL ケースの方が HCL ケースよりも有意に高率に分離された。検出された菌種を表24に示す。SCL ケースからは coagulase-negative *Staphylococcus* (以下 CNS), HCL ケー

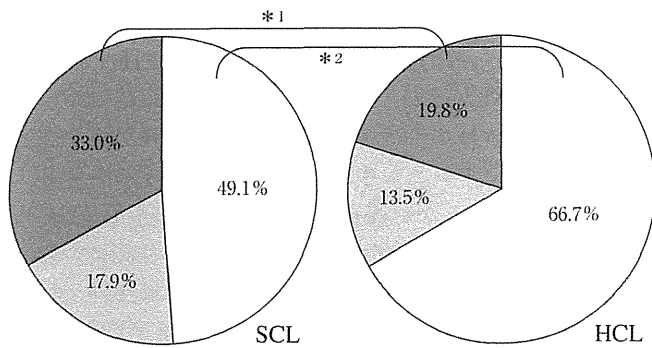


図1 細菌検出例における検出菌種とCL種別の関連
 □：グラム陰性桿菌，■：グラム陽性桿菌，■：グラム陽性球菌
 SCL：ソフトコンタクトレンズ，HCL：ハードコンタクトレンズ
 *1： χ^2 検定にて有意差あり (p=0.011)
 *2： χ^2 検定にて有意差あり (p=0.034)

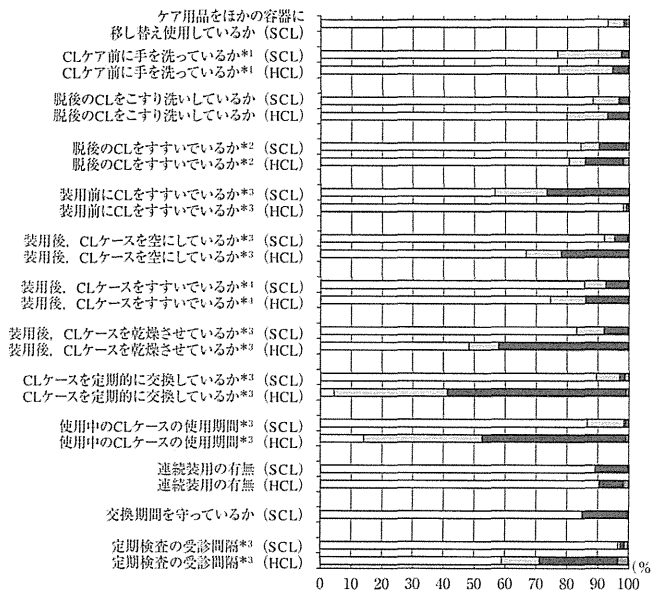


図2 使用者へのアンケートのコンプライアンス関連項目集計結果
 使用者のコンプライアンス
 □：良，■：可，■：不可，■：無回答
 *1：Wilcoxon 順位和検定，p=0.001でSCL，HCL間に有意差あり
 *2：Wilcoxon 順位和検定，p=0.013でSCL，HCL間に有意差あり
 *3：Wilcoxon 順位和検定，p=0.000でSCL，HCL間に有意差あり
 *4：Wilcoxon 順位和検定，p=0.019でSCL，HCL間に有意差あり

スからは *Serratia marcescens* (以下 *S. marcescens*) の検出が目立った。

表3のアンケート集計結果の、コンプライアンスにかかわる部分の概略を図2に示す。HCL使用者の方がSCL使用者よりコンプライアンスに劣る項目が多く、「定期検査の受診間隔」、「装用後のCLケースを空にする」、「装用後のCLケースを乾燥させる」、「CLケースを定期的に交換する」、「現用CLケースの使用期間が短い」、「装用後のCLケースをすすぐ」の項目で有意な差が認められた。逆に「装用前のCLのすすぎ」に関してはHCLの方が良好であった。細菌検出率、汚染度と有意の関連があったのは

表24 SCL ケース，HCL ケースからの検出菌種と例数

SCL			HCL		
菌種	例数	汚染度 (平均値)	菌種	例数	汚染度 (平均値)
CNS	27	1.2	<i>S. marcescens</i>	17	3.1
<i>Bacillus subtilis</i>	17	1.2	CNS	13	1.5
<i>Micrococcus</i>	8	1.4	<i>A. xylosoxidans</i>	10	3.1
GNF-GNR	7	2.3	<i>Bacillus subtilis</i>	10	1.7
<i>Acinetobacter</i> sp.	7	2.6	<i>Chryseobacterium</i> sp.	6	3.2
<i>Steno. maltophilia</i>	7	2.6	<i>Micrococcus</i>	6	2.5
<i>P. putida</i>	5	2.2	GNF-GNR	5	2.2
<i>S. paucimobilis</i>	5	1.2	<i>Alcaligenes denitrificans</i>	4	2.8
<i>S. marcescens</i>	3	2.3	<i>E. cloacae</i>	3	3.0
<i>Chryseobacterium</i> sp.	3	2.3	<i>K. pneumoniae</i>	3	3.7
<i>A. xylosoxidans</i>	2	3.0	<i>P. fluorescens</i>	3	2.3
<i>Moraxella</i> sp.	2	1.0	<i>P. putida</i>	3	2.7
<i>P. vesicularis</i>	2	3.0	<i>Steno. maltophilia</i>	3	2.3
<i>C. acidovorans</i>	2	2.5	<i>K. oxytoca</i>	2	2.5
<i>E. cloacae</i>	1	1.0	<i>Acinetobacter</i> sp.	2	4.0
<i>K. oxytoca</i>	1	3.0	<i>C. acidovorans</i>	2	3.5
<i>P. fluorescens</i>	1	2.0	<i>Chryseo. meningosepticum</i>	2	3.0
<i>P. stutzeri</i>	1	4.0	<i>E. aerogenes</i>	2	2.0
<i>Alcaligenes denitrificans</i>	1	4.0	<i>Bacillus cereus</i>	2	2.0
<i>Chryseo. meningosepticum</i>	1	3.0	<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	1	3.0
<i>E. aerogenes</i>	1	4.0	<i>Ochrobacterium anthropi</i>	1	3.0
<i>Bacillus cereus</i>	1	1.0	<i>Oligella urethralis</i>	1	4.0
			<i>P. aeruginosa</i>	1	2.0
			<i>P. vesicularis</i>	1	2.0
			<i>S. paucimobilis</i>	1	2.0
			<i>B. cepacia</i>	1	2.0
			<i>Bacillus</i> sp.	1	2.0

GNF-GNR：ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌。
Steno.：Stenotrophomonas, *P.*：Pseudomonas, *S.*：Serratia,
A.：Achromobacter, *C.*：Comamonas, *E.*：Escherichia, *K.*：Klebsiella,
Chryseo.：Chryseobacterium

次の項目であった。「CLケア前の手洗い」については、HCL使用者においてコンプライアンス良好な方が細菌検出率が低かった。「脱後CLのすすぎ」については、SCL使用者においてコンプライアンス良好な方が汚染度が低かった。

考 察

今回のアンケートの回収率は87.8%と良好であった。謝礼は提供しておらず、帰宅後、使用中のCLケースをそのまま返送用封筒に入れるよう指示しているため、結果は実状を反映しているものと考えられる。CLケースには左右の区画が共通しているものと個別のものがある。左右個別の場合は、左右両区画のフタを開閉する手順が必要であり、後から操作する区画が汚染されやすい可能性も考えられたが、今回の結果で左右間、あるいは共通区画と個別区画間で細菌、真菌検出率に差がないことが示された(表10, 11)。今回のような調査では、左右共通区画のケースであれば共通区画を、左右区画が個別のケースであれば左右いずれかの区画を取り上げて、1症例1区画のデータを対象とすると統計処理が容易であり、妥当でもあったと考えられた。