



# Skuteczność ozonowanego oleju w formie liposomów na obniżenie liczebności flory bakteryjnej oka u pacjentów, u których operowano zaćmę

Leopoldo Spadea, MD, Elisa Zanotto, PhD, Rossana Cavallo, MD, PhD, Giuseppe Campagna, PhD, Maria Ilaria Giannico, MD, Ciro Costagliola, MD, Badacze naukowci ELOOM

**Cel:** Ocena skuteczności przeciwdrobnoustrojowej roztworu ozonowanego oleju w formie liposomów stosowanego jako terapia domowa u pacjentów poddawanych operacji zaćmy. Skuteczność przeciwdrobnoustrojowa została oceniona jako zmniejszone obciążenie bakteryjne najczęściej izolowanych bakterii w przypadkach zapalenia wnętrza gałki ocznej.

**Otoczenie:** Dwadzieścia włoskich eksperymentalnych ośrodków Badania Skuteczności Ozonowanego Oleju w Formie Liposomów na Florę Bakteryjną Oka (ELOOM) w obecności grupy badanej poddanej operacji zaćmy.

**Projekt:** Interwencyjny, nierandomizowany, porównawczy, badanie kliniczne fazy 4.

**Metody:** Łącznie 174 pacjentów poddanych operacji zaćmy podzielono na 2 grupy: grupa badana (174 oczy) przeszła operację i otrzymała izotoniczny roztwór okulistyczny 0,5% oleju ozonowanego w formie liposomów z hypromelozą (2 krople 4 razy dziennie), a grupa kontrolna (174 oczy przeciwnie) otrzymała roztwór soli fizjologicznej. Kuracja trwała 3 dni.

Z obydwu oczu każdego pacjenta pobrano wymazy z worka spojówkowego w T0 (dzień przed rozpoczęciem leczenia i 4 dni przed operacją) oraz w T4 (po 3 dniach leczenia i 10 min przed operacją), które wysłano do laboratorium w ciągu 24 godzin od pobrania w celu analizy mikrobiologicznej.

**Wyniki:** 30% wymazów pobranych w T0 było sterylnych. Pozytywne wymazy wykazywały wysoką częstość występowania gronkowców koagulazo-ujemnych, w tym *Staphylococcus epidermidis*, wyizolowano również ponad 60 różnych gatunków bakterii. Po leczeniu zaobserwowano znaczne obniżenie obciążenia mikrobiologicznego (>90% próbek). Obciążenie mikrobiologiczne w grupie kontrolnej pozostało bez zmian.

**Wnioski:** Ozonowany olej w formie liposomów zmniejsza obciążenie mikrobiologiczne po jego podaniu miejscowym w dużej badanej populacji.

*J Cataract Refract Surg 2021; n:1–9 Copyright © 2021 Opublikowane przez Wolters Kluwer w imieniu ASCRS i ESCRS*

Wzrost oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe wśród powszechnych patogenów bakteryjnych stał się alarmujący w praktyce klinicznej. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) sklasyfikowała oporność na antybiotyki jako jedno z 3 najważniejszych zagrożeń dla zdrowia publicznego XXI w.<sup>1</sup> Profilaktyka przedoperacyjna ma kluczowe znaczenie dla obniżenia obciążenia bakteryjnego skóry wokół oka i spojówki przed zabiegiem chirurgicznym.<sup>2,3</sup> Pomimo dezynfekcji operowanego miejsca oraz antyseptyki powiek i spojówki przed zabiegiem, częstotliwość występowania zapalenia wnętrza gałki ocznej nasiliło się w ciągu

ostatnich kilku dekad.<sup>4</sup> Roztwór powidonu jodu (PVP-I 5%) jest obecnie stosowany w chirurgii okulistycznej w ramach profilaktyki przedoperacyjnej ze względu na jego szerokie działanie przeciwdrobnoustrojowe. Miejscowe zastosowanie kropli do oczu zawierające PVP-I 0,6% zmniejsza obciążenie bakteryjne spojówki i wzmacnia działanie dezynfekujące PVP-I 5%.<sup>5</sup> Dlatego odkrycie nowych cząsteczek, dobrze tolerowanych przez tkanki biologiczne i zdolnych do skutecznego działania przeciwbakteryjnego bez oporności na antybiotyki, może stanowić skuteczną strategię dla okulistów.

Przedłożono: 10 lutego 2021 r. | Wersję ostateczną przedłożono: 31 marca 2021 r. | Zaakceptowano: 2 kwietnia 2021 r.

Z Kliniki Okulistycznej, Policlinico Umberto I, „Sapienza” Uniwersytet w Rzymie, Rzym, Włochy (Spadea, Giannico); Zakład Mikrobiologii i Wirusologii, Szpital Uniwersytecki Città della Salute e della Scienza di Torino, Turyn, Włochy (Zanotto, Cavallo); Katedra Nauk Medyczno-Chirurgicznych i Medycyny Translacyjnej, „Sapienza” Uniwersytet w Rzymie, Rzym, Włochy (Campagna); Katedra Medycyny i Nauk o Zdrowiu „V. Tiberio,” Uniwersytet w Molise, Campobasso, Włochy (Costagliola).

Prezentowany jako plakat na 38. Kongresie ESCRS, Amsterdam, Niderlandy, 2-4 października 2020 r.

ELOOM: Badacze Skuteczności Ozonowanego Oleju w Formie Liposomów na Florę Mikrobiologiczną Oka przed operacją zaćmy zostali wymienieni w Podziękowaniach.

Autor do kontaktu: Leopoldo Spadea, MD, Klinika Oka, Policlinico Umberto I, „Sapienza” Uniwersytet w Rzymie, Via Benozzo Gozzoli 34, 00142 Rzym, Włochy.

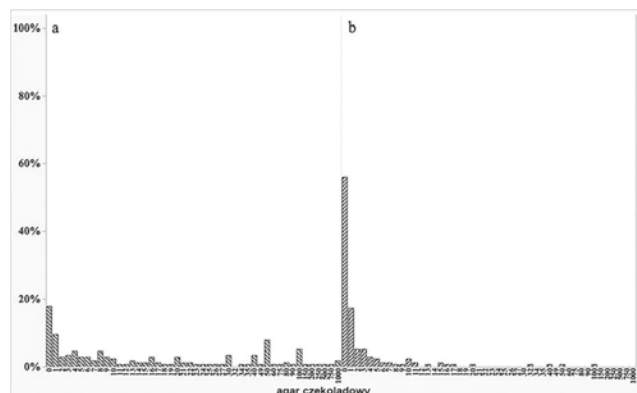
Email: [leopoldo.spadea@uniroma1.it](mailto:leopoldo.spadea@uniroma1.it).

Copyright © 2021 Opublikowane przez Wolters Kluwer w imieniu ASCRS i ESCRS

Opublikowane przez Wolters Kluwer Health, Inc.

<https://doi.org/10.1097/j.jcrs.0000000000000672>

Ozon jest najsilniejszym utleniaczem występującym w przyrodzie, o udokumentowanych właściwościach antyseptycznych i przeciwpalnych.<sup>6</sup> Ozon to cząsteczka składająca się z 3 atomów tlenu w dynamicznie niestabilnej strukturze ze względu na efekt mezoemeryczny. Pomimo tej niestabilności ozon może być stabilizowany jako dyspersja liposomalna ozonu do stosowania miejscowego.<sup>7</sup> Oleje ozonowane są silnie drażniące dla tkanki rogówki. Z tego względu niedawno opracowano specjalną formułę do użytku okulistycznego, składającą się z 0,5% oleju ozonowanego w formie liposomów oraz hypromelozy (Ozodrop, FB VISION S.p.A.).<sup>8</sup>



Rys. 1 Rozkład procentowy liczby bakterii w podłożu z agaru czekoladowego w grupie kontrolnej (a) i w grupie leczonej ozonowanym olejem w formie liposomów 0,5% plus hypromeloza (b) 3 dni po leczeniu (T4).

Ozon wspomaga uwalnianie wolnych rodników tlenowych poprzez spowodowanie syntezy nadtlenu wodoru i ponadtlenku lipidu w celu doprowadzenia do lizy i śmierci bakterii.<sup>9</sup> Ponadto pomaga również w negatywnej regulacji aktywności mitochondriów u bakterii, zaburzeniu wirusowych enzymów litycznych i wspomaga gojenie się ran ze względu na jego zdolność do uwalniania tlenu, czynnik wzrostu pochodzący z płytek i transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ .<sup>10</sup> Ponadto, jego pozytywne działanie na gojenie się ran zmniejsza ryzyko tworzenia się bliznowców, a w szczególności ryzyko zmętnienia rogówki. Wstępne wyniki wykazały, że ozon jest bezpiecznym i skutecznym środkiem antyseptycznym zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo*, na zwierzętach, jak i na ludziach.<sup>7,11,12</sup> Badanie miało na celu ocenę skuteczności przeciwdrobnoustrojowej nowego roztworu do oczu ozonowanego oleju słonecznikowego w formie liposomów i hypromelozy u pacjentów poddawanych operacji zaćmy.

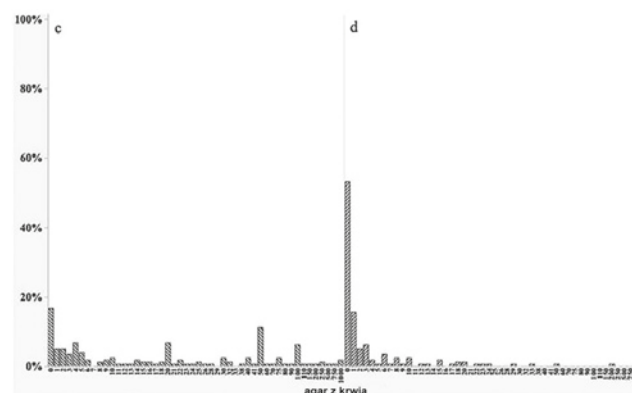
## METODY

### Projekt badania

Było to prospektywne, interwencyjne, wieloośrodkowe, nierandomizowane, porównawcze badanie kliniczne fazy 4 pod nazwą Skuteczność Ozonowanego Oleju w Formie Liposomów na Florę Bakteryjną Oka przed Operacją Zaćmy (Effectiveness of Liposomal Ozonized oil on Ocular Microbial flora before cataract surgery - ELOOM).

### Badana populacja i protokół antyseptyczny

Badana populacja składała się z pacjentów, którzy przeszli operację zaćmy w wieku 18 lat i więcej. Oceniano spełnianie kryteriów kwalifikacji przez kolejnych pacjentów wybranych do operacji zaćmy w 19 akademickich i nieakademickich ośrodkach we Włoszech. Nazwiska uczestników i nazwy instytucji zostały wymienione w sekcji podziękowań. Kryteria wykluczenia obejmowały miejscowe lub ogólnoustrojowe stosowanie antybiotyków, miejscowych środków antyseptycznych, trwające leczenie z zastosowaniem terapii miejscowych, których nie można było przerwać na czas trwania badania, stany zapalne oka lub ogólnoustrojowe stany zapalne, procesy chorobowe lub nadwrażliwość na składniki badanego produktu. Przed przeprowadzeniem jakiejkolwiek procedury związanej z badaniem, od wszystkich uczestników uzyskano świadomą zgodę oraz dokładnie objaśniono charakter



Rys. 2 Rozkład procentowy liczby bakterii w podłożu z agaru z krwią w grupie kontrolnej (c) i w grupie leczonej ozonowanym olejem w formie liposomów 0,5% plus hypromeloza (d) 3 dni po leczeniu (T4).

i cel badania. Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z założeniami Deklaracji Helsińskiej oraz Zasadami Dobrej Praktyki Klinicznej. W sierpniu 2018 r. uzyskano zgodę etyczną od Komitetu Naukowo-Technicznego Wydziału Medycyny i Nauk o Zdrowiu (Vincenzo Tiberio) na Uniwersytecie Molise, w Campobasso we Włoszech oraz w sierpniu 2020 r. od Komisji Etycznej Uniwersytetu Sapienza w Rzymie, Włochy.

Pacjentów podzielono na 2 grupy. Grupa badana składała się z uczestników poddawanych operacji zaćmy leczonych w domu za pomocą 2 kropli izotonicznego roztworu oftalmicznego, składającego się z ozonowanego oleju słonecznikowego 0,5% w formie liposomów plus hypromeloza (Ozodrop), podawanych 4 razy dziennie (o godz. 8.00, 12.00, 16.00 i 20.00). W grupie kontrolnej (oczy przeciwległe) stosowano roztwór soli fizjologicznej. Leczenie trwało 3 dni. Wymazy z worka spojówkowego (eSwab, COPAN Diagnostics) pobrano z obydwu oczu każdego pacjenta w T0 (dzień przed rozpoczęciem leczenia i 4 dni przed operacją) i T4 (3 dni po zabiegu i 10 minut przed zabiegiem) i wysłano do laboratorium w ciągu 24 godzin w celu wykonania analizy mikrobiologicznej. W czasie badania zarejestrowano zdarzenia niepożądane. Ozonowany olej w formie liposomów plus hypromeloza to sterylny lek klasy 2b ze znakiem CE wydanym przez Eurofins (CE 0477), który jest dostępny na rynku od września 2017 r.

### Zdarzenia niepożądane w obszarze oka

Zarejestrowano także zdarzenia niepożądane i powikłania w obszarze oczu związane z podawaniem kropli do oczu. Przekrwienie spojówkowe podzielono na 5 poziomów: 0, prawidłowe naczynia spojówki bez przekrwienia (brak); 1, śladowy rumień, czerwono-różowy, minimalnie rozszerzone naczynia krwionośne i normalna, dobrze widoczna twardówka (śladowe); 2, łagodny rumień, czerwono-różowy, lekko zwiększona gęstość poszerzonych naczyń głębokich i różowy wygląd twardówki (łagodne); 3, jasny czerwony kolor, mocno kręte i nabrziałe naczynia głębokie oraz widoczna minimalnie biała tkanka twardówki (umiarkowane); 4, głębokie jasne rozlane zaczerwienienie, gęsta sieć nabrziałych naczyń i brak widocznej normalnej białej tkanki twardówki (ostre). Po wizycie początkowej oceniana była także satysfakcja pacjenta za pomocą 10-punktowej wizualnej skali analogowej (0 = bardzo komfortowe; 1-3 = niewielki dyskomfort; 4-6 = umiarkowany dyskomfort; i 7-10 = silny dyskomfort).

### Kultury bakteryjne

Od czerwca 2019 r. do grudnia 2020 r. przyjęto 174 pacjentów w Zakładzie Mikrobiologii i Wirusologii Szpitala Uniwersyteckiego Città della Salute e della Scienza di Torino w Turynie we Włoszech. Od każdego pacjenta pobrano wymazy z worka spojówkowego z obydwu oczu (ostrożnie unikając kontaktu wymazówki z rzęsami) za pomocą eSwab. eSwab składa się ze sterylnej opakowania zawierającego 2 składniki: wstępnie oznakowaną polipropylenową probówkę z zakrętką ze stożkowym lub okrągłym dnem, wypełnioną 1 mL podłoża transportowego oraz wymazówkę do pobierania próbek, której końcówka wykonana jest z flokowanego nylonu. Podłoże transportowe jest medium konserwującym zawierającym nieorganiczny bufor fosforanowy, wapń i sole magnezu oraz chlorek sodu w warunkach redukcyjnych ze względu na obecność tioglikolanu sodu i może podtrzymywać żywotność wielu organizmów. Łącznie laboratorium otrzymało 460 próbek (230 wymazów z worka spojówkowego w 2 różnych czasach: T0 i T4). Natychmiast po dostarczeniu do laboratorium (transport chłodniczy), próbki zostały umieszczone w mieszalniku w celu homogenizacji podłoża transportowego, z którego 300 µL zostało następnie umieszczone na agarze czekoladowym, a 300 µL na agarze beztlenowym BD Centers for Disease Control (CDC) z 5% krwią owczą (SB). Agar czekoladowy jest nieselektywnym podłożem do izolowania wymagających organizmów z próbek klinicznych, zawierającym pepton proteozowy, strawioną wątrobę i wyciąg z drożdży jako źródła azotu i witamin. Równowagę osmotyczną utrzymywano za pomocą chlorku sodu. Krew końska zdenaturowana termicznie dostarcza, oprócz różnych składników odżywczych, czynnik X (hem) oraz czynnik V (dinukleotyd nikotynamidoadeninowy, NAD). Agar beztlenowy BD CDC + 5% SB jest nieselektywnym podłożem do izolowania i hodowli wymagających obligatoryjnych beztlenowców z próbek klinicznych. Agar beztlenowy CDC z 5% SB został opracowany jako wzbogacone, nieselektywne podłoże do izolowania i hodowli szerokiego zakresu bezwzględnie beztlenowych bakterii. Podłoże zawiera agar tryptonowo-sojowy wzbogacony agarem jako bazą odżywczą. Równowagę osmotyczną utrzymywano za pomocą chlorku sodu. SB, hemin, cystyna i witamina K1 zostały dostarczone jako czynniki wzrostu potrzebne w przypadku beztlenowców bezwzględnych. Objętość 300 µL została wybrana, aby umożliwić operatorowi uzyskanie odpowiedniej liczby kolonii bakteryjnych; wartości mniejsze i większe od 300 µL nie pozwalają na prawidłowe oszacowanie obciążenia bakteryjnego występującego w spojówce. Płytki inkubowano przez 48 godzin w temp. 37°C w stanie anaerobiozy (CDC beztlenowy + 5% SB) lub w temp. 37°C przy 5% CO<sub>2</sub> (agar czekoladowy). Kolonie liczone makroskopowo, a następnie zidentyfikowano mikroorganizmy tworzące kolonie z wykorzystaniem laserowej jonizacji próbki wspomaganej matrycą z detektorem czasu przelotu (spektrometria mas MALDI-TOF). MALDI-TOF jest skuteczną techniką analitycznej spektrometrii mas, która wyznacza masę cząsteczkową z próbki, która została osadzona w matrycy za pomocą lasera do ablacji i desorpcji cząsteczek przy minimalnej fragmentacji.<sup>13</sup> Aby przeprowadzić analizę MALDI-TOF, z płytki hodowlanej pobrano kolonię do miejsca na płytce docelowej MALDI-TOF; wiele szczepów można przetestować jednocześnie na tym samym preparacie. Następnie dodano 1 µL matrycy (substancja bogata w protony sprzyjające jonizacji próbki i z dużą absorpcją do pochłaniania promieniowania laserowego z dużą wydajnością), a płytkę umieszczono w komorze jonizacyjnej spektrometru mas. Cząsteczki z próbki zostały zjonizowane w powstałym gorącym strumieniu gazów po ablacji i wprowadzone do spektrometru masowego z analizatorem czasu przelotu (TOF), który odnotował stosunek masy do ładunku jonu (m/z).

Osiągnięto to dzięki pomiarowi czasu potrzebnego jonom do przebycia danej długości z przyspieszeniem przez pole elektryczne o znanym natężeniu. Otrzymane widmo masowe powstało z próbki (tj. położenie i względna intensywność) wykrytych pików m/z, generując wyraźny profil dla konkretnej próbki. Unikalność widm masowych może być wykorzystana w celu identyfikacji, gdy dostępne jest porównawcze widmo referencyjne. Wszystkie uzyskane wyniki porównano z bazą danych widm masowych za pomocą oprogramowania, co skutkuje identyfikacją organizmu.

### Wielkość próby

Badanie zostało skonfigurowane jako projekt porównawczy. U każdego pacjenta 1 oko było leczone przy użyciu oleju ozonowanego w formie liposomów i hypromelozy, natomiast przeciwległe oko wykorzystano jako kontrolę. Badanie oceniało różnicę czasu (dzień przed rozpoczęciem leczenia vs. po 3 dniach leczenia) między leczeniem olejem ozonowanym w formie liposomów i hypromelozą oraz kontrolą. Ponieważ odchylenie standardowe różnicy pomiędzy leczeniem a kontrolą między wielkościami przedoperacyjnymi i pooperacyjnymi (ogólnie nieznane) nie było znane, przeprowadzono badanie pilotażowe w celu uzyskania tych nieznanymi danych.<sup>14</sup> Aby dane były mniej zmienne, z uwagi na fakt, że liczba bakterii była dodatnio skośna, zastosowano przekształcenie logarytmiczne. Odchylenie standardowe różnic oszacowano na poziomie  $\pm 0,69$ . Między obydwoimi oczami istnieje dodatnia korelacja, co zostało również potwierdzone w badaniu pilotażowym.<sup>15,16</sup> Zakładając średnią różnicę (klinicznie prawdopodobną) między leczeniem i brakiem leczenia ( $d = 0,16$ ), potrzebna była wielkość próby  $n_{par} \cong 145$ , przy  $\alpha = 0,05$  i mocy 80%, zgodnie z poniższym:

$$n_{par} = \frac{Z_{1-\frac{\alpha}{2}} - Z_{1-\beta} \times SD_{diff}^2}{d^2}$$

Biorąc pod uwagę odsetek porzucania na poziomie 20%, obliczono, że wielkość próby powinna wynosić co najmniej 174 pary oczu.

### Analiza statystyczna

Zmienne ciągłe są przedstawione jako średnia  $\pm$  SD i/lub mediana (95% przedział ufności, min. do maks.). Zmienne kategoryczne są przedstawione jako częstotliwości bezwzględne i procenty. Rysunek 1, a i b oraz Rysunek 2, c i d przedstawiają rozkład liczby kolonii w 2 grupach (kontrola [a, c] po 3 dniach i olej ozonowany 0,5% w formie liposomów plus hypromeloza [b, d] po 3 dniach leczenia [T4]). Obie grupy wykazują wysoce dodatnią skośność, w większości wartości są niskie, stosunkowo niewiele jest wysokich wartości i duży jest udział zer. W takich przypadkach do analizy danych przyjęto model z nadwyżką zer, aby uniknąć niewłaściwego określenia modelu ze względu na obecność nadmiarowych zer, co może skutkować błędnymi lub niespójnymi estymatorami. W tym badaniu wykorzystano model ujemny dwumianowy z nadwyżką zer (ZINB) z powtarzanymi pomiarami tego samego badanego. Model ZINB jest szczególnie odpowiedni dla zmiennych z 2 różnymi procesami: jednym wpływającym na występowanie i drugim, który ma wpływ na częstotliwość występowania. Rozkład zmiennej wynikowej aproksymowano poprzez połączenie 2 modeli i 2 rozkładów. Pierwszy model oparty jest na regresji logistycznej i przewiduje brak występowania.<sup>17</sup> Kombinację uogólnionego modelu liniowego oraz nieliniowego modelu mieszanego wykorzystano do oszacowania korelacji liczebności kolonii w agarze czekoladowym i agarze z krwią u badanego.<sup>18-20</sup> Kombinacja ta była konieczna, ponieważ nie występuje jedna procedura, w której rozkład ZINB i korelacja między oczami byłyby rozważane jednocześnie. Uogólniony model liniowy zastosowano do oszacowania

parametrów, które w konsekwencji zostały podstawione w nieliniowym modelu mieszanym, gdzie zaimplementowano rozkład ZINB wraz z korelacją pomiędzy oczami.

Drugi model badał częstotliwość występowania zdarzenia za pomocą ujemnej regresji dwumianowej. Ujemna regresja dwumianowa jest rozszerzeniem regresji Poissona i ma większą od niej elastyczność w modelowaniu związku między wariancją warunkową a średnią warunkową.<sup>17</sup> Model ZINB daje 2 zbiory współczynników: 1 przewidujący, czy zdarzenie miało miejsce (część logistyczna) i 1 przewidujący częstotliwość występowania zdarzenia (dwumian ujemny). Ponieważ model ZINB jest modelem mieszanym, predyktory dla 2 części modelu mogą być różne.<sup>17</sup> Liczebność kolonii na początku badania została uznana za współzmienną w tym badaniu, gdyż w tym punkcie czasowym efekt leczenia nie był zauważalny.<sup>21,22</sup> W celu potwierdzenia wyników, zastosowano inną metodę, opartą na proporcjonalnym ilorazie szans. Zmienna liczebność (agar czekoladowo i agar z krwią w dniu przed rozpoczęciem leczenia i po 3 dniach leczenia) została zdyskretyzowana na 3 klasy (0-10, 11-100 i 101-1000). Następnie zastosowana zo-

stała wielomianowa regresja logistyczna z użyciem polecenia REPEATED celem zbadania skorelowanych oczu. Regresja ta brała pod uwagę zmienną objaśnianą z więcej niż 2 kategoriami na skali porządkowej. Skumulowany model logitowy proporcjonalnych szans pasuje do danych w tym badaniu.<sup>23,24</sup> Celem była ocena ilorazu szans leczenia (olej ozonowany 0,5% w formie liposomów plus hypromeloza vs. kontrola) w stosunku do zmiennej objaśnianej i zmiennej licznik na początku badania jako współzmiennnej. Porównanie agaru czekoladowego i agaru z krwią z dnia poprzedzającego rozpoczęcie leczenia vs. dzień przed rozpoczęciem leczenia i po 3 dniach leczenia vs. po 3 dniach leczenia było oceniane za pomocą testu Wilcozona. Regresję Poissona wykorzystano do oceny różnic między współczynnikami gatunków zgodnie z leczeniem i policzenia kategorii agaru czekoladowego i agaru z krwią po 3 dniach leczenia (T4).

Analiza statystyczna została przeprowadzona przy użyciu SAS v. 9.4 i JMP Pro v.15 (SAS Institute). Wartość P mniejszą niż 0,05 uznano za statystycznie istotną.

**Tabela 1. Gatunki bakterii wyizolowane w tym badaniu**

| Gram-dodatnie (52 gatunki)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                               | Gram-ujemne (12 gatunków)                                                       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Gronkowce koagulazo-ujemne:<br>Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saccharolyticus, Staphylococcus hominis, Staphylococcus pasteurii, Staphylococcus capitis, Staphylococcus caprae, Staphylococcus warneri, Staphylococcus lugdunensis, Staphylococcus pettenkoferi, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus schleiferi, Staphylococcus cohnii i Staphylococcus haemolyticus<br>Staphylococcus aureus<br>Streptococcus spp., Streptococcus salivarius, Streptococcus faecalis, Streptococcus sanguinis, Streptococcus parasanguinis, Streptococcus mitis, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus intermedius, Streptococcus oralis i Streptococcus gordonii<br>Granulicatella spp. | Micrococcus spp.                                                                                                                              | Pseudomonas aeruginosa                                                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Propionibacterium acnes<br>Finegoldia magna                                                                                                   | Haemophilus influenzae<br>Neisseria macacae i Neisseria subflava                |
| Kytococcus schroeteri                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Microbacterium hydrocarbonoxydans<br><br>Corynebacterium spp., Corynebacterium macginleyi, Corynebacterium bovis i Corynebacterium propinquum | Veillonella spp., Veillonella atypica i Veillonella dispar<br>Proteus mirabilis |
| Micrococcus spp. i Micrococcus luteus                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                               | Escherichia coli<br>Pasteurella canis                                           |
| Kocuria spp., Kocuria rhizophila, Kocuria palustris i Kocuria kristinae                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Cutibacterium acnes i Cutibacterium avidum<br><br>Bacillus megaterium, Bacillus licheniformis, Bacillus cereus i Bacillus subtilis            |                                                                                 |
| Rothia spp., Rothia mucilaginosa, Rothia dentocariosa i Rothia aeria<br>Dermabacter hominis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Actinomyces odontolyticus                                                                                                                     | Klebsiella oxytoca<br><br>Moraxella nonliquefaciens                             |

## WYNIKI

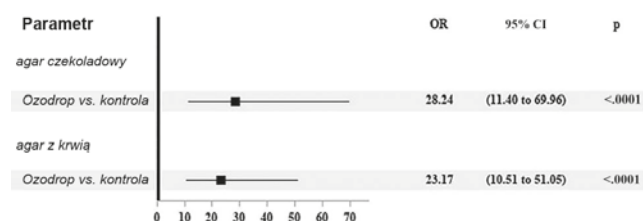
Wymazy pobrane w T0 były sterylne w 30% przypadków. Dodatkowo wymazówki charakteryzowały się wysoką częstotliwością występowania gronkowców koagulazo-ujemnych (CoNS; w tym *Staphylococcus epidermidis*) co jest zgodne z danymi ESCRS.25 CoNS wyizolowano w 66,8% wymazów, *Staphylococcus aureus* w

13,9%, a inne gatunki, w tym bakterie Gram-dodatnie, takie jak *Streptococcus mitis* i *Micrococcus* spp. oraz bakterie Gram-ujemne, takie jak *Pseudomonas aeruginosa* i *Proteus mirabilis* zidentyfikowano z mniejszą częstotliwością. W tabeli 1 wymieniono gatunki bakterii wyizolowanych w tym badaniu. Ponad 90% pró-

bek wykazało znaczne zmniejszenie (>90%) obciążenia mikrobiologicznego po miejscowym leczeniu olejem ozonowanym w formie liposomów. Obciążenie mikrobiologiczne w grupie kontrolnej pozostało na niezmiennym poziomie. Tolerancja roztworu przez oczy była optymalna ze względu na jego charakter liposomalny. Rysunek 3 przedstawia wyniki wielomianowej regresji logistycznej z kategoriami agaru czekoladowego i agaru z krwią po 3 dniach (T4) jako zmienne objaśniane. W obu kategoriach leczenie olejem ozonowanym 0,5% w formie liposomów z hypromelozą wywołało statystycznie istotną różnicę ( $P < .0001$ ), z ilorazem szans wynoszącym odpowiednio 28,24 (95% CI 11,40 do 69,96) i 23,17 (95% CI 10,51 do 51,05).

Tabele 2 i 3 przedstawiają szacunkowe parametry regresji ZINB dla agaru czekoladowego i agaru z krwią pod koniec badania, wskazujące, że oszacowanie zmiennych leczenia ( $\beta_2$ ) było istotne ( $P < .0001$  dla obu). Agar czekoladowy i agar z krwią były również powiązane ze zmiennymi objaśniającymi (odpowiednio:  $P = .0001$  i  $P = .0002$ ). W części logistycznej tabel 2 i 3, dodatnie wartości szacunkowe ( $g_2$ ) były istotne ( $P = .026$  i  $P = .0021$ ). W modelach tych liczebność w przypadku wartości wyjściowych była związa-

na zarówno z agarem czekoladowym jak i agarem z krwią (odpowiednio  $P = .0001$  i  $P = .0002$ ). Współczynniki dla części liczbowej modelu mogą być interpretowane przez potęgowanie współczynników regresji przez umieszczenie przewidywanych wartości wyniku na jego oryginalnej skali. Współczynniki regresji logistycznej były oparte na modelu logitowym, tym samym potęgując wartości przekształcone do ilorazu szans. Część logistyczna przewidywała brak wyniku; współczynniki te należy interpretować starannie, ponieważ wyniki uzyskano w modelowaniu logitowym.



Rys. 3 Iloraz szans (OR) w wielomianowej regresji logistycznej wg klas agaru czekoladowego i agaru z krwią po 3 dniach leczenia (T4).

| Tabela 2. Wartości szacunkowe $\beta$ i $Y$ dla agaru czekoladowego |                    |               |              |         |           |            |
|---------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------|--------------|---------|-----------|------------|
| Parametr                                                            | Średnia $\pm$ SE   | 95% CI        | Exp(średnia) | %       | Wartość P | Gradient   |
| Część dot. liczby                                                   |                    |               |              |         |           |            |
| $\beta_0$                                                           | 2,94 $\pm$ 0,16    | 2,63, 3,25    | 23,81        | 2280,75 | <.0001    | - 1,95E-06 |
| $\beta_1$                                                           | 0,003 $\pm$ 0,0009 | 0,002, 0,005  | 1,00         | 0,30    | .0001     | 1,90E-06   |
| $\beta_2$                                                           | -2,51 $\pm$ 0,20   | -2,91, -2,10  | 0,08         | -91,87  | <.0001    | - 1,52E-06 |
| $\sigma^2$                                                          | 1,10 $\pm$ 0,12    | 0,85, 1,35    |              |         | <.0001    | 2,31E-06   |
| Część logistyczna                                                   |                    |               |              |         |           |            |
| $Y_0$                                                               | -1,19 $\pm$ 0,48   | -2,14, -0,24  |              |         | .014      | 4,23E-06   |
| $Y_1$                                                               | -0,26 $\pm$ 0,13   | -0,51, -0,006 |              |         | .045      | 8,86E-06   |
| $Y_2$                                                               | 1,37 $\pm$ 0,61    | 0,16, 2,57    |              |         | .026      | 2,65E-06   |
| $\sigma^2$                                                          | 0,82 $\pm$ 0,99    | -1,14, 2,77   |              |         | .41       | 1,35E-06   |
| K                                                                   | 1,17 $\pm$ 0,20    | 0,77, 1,56    |              |         | <.0001    | 2,91E-06   |

Wartości  $\beta$  reprezentują współczynniki dla części dot. liczebności, natomiast wartości  $Y$  są współczynnikami dla części zerowej

Część dot. liczebności:  $\log(\mu_i) = \beta_0 + \beta_1 \times \text{agar czekoladowy na początku badania} + \beta_2 \times \text{leczenie} + u_i$

Część logistyczna:  $\text{logit}(\text{probi}) = Y_0 + Y_1 \times \text{agar czekoladowy na początku badania} + Y_2 \times \text{leczenie} + v_i$

Obecność nadmiarowych zer wskazuje na duże prawdopodobieństwo nadmiernej dyspersji. Analiza danych wykazała, że wariancja była znacznie wyższa niż średnia (agar czekoladowy na koniec badania: grupa leczona olejem ozonowanym w formie liposomów plus hypromeloza, średnia = 2,98 i wariancja = 90,93, grupa kontrolna, średnia = 45,62 i wariancja = 20 827,01; agar z krwią na koniec badania: grupa leczona olejem ozonowanym w formie liposomów plus hypromeloza, średnia = 4,22 i wariancja = 259,76, grupa kontrolna, średnia = 51,01 i wariancja = 2980,90); pokazuje to nadmierną dyspersję, a model z rozkładem Poissona nie został dostosowany. Iloraz szans wynoszący 28,24 i 23,17 wskazuje, że grupa leczona ozonowanym olejem w formie liposomów plus hypromeloza uzyskała znacznie lepsze wyniki niż grupa kontrolna. W tabelach 2 i 3, wartości  $\beta_2 = -2,51 \pm 0,20$  (agar czekoladowy) i  $\beta_2 = -2,51 \pm 0,19$  (agar z krwią) były istotne statystycznie w obu regresjach, co wskazuje, że olej ozonowany w formie liposomów i hypromeloza obniżył liczbę bakterii w stosunku do grupy kontrolnej. Model dopasował odpowiednio dane ponieważ wartość  $k$  (dyspersja) wynosiła w przybliżeniu jeden, wartości wariancji ( $\sigma^2$  i  $\sigma^2$ ) były niskie, a wszystkie gradienty były niższe niż 10 do 3. Zarówno w agarze czekoladowym, jak i w agarze z krwią, lecze-

nie olejem ozonowanym w formie liposomów plus hypromeloza zredukowało liczbę bakterii o prawie 92% po 3 dniach, zgodnie z Tabelą 2 i 3. Dodatnia wartość szacunkowa  $g_2$  w tabelach 2 i 3 (odpowiednio 1,37 i 1,77 dla agaru czekoladowego i agaru z krwią) wskazuje, że istniało prawdopodobieństwo, iż osoby leczone olejem ozonowanym w formie liposomów plus hypromeloza należą do klasy „zero gatunków” (oryg. zero-species class). Rysunki 1 i 2 pokazują większą redukcję liczebności kolonii w przypadku oczu leczonych olejem ozonowanym w formie liposomów plus hypromeloza niż w grupie kontrolnej. Trend ten został potwierdzony przy pomocy metod zastosowanych do danych w tabelach 2 i 3. Tylko 3 (1,72%) ze 174 pacjentów zgłosiło zdarzenia niepożądane w leczonym oku; wykryto minimalne przekrwienie spojówki. Zgodnie z Tabelą 4, nie odnotowano żadnych innych oznak zmian w obszarze spojówek (wydzielina i brodawki). Analiza komfortu wykazała, że 167 pacjentów (95,98%) nie odczuwało żadnego dyskomfortu w oku, natomiast łagodny dyskomfort wystąpił u 6 pacjentów (3,45%). Nie zaobserwowano nieprawidłowości lub innych istotnych skutków ubocznych w obszarze rogówki. Żaden ze 174 pacjentów nie wykazywał oznak zapalenia gałki ocznej po zabiegu chirurgicznym zaćmy.

Tabela 3. Wartości szacunkowe  $\beta$  i  $\gamma$  w agarze z krwią

| Parametr          | Średnia $\pm$ SE   | 95% CI       | Exp(średnia) | %       | Wartość P | Gradient  |
|-------------------|--------------------|--------------|--------------|---------|-----------|-----------|
| Część dot. liczby |                    |              |              |         |           |           |
| $\beta_0$         | 3,17 $\pm$ 0,15    | 2,87, 3,47   | 23,57        | 2257,06 | <.0001    | 9,54E-07  |
| $\beta_1$         | 0,002 $\pm$ 0,0007 | 0,001, 0,004 | 1,00         | 0,30    | .0002     | 7,20E-05  |
| $\beta_2$         | -2,51 $\pm$ 0,19   | -2,88, -2,15 | 0,08         | -91,87  | <.0001    | 1,24E-06  |
| $\sigma^2$        | 1,11 $\pm$ 0,13    | 0,86, 1,35   |              |         | <.0001    | -9,14E-08 |
| Część logistyczna |                    |              |              |         |           |           |
| $\gamma_0$        | -1,47 $\pm$ 0,58   | -2,61, -0,33 |              |         | .012      | 3,67E-07  |
| $\gamma_1$        | -0,32 $\pm$ 0,13   | -0,58, -0,06 |              |         | .017      | 3,63E-06  |
| $\gamma_2$        | 1,77 $\pm$ 0,76    | 0,27, 3,28   |              |         | .021      | 6,99E-08  |
| $\sigma^2$        | 1,91 $\pm$ 0,88    | 0,17, 3,65   |              |         | .032      | 8,57E-07  |
| K                 | 1,12 $\pm$ 0,19    | 0,84, 1,59   |              |         | <.0001    | -9,60E-08 |

Wartości  $\beta$  reprezentują współczynniki dla części dot. liczebności, natomiast wartości  $\gamma$  są współczynnikami dla części zerowej

Część dot. liczebności:  $\log(\mu_i) = \beta_0 + \beta_1 \times \text{agar z krwią na początku badania} + \beta_2 \times \text{leczenie} + u_i$

Część logistyczna:  $\text{logit}(\text{probi}) = \gamma_0 + \gamma_1 \times \text{agar z krwią na początku badania} + \gamma_2 \times \text{leczenie} + v_i$

Tabela 4. (A) Raport na temat zdarzeń niepożądanych (OAE) i (B) Raport Dot. analizy Wizualnej Skali Analogowej (VAS) w grupie leczonej olejem ozonowanym 0,5% w formie liposomów plus hypromeloza

| (A) OAE                      | Poziom            |                      |                        |                  |           | wartość P |
|------------------------------|-------------------|----------------------|------------------------|------------------|-----------|-----------|
|                              | Brak              | Śladowe              | Łagodne                | Umiarkowane      | Ostre     |           |
| Przekrwienie spojówek, n (%) | 171 (98,28)       | 3 (1,72)             | 0 (0,00)               | 0 (0,00)         | 0 (0,00)  | <.0001    |
| Wydzielina spojówkowa, n (%) | -                 | -                    | -                      | -                | -         |           |
| Brodawki spojówkowe, n (%)   | -                 | -                    | -                      | -                | -         |           |
| Zmiany rogówki, n (%)        | -                 | -                    | -                      | -                | -         |           |
| Zapalenie rogówki, n (%)     | -                 | -                    | -                      | -                | -         |           |
| Ból oka, n (%)               | -                 | -                    | -                      | -                | -         |           |
| (B) VAS                      | Bardzo komfortowe | Niewielki dyskomfort | Umiarkowany dyskomfort | Silny dyskomfort | Wartość P |           |
| Komfort, n (%)               | 167 (95,98)       | 6 (3,45)             | 1 (0,57)               | 0 (0,00)         | <.0001    |           |

Analiza post hoc: komfortowe do bardzo komfortowego vs. niewielki dyskomfort:  $P < .0001$ ; bardzo komfortowe vs. umiarkowany dyskomfort:  $P < .0001$ .

## OMÓWIENIE

Okolice oczu i spojówka mają znaczne obciążenia mikrobiologiczne, które tworzą mikrobiotę oka i odgrywają ważną rolę w utrzymaniu równowagi powierzchni oka.<sup>26</sup> W szczególności *S. aureus* i CoNS są najczęściej izolowanymi gatunkami.<sup>27</sup> Aby zminimalizować ryzyko infekcji, kluczowe znaczenie ma zmniejszenie obciążenia bakteryjnego spojówki. Zgodnie z wytycznymi ESCRS dotyczącymi profilaktyki i leczenia zapalenia wnętrza gałki ocznej po operacji zaćmy, obowiązkowym krokiem w celu zmniejszenia obciążenia bakteryjnego w obszarze rany jest podanie PVP-I 5% do 10% na rogówkę, do worka spojówkowego i w okolicy okołogalkowej co najmniej 3 minuty przed operacją. Jeśli występują przeciwwskazania do zastosowania PVP-I (prawdziwa alergia występuje rzadko, a nadczynność tarczycy stanowi względne przeciwwskazanie do jednorazowego podania), można zastosować wodny roztwór chlorheksydyny 0,05%.<sup>25</sup> PVP-I jest skutecznym środkiem antyseptycznym stosowanym w chirurgii ogólnej i okulistycznej jako profilaktyka infekcji.<sup>28</sup>

Dane przedkliniczne wskazują, że PVP-I ma szerokie działanie antydrobnoustrojowe przeciwko gram-dodatnim i gram-ujemnym izolatom bakteryjnym i adenowirusom.<sup>29,30</sup> Ostatnio Ta i wsp. zgłosili wielośrodkowe, randomizowane, wykonane metodą podwójnie ślepej próby badanie kliniczne fazy 3, oceniające skuteczność i bezpieczeństwo połączenia stosowanej miejscowo zawiesiny do oczu PVP-I 0,6% i deksametazonu (DEX) 0,1% w ostrym bakteryjnym zapaleniu spojówek.<sup>31</sup> Osoby włączone do badania zostały podzielone losowo na 3 grupy, które otrzymały PVP-I 0,6% /DEX 0,1%, sam PVP-I 0,6% lub placebo. Do placebo dodano chlorek benzalkoniowy (0,01%) jako środek konserwujący, ale nie został uwzględniony w leczeniu PVP-I/DEX lub PVP-I, ponieważ PVP-I działa jak konserwant. Pierwotnym punktem

końcowym było ustąpienie objawów klinicznych w badanym oku, a kluczowym wtórnym punktem końcowym w ocenie skuteczności była eradykacja bakterii, oceniana po 5 dniach leczenia. Badanie nie wykazało statystycznie istotnych różnic między grupami poddawanych leczeniu zarówno dla pierwotnego jak i wtórnego punktu końcowego. Autorzy postawili hipotezę, że wynik badania determinowała niewystarczająca dawka PVP-I i zasugerowali, że najwyższe stężenie wolnego jodu w tym zakresie dawek i skumulowane działanie przeciwdrobnoustrojowe mogło być krótkotrwałe, ponieważ dostępny jod jest szybko zużywany w reakcji z bakteriami.<sup>31</sup> To może wyjaśniać brak skuteczności PVP-I/DEX w tym badaniu. Ponadto, jako że chlorek benzalkoniowy jest środkiem przeciwdrobnoustrojowym i kationowym środkiem powierzchniowo czynnym, może być skuteczny w leczeniu bakteryjnego zapalenia spojówek, przyczyniając się tym samym do braku różnic w skuteczności między grupą poddawaną leczeniu a grupą otrzymującą placebo.<sup>31</sup> Reibaldi i wsp. zweryfikowali skuteczność kropli do oczu PVP-I 0,6% bez konserwantów w zmniejszaniu obciążenia bakteryjnego spojówki u pacjentów poddawanych iniekcji przeciwnaczyniowego śródbłonkowego czynnika wzrostu do ciała szklistego.<sup>5</sup> Badanie przeprowadzono na 508 pacjentach (254 leczonych i 253 z grupy kontrolnej). Wzrost bakteryjny z kultur z wymazu ze spojówki był istotnie niższy w grupie leczonej PVP-I niż na początku badania w grupie kontrolnej.

Poszukiwanie dodatkowych terapii stosowanych miejscowo o szerokim spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego, dopuszczalną tolerancją oraz niskim potencjale do rozwoju oporności doprowadziły do olejów ozonowanych, które przeżywały wzrost zainteresowania wśród naukowców i zwiększenie zastosowań klinicznych. Wykazano, że ozon zarówno w postaci gazowej jak i w

formie roztworu wodnego jest silnym i niezawodnym środkiem przeciwbakteryjnym. Ma możliwość zabicia wszystkich znanych rodzajów bakterii gram-dodatnich i gram-ujemnych, w tym bakterii wyjątkowo opornych, takich jak *Escherichia coli* i wieloopornego *S aureus*.<sup>32-35</sup> Ten efekt przeciwdrobnoustrojowy jest związany z ozonolizą lub utratą integralności otoczki komórek bakteryjnych poprzez utlenianie fosfolipidów i lipoprotein, oprócz uszkodzenia bakteryjnej błony cytoplazmatycznej.<sup>32</sup> Działanie to jest niespecyficzne i selektywne wobec komórek drobnoustrojowych i może również odgrywać ważną rolę w przypadkach bakterii opornych.<sup>35</sup> Wykazano, że ozon hamuje wzrost komórek u grzybów na pewnych etapach i wywołuje uszkodzenie kapsydów wirusowych, przerywając ich cykl reprodukcyjny i zakłócając kontakt wirusa z komórką przez peroksydację.<sup>32</sup> Celenza i wsp. badali przeciwwgrzybicze działanie ozonowanego oleju 0,5% w formie liposomów plus hypromeloza przeciwko 4 klinicznym *Candida spp.*: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* i *Candida orthopsilosis*. Wszystkie izolaty *Candida* były wrażliwe na ozonowany olej 0,5% w formie liposomów plus hypromeloza, a po 1-godzinnej ekspozycji przy minimalnym stężeniu hamującym około 30% komórek zostało zabitych, osiągając około 70% przy najwyższej ozonowanym oleju 0,5% w formie liposomów plus hypromeloza. *Candida albicans* wykazała depolaryzację błony komórkowej, podwyższone poziomy peroksydacji lipidów, depolaryzowane  $\Delta\psi$ m i zwiększone wytwarzanie reaktywnych form tlenu. Działanie przeciwwgrzybicze kropli do oczu z ozonowanym olejem słonecznikowym powoduje zmianę w strukturze błony komórkowej. Dzieje się tak prawdopodobnie z powodu peroksydacji nienasyconych lipidów błonowych, która prowadzi do deformacji struktury i funkcjonalności błony plazmatycznej.<sup>36</sup>

Ozonowany olej w pęcherzykach liposomowych wykazał skuteczność przeciwdrobnoustrojową wobec szczepów bakterii *S aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*. Działanie bakteriobójcze przeciwko *P aeruginosa* było słabsze niż w przypadku *S aureus*. Działanie bakteriobójcze uzyskano przy stężeniu bakterii obejmującym 150 jednostek tworzących kolonie (CFU)/mL dla *S aureus*, ale przy stężeniu 15 CFU/mL dla *P aeruginosa*. Efekt był zależny od dawki w odniesieniu do objętości ozonowanego oleju w pęcherzykach liposomowych dodanego do 100  $\mu$ L zawiesiny bakteryjnej (odpowiednio 400  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 100  $\mu$ L i 50  $\mu$ L). Im wyższa dawka, tym większe działanie bakteriobójcze. Ponadto badanie przeprowadzone in vitro na linii keratynocytów wykazało, że ozonowany olej w formie liposomów nie wykazuje jakiegokolwiek toksyczności komórkowej.<sup>37</sup> Ten sam preparat został również użyty do wspomagania gojenia się ran i do leczenia niektórych patologii zapalnych i zakaźnych przedniego odcinka zarówno u ludzi, jak i zwierząt, w tym wiosennego zapalenia spojówek, ziarniniakowego zapalenia spojówek i uporczywego dystroficznego owrzodzenia rogówki.<sup>7,12</sup> Te wstępne badania in vivo wykazały, że krople do oczu na bazie ozonu mają działanie przeciwzapalne i bakteriobójcze oraz sprzyjają naprawie tkanek.

Ze względu na dużą moc oksydacyjną, olej ozonowany stosowany jest miejscowo do leczenia ran oraz infekcji wywołanych przez bakterie beztlenowe i infekcji wirusowych.<sup>38</sup> Oprócz działania bakteriobójczego, skuteczność oleju ozonowanego można również przypisać jego zdolności do rozpuszczania biofilmów.<sup>39</sup> Jest bardzo prawdopodobne, że obydwa mechanizmy działania (tj. działanie bakteriobójcze i rozpuszczanie biofilmów) przyczyniają się do określenia profilu podwyższonego bezpieczeństwa i skuteczności oleju ozonowanego.

Preparat dyspersji liposomalnej ozonu nie spowodował jakiegokolwiek uszkodzeń rogówki, stanów zapalnych lub innych oznak toksyczności komórkowej i wykazano, że zmniejsza obciążenie bakteryjne powierzchni oka u psów.<sup>40</sup> Sugeruje to potencjalne zastosowanie dyspersji liposomalnej ozonu jako przedoperacyjnego środka czyszczącego, ze względu na brak niekorzystnych zdarzeń i odnotowany wysoki wskaźnik satysfakcji (tab. 4).

Podsumowując, nasze wyniki wykazały, że zastosowanie miejscowo leczenia przy użyciu ozonowanego oleju w formie liposomów u dużej badanej populacji spowodowało znaczne zmniejszenie obciążenia drobnoustrojowego spojówki, zmniejszając obciążenie patogenami, które mogą powodować infekcję okołoperacyjną. Działanie antyseptyczne, wraz z brakiem toksyczności lub alergizacji sugeruje, że ozonowany olej w formie liposomów może być uważany za bezpieczny i skuteczny adiuwant w profilaktyce domowej, poprawiając w ten sposób przedoperacyjne procedury profilaktyczne w chirurgii zaćmy.

Podziękowania

Badacze ELOOM: Irene Abicca, MD<sup>5</sup>, Giovanni Alessio, MD<sup>6</sup>, Alexander Shehani, MD<sup>1</sup>, Stefano Baiocchi, MD<sup>7</sup>, Domenico Bocuzzi, MD<sup>8</sup>, Paolo Bottino, PhD<sup>2</sup>, Silvia Calafiore, MD<sup>9</sup>, Sandra Carità, MD<sup>10</sup>, Giovanna Carnovale Scalzo, MD<sup>11</sup>, Andrea Corsi, MD<sup>12</sup>, Giorgio Cusati, MD<sup>13</sup>, Alessandro Di Maggio, MD<sup>7</sup>, Erminia D'Ugo, MD<sup>14</sup>, Romolo Fedeli, MD<sup>15</sup>, Alessandro Franchini, MD<sup>16</sup>, Iacopo Franchini, MD<sup>16</sup>, Alessandro Galantuomo, MD<sup>17</sup>, Cristiana Iaculli, MD<sup>18</sup>, Antonio Laborante, MD<sup>19</sup>, Gregorio Lo Giudice, MD<sup>10</sup>, Massimo Lorusso, MD<sup>20</sup>, Leonardo Mastropasqua, MD<sup>14</sup>, Tommaso Micelli Ferrari, MD<sup>20</sup>, Roberto Muscella, MD<sup>21</sup>, Vincenzo Orfeo, MD<sup>8</sup>, Carmela Palmisano, MD<sup>6</sup>, Giuseppe Perone, MD<sup>22</sup>, Antonino Pioppo, MD<sup>10</sup>, Michele Reibaldi, MD<sup>23</sup>, Scipione Rossi, MD<sup>21</sup>, Giancarlo Sborgia, MD<sup>6</sup>, Domenico Schiano-Lomoriello, MD<sup>5</sup>, Vincenzo Scoria, MD<sup>11</sup>, Arianna Sgheri, MD<sup>7</sup>, Gian Marco Tosi, MD<sup>7</sup>, Lisa Toto, MD<sup>14</sup>, Agostino Vaiano, MD<sup>24</sup> i Luca Ventre, MD<sup>23</sup>. <sup>5</sup>IRCSS Fondazione Bietti, Rzym, Włochy; <sup>6</sup>Klinika Okulistyczna, Katedra Podstawowych Nauk Medycznych, Neuronauki i Narządów Zmysłów, Uniwersytet Bari, Bari, Włochy; <sup>7</sup>Katedra Medycyny, Chirurgii i Neuronauki, Oddział Okulistyki, Uniwersytet w Sienie, Siena, Włochy; <sup>8</sup>Szpital Clinica Mediterranea, Neapol; <sup>9</sup>Usługi Okulistyczne, Policlinico Casilino, Rzym, Włochy; <sup>10</sup>Kompleksowy Oddział Okulistyczny, Szpital „Civico di Cristina Benfratelli”, Palermo, Włochy; <sup>11</sup>Katedra Okulistyki, Uniwersytet „Magna Græcia”, Catanzaro, Włochy; <sup>12</sup>Opłtyka fizjopatologiczna, Uniwersytet „Tor Vergata”, Rome, Rzym, Włochy; <sup>13</sup>Casa di Cura GE.P.O.S., Telese (BN), Włochy; <sup>14</sup>Klinika Okulistyczna, Uniwersytet „G. d'Annunzio”, Chieti-Pescara, Włochy; <sup>15</sup>Kompleksowy Oddział Okulistyczny, Szpital „Cardinale G. Panico”, Tricase (LE), Włochy; <sup>16</sup>Szpital Uniwersytecki Careggi, Florencja, Włochy; <sup>17</sup>Centro Oftalmologico „Laservista”, Caserta, Włochy; <sup>18</sup>Katedra Okulistyki, Policlinico di Foggia, Uniwersytet Foggia, Foggia, Włochy; <sup>19</sup>Szpital „Casa Sollievo della Sofferenza” I.R.C.C.S., San Giovanni Rotondo, Włochy; <sup>20</sup>Katedra Okulistyki, Szpital „F.Miulli”, Acquaviva delle Fonti-Bari, Włochy; <sup>21</sup>Szpital San Carlo di Nancy, Rzym, Włochy; <sup>22</sup>Poliambulatorio Also Srl (Perone), Saronno, Włochy; <sup>23</sup>Klinika Okulistyczna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Turyn, Włochy; <sup>24</sup>Kompleksowy Oddział Okulistyczny, Szpital „Santa Croce e Carle”, Cuneo, Włochy.

## CO WIEDZIANO

Światowa Organizacja Zdrowia sklasyfikowała oporność na antybiotyki jako jedno z 3 najważniejszych zagrożeń zdrowia publicznego w XXI wieku. Profilaktyka przedoperacyjna ma kluczowe znaczenie dla redukcji obciążenia bakteryjnego skóry wokół oczu oraz spojówki oka przed zabiegami chirurgicznymi. Ozon jest najsilniejszym utleniaczem występującym w przyrodzie, z udokumentowanymi właściwościami antyseptycznymi i przeciwzapalnymi.

## CO NINIEJSZY ARTYKUŁ DODAJE

Miejscowe stosowanie ozonowanego oleju w formie liposomów może zmniejszyć obciążenie mikrobiologiczne przed operacją zaćmy, bez substancji toksycznych lub działań alergizujących. Dlatego można uznać go za bezpieczny i skuteczny adiuwant w domowej profilaktyce w chirurgii zaćmy.

## BIBLIOGRAFIA

1. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectr* 2016;4:VMBF-0016-2015
2. Halachmi-Eyal O, Lang Y, Keness Y, Miron D. Preoperative topical moxifloxacin 0.5% and povidone-iodine 5.0% versus povidone-iodine 5.0% alone to reduce bacterial colonization in the conjunctival sac. *J Cataract Refract Surg* 2009;35:2109–2114
3. Oakley CL, Vote BJ. Aqueous chlorhexidine (0.1%) is an effective alternative to povidone-iodine for intravitreal injection prophylaxis. *Acta Ophthalmol* 2016; 94:e808–e809
4. Vaziri K, Schwartz SG, Kishor K, Flynn HW Jr. Endophthalmitis: state of the art. *Clin Ophthalmol* 2015;9:95–108
5. Reibaldi M, Avitabile T, Bandello F, Longo A, Bonfiglio V, Russo A, Castellino N, Rejdak R, Nowowiejska K, Toro M, Furino C, Cillino S, Fiore T, Cagini C, Grassi P, Musumeci R, Cocuzza CE, Martinelli M, Fallico M. The effectiveness of 0.6% povidone iodine eye drops in reducing the conjunctival bacterial load and needle contamination in patients undergoing anti-VEGF intravitreal injection: a prospective, randomized study. *J Clin Med* 2019;8:1031
6. Travagli V, Zanardi I, Bocci V. Topical applications of ozone and ozonated oils as anti-infective agents: an insight into the patent claims. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 2009;4:130–142
7. Valacchi G, Lim Y, Belmonte G, Miracco C, Zanardi I, Bocci V, Travagli V. Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair Regen* 2011;19:107–115
8. Spadea L, Tonti E, Spaterna A, Marchegiani A. Use of ozone-based drops: a series of cases in veterinary and human spontaneous ocular pathologies. *Case Rep Ophthalmol* 2018;9:287–298
9. Pinna A, Mollicotti P, Sechi LA, Lezcano I, Nunez N, Espim M, Dupre I. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozone). *J Appl Microbiol* 2001;90:279–284
10. Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol* 2005;153:1096–1100
11. Kashiwagi K, Saito K, Wang YD, Takahashi H, Ishijima K, Tsukahara S. Safety of ozonated solution as an antiseptic of the ocular surface prior to ophthalmic surgery. *Ophthalmologica* 2001;215:351–356
12. Basile AA, Cendali M, Mandelli G, Fioretto G, Andrea C, Basile A, Science S, Andrea V. Anti-inflammatory effect of an eye drops solution based on liposomal ozonated oil in different corneal and anterior segment human diseases. *Ozone Ther* 2019;4:8377
13. Patel R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clin Chem* 2015;61:100–111
14. Berkowitz J. Sample size estimation. PERC reviewer: Timothy Lynch. Available at: [http://www.columbia.edu/~mvp19/RMC/6\\_SampleSize.html](http://www.columbia.edu/~mvp19/RMC/6_SampleSize.html)
15. Kahn H. Letter: Comparing the effects of 2 localized treatments on bilateral eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1974;13:634–635
16. Rosner B. Statistical methods in ophthalmology: an adjustment for the intraclass correlation between eyes. *Biometrics* 1982;38:105–114
17. Beaujean AA, Morgan GB. Tutorial on using regression models with count outcomes using R. *Pract Assessment Res Eval* 2016
18. Nelder JA. Generalized linear models for enzyme-kinetic data. *Biometrics* 1991;47:1605–1610
19. Moghimbeigi A, Eshraghian MR, Mohammad K, Mcardle B. Multilevel zero-inflated negative binomial regression modeling for over-dispersed count data with extra zeros. *J Appl Stat* 2008;35:1193–1202
20. Wolfinger RD. Fitting non-linear mixed model with the new `NLMIXED` procedure. *SUGI Proc* 1999
21. Gliner JA, Morgan GA, Harmon RJ. Pretest-posttest comparison group designs: analysis and interpretation. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2003;42:500–503
22. Dimitrov DM, Rumrill PD. Pretest-posttest designs and measurement of change. *Work* 2003
23. Agresti A. An Introduction to Categorical Data Analysis. 2nd ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2006
24. Schwab JA. Multinomial logistic regression: Basic relationships and complete problems. 2002. Available at: <http://www.utexas.edu/courses/schwab/sw388r7/SolvingProblems/>
25. Endophthalmitis Study Group, European Society of Cataract & Refractive Surgeons. Prophylaxis of postoperative endophthalmitis following cataract surgery: results of the ESCRS multicenter study and identification of risk factors. *J Cataract Refract Surg* 2007;33:978–988

26. Stroman DW, Mintun K, Epstein AB, Brimer CM, Patel CR, Branch JD, Najafi-Tagol K. Reduction in bacterial load using hypochlorous acid hygiene solution on ocular skin. *Clin Ophthalmol* 2017;11:707–714
27. Lu LJ, Liu J. Human microbiota and ophthalmic disease. *Yale J Biol Med* 2016;89:325–330
28. Koerner JC, George MJ, Meyer DR, Rosco MG, Habib MM. Povidone-iodine concentration and dosing in cataract surgery. *Sure Ophthalmol* 2018;63:862–868
29. Berkelman RL, Holland BW, Andreson RL. Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. *J Clin Microbiol* 1982;15:635–639
30. Kawana R, Kitamura T, Nakagomi O, Matsumoto I, Arita M, Yoshihara N, Yanagi K, Yamada A, Morita O, Yoshida Y, Furuya Y, Chiba S. Inactivation of human viruses by povidone-iodine in comparison with other antiseptics. *Dermatology* 1997;195:29–35
31. Ta CN, Raizman MB, Gross RD, Joshi S, Mallick S, Wang Y, Segal B. A prospective, randomized trial of povidone-iodine 0.6% and dexamethasone 0.1% ophthalmic suspension for acute bacterial conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 2020;215:56–65
32. Elvis A, Ekta J. Ozone therapy: a clinical review. *J Nat Sci Biol Med* 2011;2:66
33. Naik SVRK, Kohli S, Zohabhsan S, Bhatia S. Ozone- a biological therapy in dentistry- reality or myth? *Open Dent J* 2016;10:196–206
34. Ross Fitzgerald J. The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. *Vet Dermatol* 2009;2:490–495
35. Song M, Zeng Q, Xiang Y, Gao L, Huang J, Huang Jin, Wu K, Lu J. The antibacterial effect of topical ozone on the treatment of MRSA skin infection. *Mol Med Rep* 2018;17:2449–2455
36. Celenza G, Iorio R, Cracchiolo S, Petricca S, Costagliola C, Cinque B, Segatore B, Amicosante G, Bellio P. Antimycotic activity of ozonized oil in liposome eye drops against *Candida* spp. *TVST* 2020;9:1–11
37. Cutarelli A, Carlini G, Sarno F, Nebbioso A, Garofalo F, Altucci L, Corrado F. The role of ozone carried by liposomes in the therapy of infectious and skin-regenerating ocular surface. *J Biomed Sci Engin* 2019;12:347–353
38. Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, Kim HO, Park YM. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci* 2009;24:368
39. Silva V, Peirone C, Amaral JS, Capita R, Alonso-Calleja C, Marques-Magallanes JA, Martins Â, Carvalho Á, Maltez L, Pereira JE, Capelo JL, Igrejas G, Poeta P. High efficacy of ozonated oils on the removal of biofilms produced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from infected diabetic foot ulcers. *Molecules* 2020;25:3601
40. Marchegiani A, Magagnini M, Cerquetella M, Troiano P, Franchini I, Franchini A, Scapagnini G, Spaterna A. Preoperative topical liposomal ozone dispersion to reduce bacterial colonization in conjunctival sac and periocular skin: preliminary study in dogs. *Exp Eye Res* 2019;189:107848

AU3

AU4

**Pierwszy autor:**

Leopoldo Spadea, MD,

Klinika Oka, Policlinico Umberto I, „Sapienza”,  
Uniwersytet w Rzymie, Rzym, Włochy

Niniejszy artykuł jest artykułem o dostępie otwartym, rozpowszechnianym zgodnie z warunkami licencji Creative Commons Attribution-Non Commercial-No Derivatives License 4.0 (CCBY-NC-ND), gdzie dopuszczalne jest pobieranie i udostępnianie utworu pod warunkiem, że jest on prawidłowo cytowany. Praca nie może być w żaden sposób zmieniana ani wykorzystywana w celach komercyjnych bez zgody czasopisma.