

January 2017

Evaluación de la actividad proteolítica de una solución empleada en la limpieza de lentes de contacto: proyecto de aula

Jenifer Castro

Universidad de La Salle, Bogotá, jcastro76@unisalle.edu.co

Luis Eduardo Chacua Mazabel

Universidad de La Salle, Bogotá, rivera@unisalle.edu.co

Karent Paola Mahecha Bernal

Universidad de La Salle, Bogotá, rivera@unisalle.edu.co

Nicoll Andrea Márquez Buitrago

Universidad de La Salle, Bogotá, rivera@unisalle.edu.co

Lucy Rivera Rojas

Universidad de La Salle, Bogotá, rivera@unisalle.edu.co

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/svo>



Part of the [Eye Diseases Commons](#), [Optometry Commons](#), [Other Analytical, Diagnostic and Therapeutic Techniques and Equipment Commons](#), and the [Vision Science Commons](#)

Citación recomendada

Castro J, Chacua Mazabel LE, Mahecha Bernal KP, Márquez Buitrago NA y Rivera Rojas L. Evaluación de la actividad proteolítica de una solución empleada en la limpieza de lentes de contacto: proyecto de aula. *Cienc Tecnol Salud Vis Ocul.* 2017;(1): 59-66. doi: <https://doi.org/10.19052/sv.4076>

This Artículo de Investigación is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular* by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Evaluación de la actividad proteolítica de una solución empleada en la limpieza de lentes de contacto: proyecto de aula

Evaluation of the proteolytic activity of a solution used for contact lens cleaning: Classroom project

JENIFER CASTRO BUITRAGO*
LUIS EDUARDO CHACUA MAZABEL*
KARENT PAOLA MAHECHA BERNAL*
NICOLL ANDREA MÁRQUEZ BUITRAGO*
LUCY RIVERA ROJAS** ✉

Recibido: 29-08-2016 / Aceptado: 02-11-2016

RESUMEN

En cada lágrima existe una alta concentración de proteínas y en la mayoría de los materiales empleados en lentes de contacto estas se adhieren, y ello genera depósitos e incomodidad en el usuario. De ahí que sea necesaria la limpieza de los lentes para asegurar la eliminación de tales depósitos. Uno de los métodos más efectivos es la desproteínización, mediante la actividad proteolítica de las proteasas. *Objetivos:* evaluar la actividad proteolítica de una solución empleada en la limpieza de lentes de contacto, como proyecto final de aula del espacio académico Bioquímica, del programa de Optometría de la Universidad de La Salle. *Materiales y métodos:* se desarrollaron cuatro ensayos con diferentes concentraciones de la solución limpiadora frente a la misma concentración de solución de albúmina. Se utilizó el reactivo de Biuret y el espectrofotómetro PRIM. Así mismo, se repitieron los mismos ensayos, pero esta vez se utilizó como disolvente de los reactivos la solución indicada por el fabricante. *Resultados:* se encontró una disminución en la absorbancia en las soluciones de albúmina tratadas con las diferentes concentraciones de la solución limpiadora, lo que indica su actividad proteolítica. La actividad enzimática no se altera al usar agua destilada en lugar de la solución indicada. *Conclusiones:* se encontró degradación de proteínas por acción de la solución limpiadora en los ensayos realizados. Se considera importante el uso de soluciones con actividad proteolítica en la limpieza y cuidado de lentes de contacto. Se recomienda su empleo entre los usuarios de estos.

Palabras clave: proteasas, depósito de proteínas, limpieza de lentes de contacto.

* Estudiante de cuarto semestre del programa de Optometría, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.

** Docente del Departamento Ciencias Básicas, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. ✉ rivera@unisalle.edu.co

Cómo citar este artículo: Castro Buitrago J, Chacua Mazabel LE, Mahecha Bernal KP, Márquez Buitrago NA, Rivera Rojas L. Evaluación de la actividad proteolítica de una solución empleada en la limpieza de lentes de contacto: proyecto de aula. Cienc Tecnol Salud Vis Ocul. 2017;15(1):59-66. doi: <http://dx.doi.org/10.19052/sv.4076>

ABSTRACT

In each tear, there is a high concentration of proteins that get attached to most of the materials used in contact lenses, which generates deposits and causes discomfort in the user. Hence, it is necessary to clean the contact lenses in order to ensure the removal of such deposits. One of the most effective methods is deproteinization, through the proteolytic activity of proteases. *Objectives:* To evaluate the proteolytic activity of a solution used for contact lens cleaning, as a final classroom project in the Biochemistry academic course, within the Optometry program of the Universidad de La Salle. *Materials and methods:* Four trials with different cleaning solution concentrations were developed, compared to the same concentrations of albumin solution. Biuret reagent and PRIM spectrophotometer were used. The same tests were repeated, but now using the solution indicated by the manufacturer as solvent for reagents. *Results:* A decrease in absorbance was found in the albumin solutions treated with different cleaning solution concentrations, indicating their proteolytic activity. The enzymatic activity is not altered when distilled water is used instead of the indicated solution. *Conclusions:* Protein degradation was found due to the action of the cleaning solution in the performed tests. The use of solutions with proteolytic activity is considered important in the cleaning and care of contact lenses. Its use is recommended for users.

Keywords: protease, protein deposit, cleaning of contact lenses.

INTRODUCCIÓN

La película lagrimal brinda gran parte de protección al globo ocular gracias a su contenido lipídico, mucinoso, proteico y de electrolitos esenciales para la salud ocular (1). El depósito de proteínas que se forma en los lentes de contacto proveniente de las lágrimas se ha asociado a molestias, visión reducida y reacciones inflamatorias como la conjuntivitis papilar. Las principales proteínas de la película lagrimal se producen en la glándula lagrimal: lisozima, lipocalina y lactoferrina, secretadas por los acinos, masas de células arracimadas dentro de esta glándula; mientras que la inmunoglobulina A (IgA) se genera en las células plasmáticas intersticiales de la glándula, pero fuera de los acinos (2). Las proteínas de la película lagrimal se depositan rápidamente sobre (y dentro de) los materiales de los lentes de contacto durante su uso, quizás en horas. Dicha acumulación está estrechamente relacionada con el tipo de material: los lentes iónicos que contienen ácido metacrílico atraen cantidades de proteínas mucho mayores que otros materiales, incluidos los lentes no iónicos que contienen n-vinilpirolidona. La lisozima, en particular, lleva una elevada carga positiva que es atraída por la carga negativa de algunos materiales (2).

Las proteínas acumuladas en los lentes de contacto pueden desnaturalizarse y perder sus capacidades antimicrobianas según el material del lente, por lo que algunas proteínas pueden mantener su función antimicrobiana (1), pero esto no se presenta en todos los casos; por lo tanto, se aconseja que las personas que usan lentes de contacto, de igual forma, utilicen los diferentes tipos de soluciones enzimáticas desproteinizadoras para evitar que se produzca cualquier tipo de afección (3). Las proteasas son enzimas empleadas en este tipo de soluciones que tienen como fin la degradación de proteínas (4-7). Corresponden al grupo de las hidrolasas, ya que catalizan la ruptura hidrolítica de las uniones peptídicas (8-10).

Muchas de estas soluciones contienen pancreatina. La pancreatina es un preparado enzimático que se obtiene del páncreas de ganado bovino o porcino. Su composición incluye proteasas, amilasas, lipasas, fosfolipasas, tripsina y otras enzimas (11). Esta actúa en el proceso de rompimiento de los enlaces moleculares de las proteínas adheridas a la superficie del lente de contacto. Habitualmente, la limpieza enzimática se recomienda para lentes blandos y, en ocasiones, para lentes rígidos; sin embargo, no debe efectuarse en todos los casos de lentes permeables rígidos, ya que no todos

los materiales rígidos interactúan de la misma forma con las proteínas. En el caso de lentes de fluoroacrilato de silicona, los cuales rechazan parcialmente la adherencia de proteínas y otros depósitos a consecuencia del componente flúor, solo cuando el adaptador observe proteínas en las superficies, debe ordenar su limpieza enzimática; no obstante, existen muchos reportes que indican que esta limpieza no es necesaria en dichos materiales (12,13).

El presente trabajo tiene como fin evaluar la actividad proteolítica de una solución empleada en la limpieza de lentes de contacto, al determinar la degradación total o parcial de soluciones de albúmina, luego del tratamiento de estas con diferentes concentraciones de la solución. La determinación de la actividad proteolítica se evidencia al medir la absorbancia de las soluciones de albúmina antes y después del tratamiento: si la absorbancia es menor luego del tratamiento, indicaría la degradación de proteínas. La absorbancia es una medida de la concentración de una solución, así como la primera magnitud directamente proporcional a la cantidad de soluto presente en una determinada cantidad de solución, según la ley de Lambert Beer (14). Se emplean soluciones de albúmina como patrones de referencia, ya que es una proteína de bajo costo, muy soluble y de alta disponibilidad. Se utiliza el reactivo de Biuret, el cual forma un complejo de color violeta en presencia de proteínas, para permitir que la solución tenga un máximo de absorbancia a 540 nm, longitud de onda en la cual se realiza la lectura. El reactivo de Biuret (15) es inespecífico para proteínas, es decir, reconoce cualquier proteína o, incluso, péptidos cortos; de allí que pueda usarse la albúmina como patrón de proteínas.

Así mismo, este trabajo es un proyecto final de aula del espacio académico Bioquímica, del programa de Optometría de la Universidad de La Salle. Los resultados aquí expuestos tienen, por ende, limitaciones financieras y temporales, con perspectivas de mejoramiento a futuro, cuando se consolide como trabajo de investigación.

METODOLOGÍA

Se realizaron cuatro ensayos con diferentes concentraciones de la solución limpiadora frente a la misma concentración de solución de albúmina. Los tubos *blanco problema* se prepararon al agregar 0,5 mL de solución albúmina al 1 % y una gota de agua destilada para el ensayo 1, dos gotas para el ensayo 2, cuatro gotas para el ensayo 3 y cinco gotas para el ensayo 4. Los tubos *solución de ensayo* se prepararon al añadir 0,5 mL de solución de albúmina al 1 % y una gota de la solución limpiadora para el ensayo 1, dos gotas para el ensayo 2, cuatro gotas para el ensayo 3 y cinco gotas para el ensayo 4 (tabla 1). Se ejecutó un ensayo adicional (ensayo 5) con una carga máxima de 80 gotas de la solución enzimática limpiadora, para evaluar la actividad proteolítica en estas condiciones.

Todos los ensayos se dejaron reposar por 1 hora a 37 °C en baño serológico (figura 1). A continuación se adicionó 0,5 mL de reactivo de Biuret a cada tubo y se dejaron en reposo por 20 minutos adicionales a 37 °C. Finalmente, se leyó la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro PRIM (figura 2); se utilizó este valor porque el complejo coloreado formado tiene un máximo de absorción a 540 nm.

TABLA 1. Cantidades de solución de albúmina al 1 % y de solución limpiadora agregados a cada ensayo

REACTIVO	ENSAYO 1		ENSAYO 2		ENSAYO 3		ENSAYO 4	
	BLANCO PROBLEMA	SOLUCIÓN DE ENSAYO	BLANCO PROBLEMA	SOLUCIÓN DE ENSAYO	BLANCO PROBLEMA	SOLUCIÓN DE ENSAYO	BLANCO PROBLEMA	SOLUCIÓN DE ENSAYO
Albúmina al 1 % (mL)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Solución limpiadora (gotas)	-	1	-	2	-	4	-	5
Agua destilada (gotas)	1	-	2	-	4	-	5	-

Se utilizó un blanco de reactivos para calibrar el aparato, preparado con 0,5 mL de agua destilada y 0,5 mL del reactivo de Biuret (figura 3).

De igual manera, se repitieron todos los ensayos con la solución disolvente sugerida por el fabricante, en lugar de agua destilada. En esta ocasión,



FIGURA 1. Baño serológico empleado para mantener una temperatura constante de 37°C



FIGURA 2. Espectrofotómetro PRIM utilizado para la medición de absorbancia a 540 nm



FIGURA 3. Blanco de reactivos empleado para calibrar el espectrofotómetro en 0 absorbancia. Contiene únicamente reactivo de Biuret y agua destilada

la solución de albúmina al 1% se preparó en este disolvente y no en agua destilada.

RESULTADOS

Todos los ensayos, tanto los tubos solución problema como los tubos solución de ensayo, presentaron coloración violeta azulado, lo cual indica la presencia de proteína frente al reactivo de Biuret. Los tubos solución de ensayo mostraron un color violeta azulado más tenue con respecto a los tubos solución problema, lo cual señala que la solución limpiadora efectivamente degradó, aunque de forma parcial, la proteína presente (figura 4). Puesto que visualmente en algunos casos es imperceptible el cambio de coloración, se midió la absorbancia a 540 nm de cada ensayo

en presencia (tubo solución de ensayo) y ausencia (tubo blanco problema) de la solución limpiadora; de esta manera, se encontró una disminución en la absorbancia, como era de esperarse, en el tubo solución de ensayo. Los ensayos desarrollados con la solución disolvente sugerida por el fabricante, en lugar de agua destilada, arrojaron resultados similares (tabla 2).

El ensayo adicional (ensayo 5), en el que se empleó una carga máxima de 80 gotas de la solución limpiadora, presentó una coloración azul oscuro tenue, lo cual indica que prácticamente toda la proteína se degradó (figura 4). Ya que en este último se presentaron partículas en suspensión y, por lo tanto, demasiada turbidez, fue imposible medir la absorbancia con el instrumento utilizado.



FIGURA 4. Coloraciones obtenidas por los tubos solución de ensayo

TABLA 2. Absorbancia medida a 540 nm en blanco problema y en presencia de solución limpiadora

	ENSAYO 1		ENSAYO 2		ENSAYO 3		ENSAYO 4	
	(BLANCO PROBLEMA) ALBÚMINA AL 1%	(SOLUCIÓN DE ENSAYO) ALBÚMINA AL 1% + SOLUCIÓN LIMPIADORA (1 GOTAS)	(BLANCO PROBLEMA) ALBÚMINA AL 1%	(SOLUCIÓN DE ENSAYO) ALBÚMINA AL 1% + SOLUCIÓN LIMPIADORA (2 GOTAS)	(BLANCO PROBLEMA) ALBÚMINA AL 1%	(SOLUCIÓN DE ENSAYO) ALBÚMINA AL 1% + SOLUCIÓN LIMPIADORA (4 GOTAS)	(BLANCO PROBLEMA) ALBÚMINA AL 1%	(SOLUCIÓN DE ENSAYO) ALBÚMINA AL 1% + SOLUCIÓN LIMPIADORA (5 GOTAS)
Albúmina al 1% preparada en agua destilada	0,426	0,421	-*	-*	0,569	0,547	0,570	0,466
Albúmina al 1% preparada en solución disolvente**	0,400	-*	0,422	0,371	0,434	0,336	0,545	0,501

*No se realizaron por pérdida de muestra.

**Se usó como disolvente la solución sugerida por el fabricante.

DISCUSIÓN

En la tabla 3 se observan las diferencias de absorbancias encontradas entre el tubo blanco problema y el tubo solución de ensayo para cada caso. Cuando se usa agua destilada como solvente de la solución de albúmina y de la solución limpiadora, la diferencia de absorbancias, como era de esperarse, aumenta con el número de gotas de solución limpiadora empleada, lo que revela una mayor degradación de proteína.

TABLA 3. Diferencia de las absorbancias del tubo blanco problema y del tubo solución de ensayo para cada caso

	ENSAYO 1BLANCO PROBLEMA- SOLUCIÓN DE ENSAYO (1 GOTA)	ENSAYO 2BLANCO PROBLEMA- SOLUCIÓN DE ENSAYO (2 GOTAS)	ENSAYO 3BLANCO PROBLEMA- SOLUCIÓN DE ENSAYO (4 GOTAS)	ENSAYO 4BLANCO PROBLEMA- SOLUCIÓN DE ENSAYO (5 GOTAS)
Albúmina al 1% prepara- da en agua destilada	0,005	.*	0,022	0,104
Albúmi- na al 1% preparada en solución disolven- te**	.*	0,051	0,098	0,044

*No se pueden observar por pérdida de muestra.

**Se usó como disolvente la solución sugerida por el fabricante.

Cuando se usa el compuesto indicado por el fabricante como disolvente de la solución de albúmina y de la solución limpiadora, aunque hay diferencia en las absorbancias de los tubos blanco problema con respecto a los tubos solución de ensayo —siempre es menor la absorbancia en los tubos solución de ensayo—, no hay correspondencia entre el número de gotas de la solución limpiadora empleada y la diferencia de absorbancias encontrada.

En esta investigación no se encontraron diferencias apreciables entre el uso de la solución disolvente sugerida por el fabricante o el agua destilada como solvente. Por el contrario, se supone que en el caso de desproteización de lentes de contacto es indispensable el uso de esta solución, pues el agua destilada puede colorear el lente y afectar, por ende, su transparencia.

Así mismo, en este estudio la degradación de proteína no es total, como demostró la coloración violeta azulado en los tubos solución de ensayo, donde ha ocurrido la desproteización, lo que aún muestra la presencia de proteínas. Se encontró que a mayor cantidad de solución de ensayo añadida, mayor degradación de proteína (tablas 2 y 3); sin embargo, al aumentar el número de gotas empleadas (6 a 8 gotas) —resultados no mostrados—, la turbidez generada no permitió la medición de absorbancia en el espectrofotómetro empleado. El ensayo adicional con una carga máxima de 80 gotas (ensayo 5) presentó una coloración azul oscura tenue, lo cual indica una degradación casi completa de proteína. No fue posible medir la correspondiente absorbancia, debido a la alta turbidez presentada. Este resultado está en concordancia con las indicaciones de uso de la solución limpiadora (13), en las que se recomienda aplicar la solución directamente sobre el lente, sin ser disuelta, para asegurar la degradación completa de proteína.

De los nueve ensayos realizados (cuatro con agua destilada como solvente, cuatro con el disolvente indicado por el fabricante y uno adicional con una carga máxima de 80 gotas de solución limpiadora), en siete se encontró una disminución de la coloración violeta azulado o de la absorbancia, indicativo de la degradación de proteínas. Estos resultados permiten concluir que efectivamente la solución limpiadora presenta actividad proteolítica.

La desproteización de lentes de contacto se ha considerado importante en la medida que el depósito de proteínas en los lentes se ha asociado con visión disminuida y reacciones inflamatorias como conjuntivitis papilar. Los diferentes materiales empleados en la fabricación de lentes de contacto adhieren proteína en diferentes cantidades y a distintos tiempos; no obstante, Etafilcon A es el material con mayor tendencia a la adherencia de lisozima, proteína de naturaleza positiva que es fácilmente adsorbida por materiales iónicos y de naturaleza negativa (16). Sin embargo, Omali y colaboradores (17) afirman, con base en estudios

anteriores, que aunque Etafilcon A adhiere una gran cantidad de proteína, especialmente lisozima, esta conserva sus propiedades antimicrobianas, lo que contribuye al mantenimiento del lente en óptimas condiciones.

Resultados diferentes se producen en lentes de contacto de hidrogel de silicona, en los cuales, a pesar de adherir poca cantidad de proteína, aquella que sí es adsorbida se desnatura debido a las características hidrofóbicas del material, lo que provoca reacciones alérgicas importantes entre los usuarios (18,19). En estos casos, y en lentes de contacto rígidos y gaspermeables, los cuales implican un uso prolongado con un régimen diferente, sería recomendable el uso de soluciones desproteinizadoras.

Con el fin de evitar el inconveniente de los depósitos de proteínas, actualmente se están construyendo nuevos materiales para lentes de contacto con excelentes propiedades ópticas, mecánicas y de permeabilidad al oxígeno, pero que minimicen el depósito de moléculas provenientes de la lágrima. Investigaciones recientes han demostrado que el entrecruzamiento de los monómeros de hidrogel de silicona con ácido hialurónico produce un incremento en la retención acuosa del material, un aumento en la estabilidad de la película lagrimal y una disminución en la adherencia de proteínas (20); sin embargo, es indispensable evaluar los materiales disponibles en el presente para determinar la necesidad o no del uso de soluciones desproteinizadoras.

Los resultados aquí presentados y, por lo tanto, las conclusiones obtenidas son limitadas, teniendo en cuenta que se trata de un proyecto de aula con restricciones financieras, logísticas y temporales de quienes lo desarrollaron; no obstante, dado que siete de los nueve ensayos corresponden a los resultados esperados, es posible concluir, con cierta certeza, que sí se presenta actividad proteolítica cuando se emplea la solución limpiadora sobre compuestos proteicos.

Para alcanzar resultados más concluyentes, se recomienda efectuar ensayos con diferentes materiales de lentes de contacto y evaluar la capacidad desproteinizadora de soluciones limpiadoras, sin olvidar factores como el tiempo de uso y la frecuencia de cambio, todo esto enmarcado dentro de un proyecto de investigación que cuente con recursos personales y financieros.

CONCLUSIONES

En siete de los nueve ensayos se encontró degradación de proteína por efecto de la solución limpiadora: su acción proteolítica aumenta a medida que se emplea mayor cantidad de solución. Cuando se utilizan cantidades altas de esta, aunque es posible ver el cambio de coloración de la solución de violeta azulado a azul (lo cual indica degradación de proteína), no se pueden realizar las correspondientes medidas de absorbancia por la turbidez que presenta.

No se detectó una diferencia apreciable entre el uso de la solución disolvente sugerida por el fabricante o el agua destilada como solventes de las soluciones, a pesar de que en el caso del empleo directo sobre lentes de contacto se considera indispensable seguir las recomendaciones indicadas para utilizar la solución limpiadora.

Al extrapolar los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que es importante el uso de soluciones enzimáticas en la limpieza de lentes de contacto, obviamente, sin excluir factores como el material con el cual están fabricados y el régimen de uso.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores son independientes y manifiestan no tener conflictos de interés.

REFERENCIAS

- Bright FV, Burke SE, Chalmers RL, Dobson C, Fleiszig SMJ, Hutter JC, et al. Contemporary research in contact lens care. *Cont Lens Anterior Eye*. 2013;36(1):S22-7.
- Morgan P, Dobson C. Proteínas de la película lagrimal, lentes de contacto blandas y soluciones. *Gaceta Óptica* [Internet]. 2010;(446):70-2. Disponible en: <http://www.academyofvisioncare.com/files/documents/publi%20bausch%20lomb.pdf>.
- Hernández Rodríguez P, Rivera Rojas L. Manual de prácticas en bioquímica básica para estudiantes y docentes de la salud visual. Bogotá: Unisalle; 2010.
- Voet D, Voet J. *Bioquímica*. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- Devlin TM. *Bioquímica: libro de texto con aplicaciones clínicas*. 4ª ed. Filadelfia, Pennsylvania: Reverté; 2004.
- Jellouli K, Ghorbel BO, Ayed HB, Manni L, Agrebi R, Nasri M. Alkaline-protease from *Bacillus licheniformis* MP1: Purification, characterization and potential application as a detergent additive and for shrimp waste deproteinization. *Process Biochemistry* [Internet]. 2011 [citado 2016 my. 13];46(6):1248-56. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511311000699>
- Müller WE. *Bioquímica: fundamentos para medicina y ciencias de la vida*. Barcelona: Reverté; 2008.
- Amstrong FB, Bennet TP. *Bioquímica*. Barcelona: Reverté; 2002.
- Guadix A, Guadix EM, Páez MP, González P, Camacho F. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica* [Internet]. 2000 [citado 2016 my 13];44(1):79-89. Disponible en: <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/183.pdf>
- Abondano E. Funciones enzimáticas: proteasa, amilasa, fitasa [Internet]. 2012 [citado 2016 my. 13]. Disponible en: http://www.agranco.com/pdf/funciones_enzimaticas.pdf l. Bolaños N, Lutz G, Herrera C. *Química de alimentos: manual de laboratorio* [Internet]. San José: Editorial de la Universidad de Costa Rica; 2003 [citado 2016 my. 13]. Disponible en: <http://www.pixelmd.eu/download-pdf-quimica-de-alimentos-book-by-editorial-universidad-de-costa-rica.pdf>
- Ballesteros F. Educación continuada en lentes de contacto ¿es la solución o el problema? *Contactología* [Internet]. 2004 [citado 2016 my. 13];3(9):11-3. Disponible en: <http://www.grupofranja.com/index.php/contactologia/item/454-educacion-continuada-en-lentes-de-contacto-es-la-solucion-o-el-problema>
- Franja Visual. Novedades de la industria [Internet]. 2012 [citado 2016 my. 13];22(127):43. Disponible en: <https://issuu.com/franjapublicaciones/docs/fv127final/43>.
- Segal Kischinevzky CA, Ortega Lule GJ. Manual de prácticas: biología molecular de la célula. 1ª ed. México: Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de México; 2005.
- NadiaZG [internet]. México: NadiaZG; 2004. Práctica 2: método de Biuret [citado 2016 my. 12]. Disponible en: <https://nadiazg.files.wordpress.com/2012/04/practica-2.pdf> 16. Subbaraman LN, Glasier M, Senchyna M, Sheardown H, Jones J. Kinetics of in vitro lysozyme deposition on silicone hydrogel, PMMA, and FDA groups I, II, and IV contact lens materials. *Curr Eye Res*. 2006;31(10):787-96.
- Omali NB, Subbaraman LN, Coles-Brennan C, Fadli Z, Jones LW. Biological and clinical implications of lysozyme deposition on soft contact lenses. *Optom Vis Sci*. 2015;92(7):750-7.
- Delgado JL, Rivera L. Película lagrimal: su interacción y su adherencia sobre los lentes de contacto de hidrogel de silicona. *Cienc Tecnol Salud Vis Ocul*. 2011;9(1):103-14.
- Rivera L. Lentes de contacto: composición química y propiedades. Bogotá: Unisalle; 2016.
- Singh A, Li P, Beachley V, McDonnell P, Elisseeff JH. A hyaluronic acid binding contact lens with enhanced water retention. *Cont Lens Anterior Eye*. 2015;38(2):79-84.