

Mikrobiyolojik Ajanların In Vitro Silikonlu Ortamlarda Üreme Davranışları♦

Nilüfer Koçak (*), Süleyman Kaynak (**), Hakan F. Öner (*), Ergin Er (***), Sevin Kırdar (****), İ. Hakkı Bahar (*****), Güray Çingil (**)

ÖZET

Endoftalmiye sıklıkla neden olan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ve *Candida albicans*'in (*C. albicans*) silikon yağı karşısında in vitro ortamlardaki üreme davranışları araştırıldı.

Çalışmada bu mikroorganizmaların standart suşları (ATCC 25923 *S. aureus*, ATCC 35984 *S. epidermidis*, ATCC 27853 *P. aeruginosa*, ATCC 90028 *C. albicans*) kullanıldı. Bu köklerin uygun besiyerlerindeki 24 saatlik kültürlerindeki üreme sonrasında elde edilen suşlar süspansiyon haline getirilerek, silikon yağı üzerine ve kontrol grubu olarak serum fizyolojik, beyin kalp infüzyon sıvısına ve Sabouraud dekstroz agara ilave edildi. Sonrasında bu tüpler karıştırılarak besiyerlerine ekim yapıldı. Ekimler üç hafta süreyle her gün yapıldı.

Bütün mikroorganizmaların koloni sayıları silikon yağında azalma gösterirken 10- 18. günlerden sonra üreme saptanmadı. Serum fizyolojik ortamında *S. aureus* ve *S. epidermidis*'in 18. günden sonra üremeleri saptanmazken; *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'in koloni sayıları sabit kaldı. Beyin kalp infüzyonunda bütün mikroorganizmaların koloni sayıları 3- 7. günlerden sonra sabit kaldı.

Silikon yağının mikroorganizmaların üzerinde antimikrobiyal etki mekanizmasının, daha çok besinsel faktörlerin yetersizliğine bağlı olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Silikon yağı, endoftalmi

SUMMARY

Growth Behaviour of Microbiological Agents In Vitro Silicone Oil

In this study the growth behaviours of *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* in vitro silicone oil were investigated.

ATCC derivations of microorganisms were used. Strains grown in 24 hours in cultures appropriate for production were made into suspensions and added to silicone oil and for control

- (*) Uzman Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fak Göz Hastalıkları AD, İzmir
(**) Profesör Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fak Göz Hastalıkları AD, İzmir
(***) Uzman Dr., Nispetiye Devlet Hastanesi Göz Hastalıkları AD, Nispetiye- Tokat
(****) Uzman Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fak Klinik Mikrobiyoloji ve Mikrobiyoloji AD, İzmir
(*****) Profesör Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fak Klinik Mikrobiyoloji ve Mikrobiyoloji AD, İzmir

♦ XIII. Congress Of The European Society Of Ophthalmology 3-7 Haziran 2001 İstanbul- Türkiye sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Mecmuaya Geliş Tarihi: 27.07.2001
Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 30.11.2001
Kabul Tarihi: 14.01.2002

group added to physiologic saline, brain- heart infusion and Sabouraud- dextrose agar. Then these tubes were vortexed and were inoculated into growth medium. The incubation were repeated each day for three weeks.

All the micoorganisms showed an apparent decrease in colony forming units (CFU's), with elimination between 10- 18 days in silicone oil. *S. aureus* and *S. epidermidis* did not grow after the 18th, but CFU's of *P. aeruginosa* ve *C. albicans* remained stable in physiologic saline. CFU's of all the microorganisms remained stable after the 3rd - 7th days in brain- heart infusion.

Antimicrobial activity of silicone oil on microorganisms were related according to nutritional deprivation.

Key Words: Silicone oil, endophthalmitis

GİRİŞ

Lineer bir yapıya sahip olan ve sentetik, organik-inorganik polimerler ile siloksan (Si-O) ünitelerinden oluşmuş ortak bir zincir içeren silikon yağı, vitreoretinal cerrahide internal tampon olarak kullanılmaktadır. Silikon yağı, sudan hafif olması, optik olarak saydam olması, tek damla halinde kalabilecek yüzeyler arası gerilime sahip olması, değişik viskozitelerde üretilebilir olması ve herhangi bir toksik etki yapmaması nedeni ile göz içine konabilir, uzun süreli tek tampon madde olarak kullanılmaktadır (1).

Optik olarak saydam olan silikon, vitrektomi sonrası vitreus boşluğuna hemoraji insidansını da azaltarak ortamın saydam kalmasını ve retinanın izlenebilmesini mümkün kılmaktadır (1).

Bu çalışmada, endoftalimde sıklıkla karşılaştığımız *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'ın silikon yağı karşısında in vitro ortamlardaki üreme davranışları araştırıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD laboratuvarında Kasım 1999 ile Mayıs 2000 tarihleri arasında mikroorganizmaların in vitro silikon yağı karşısındaki üreme davranışlarını belirlemek amacıyla düzenlendi. Çalışmada endoftalmiye sıklıkla neden olan *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'ın standart suşları kullanıldı (ATCC 25923 *S. aureus*, ATCC 35984 *S. epidermidis*, ATCC 27853 *P. aeruginosa*, ATCC 90028 *C. albicans*). Mikroorganizmaların standart suşları, bu mikroorganizmaların tüm özelliklerini taşıyan ve uluslararası standartlara uygun suşlardır. Bu köklerin uygun besiyerlerindeki (bakteriler için kanlı agar, *C. albicans* için Sabouraud dekstroza agar) 24 saatlik kültürlerindeki üreyen mikroorganizmalar, serum fizyolojik sıvı besiyeri kullanılarak, standart Mac Farland 1 bulanıklığında olmak üzere süspansiyon-

lar haline getirildi. Buradan alınan 0.1 ml süspansiyonlar, 0.9 ml silikon yağı üzerine eklendi. Kontrol olarak ise hazırlanan süspansiyondan alınan 0.1 ml miktarlar sırasıyla 0.9 ml miktarlardaki serum fizyolojik (negatif kontrol), 0.9 ml beyin kalp infüzyon sıvısına (bakteriler için pozitif kontrol) ve 0.9 ml Sabouraud dekstroza agar (mantar için pozitif kontrol) ilave edildi.

Sonrasında bu tüpler vortekslenerek herbirinden 0.01 ml miktarda bakteriler için beyin kalp infüzyon agar, *C. albicans* için de Sabouraud dekstroza agar plaklarına ekim yapıldı. Gerek bu ekimi yapılan plaklar, gerekse işleme sokulan solüsyon tüpleri (bakteriler için 35°C, *C. albicans* için 30°C olarak) etüvde bir gece inkübasyonda bekletilip ertesi gün değerlendirildi.

Değerlendirmede ekim yapılmış plaklarda koloni sayımına gidildi. Tüpler belirli zaman aralıklarıyla etüvden alınıp işlenip (karıştırılıp 0.01 ml plaklara ekilip) tekrar etüve kondu. Bütün tüpler 35°C'de etüvde bekletildi. Büyüme araçları içeren tüpler bakteriler için beyin kalp infüzyon agarda ve mantarlar için Sabouraud dekstroza agarda beşinci günden itibaren +4°C'de tutuldu. Bunun nedeni, mikroorganizmaların ölümünü önlemek ve mikrobiyal kültür büyüme eğrisinin olağan fazını korumak idi (2). Gerek silikon yağı ve gerekse serum fizyolojik solüsyonu içeren diğer tüpler 35°C'de korundu. Ekimler üç hafta süreyle her gün yapıldı. Besiyerleri plaklarında üreyen kolonilerin fotoğrafları çekildi.

SONUÇLAR

Yapılan in vitro çalışmada *S. aureus*, serum fizyolojik ortamında silikonlu ortama göre daha geç olarak azaldı ve 18 günden sonra üreme tespit edilmedi. Bakterilerin üremesini kolaylaştıran beyin-kalp infüzyonunda *S. aureus*'un koloni sayısı ilk 3 günde artış gösterip sonraki izlem günlerinde sabit kaldı.

Grafik-1'de görüldüğü gibi silikon yağında *S. aureus*'un koloni sayısında birinci günden itibaren belirgin bir azalma görüldü ve onuncu günden itibaren ise üre-

me tespit edilmedi. *S. aureus* kolonilerinin silikonlu ortamdaki üremeleri serum fizyolojik ortamındaki üremelerine göre daha erken azaldı veya durdu.

Serum fizyolojik ortamında bulunan *S. epidermidis*'in koloni sayısındaki kademeli düşüşü daha yavaş idi ve 18 günden sonra üreme tespit edilmedi. *S. epidermidis*'in üremesini kolaylaştıran beyin-kalp infüzyonunda *S. aureus*'a benzer şekilde koloni sayısında ilk üç günde artış oldu, sonraki izlem günlerinde koloni sayısı sabit kaldı. *S. epidermidis*'in kültür ortamlarındaki ekimlerinin görünüşleri Resim 1'de gösterilmektedir.

Grafik-2'de görüldüğü gibi silikon yağında *S. epidermidis*'in koloni sayısında üçüncü günden itibaren belirgin bir azalma saptandı. Silikon yağında bulunan *S. epidermidis* kolonilerinde de *S. aureus*'a benzer şekilde onuncu günden itibaren üreme tespit edilmedi. Silikon yağındaki *S. epidermidis* kolonileri, serum fizyolojik ve beyin-kalp infüzyonundakilerden daha erken kayboldu.

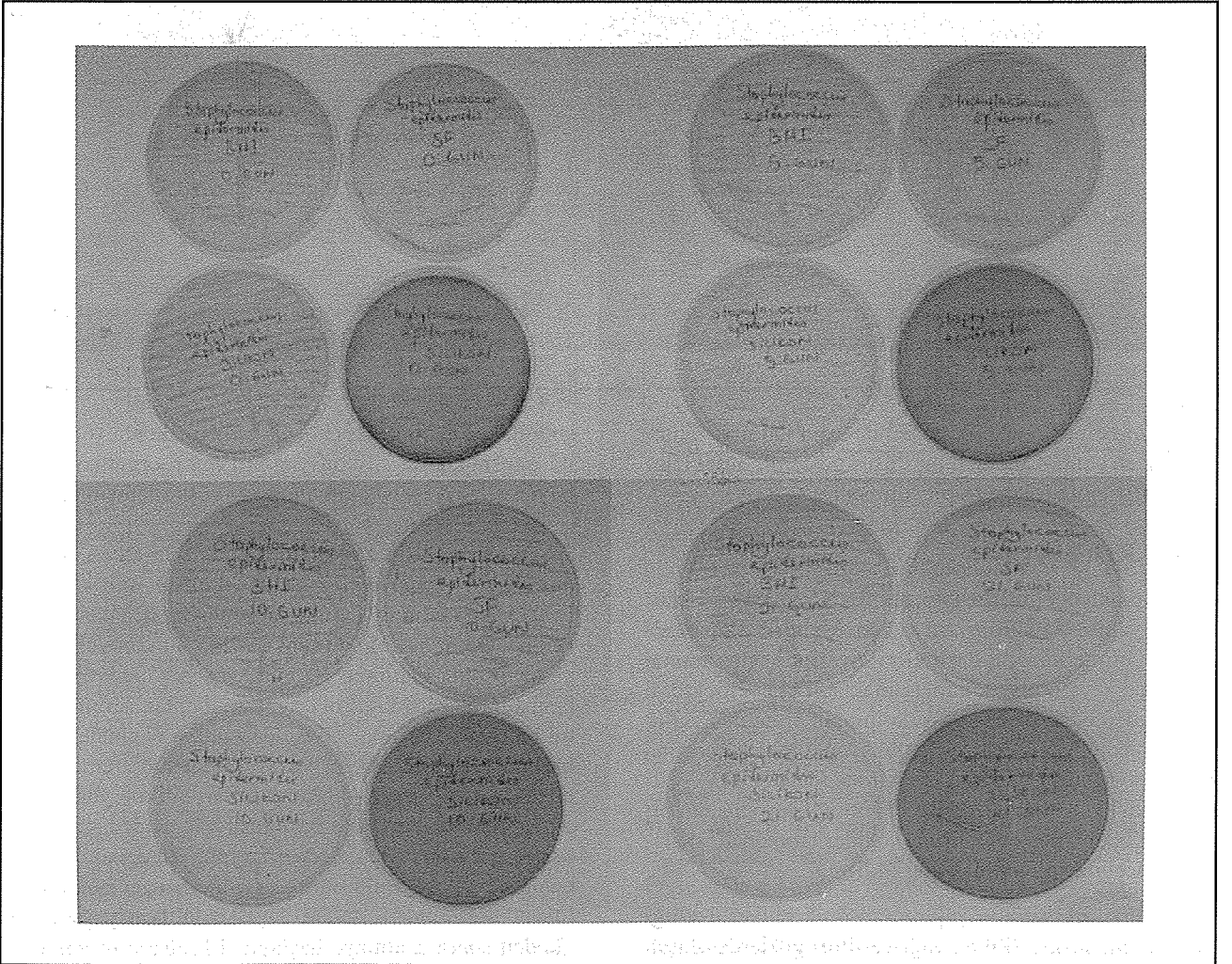
P. aeruginosa'nın serum fizyolojikteki koloni sayısı ilk günden itibaren izlem boyunca sabit kalırken, beyin-kalp infüzyonundaki koloni sayısı birinci günden sonra artış gösterdi, yedinci günde pik yaptı ve yedinci günden sonra izlem boyunca sabit kaldı. *P. aeruginosa*'nın kültür ortamlarındaki ekimlerinin görünüşleri Resim 2'de gösterilmektedir.

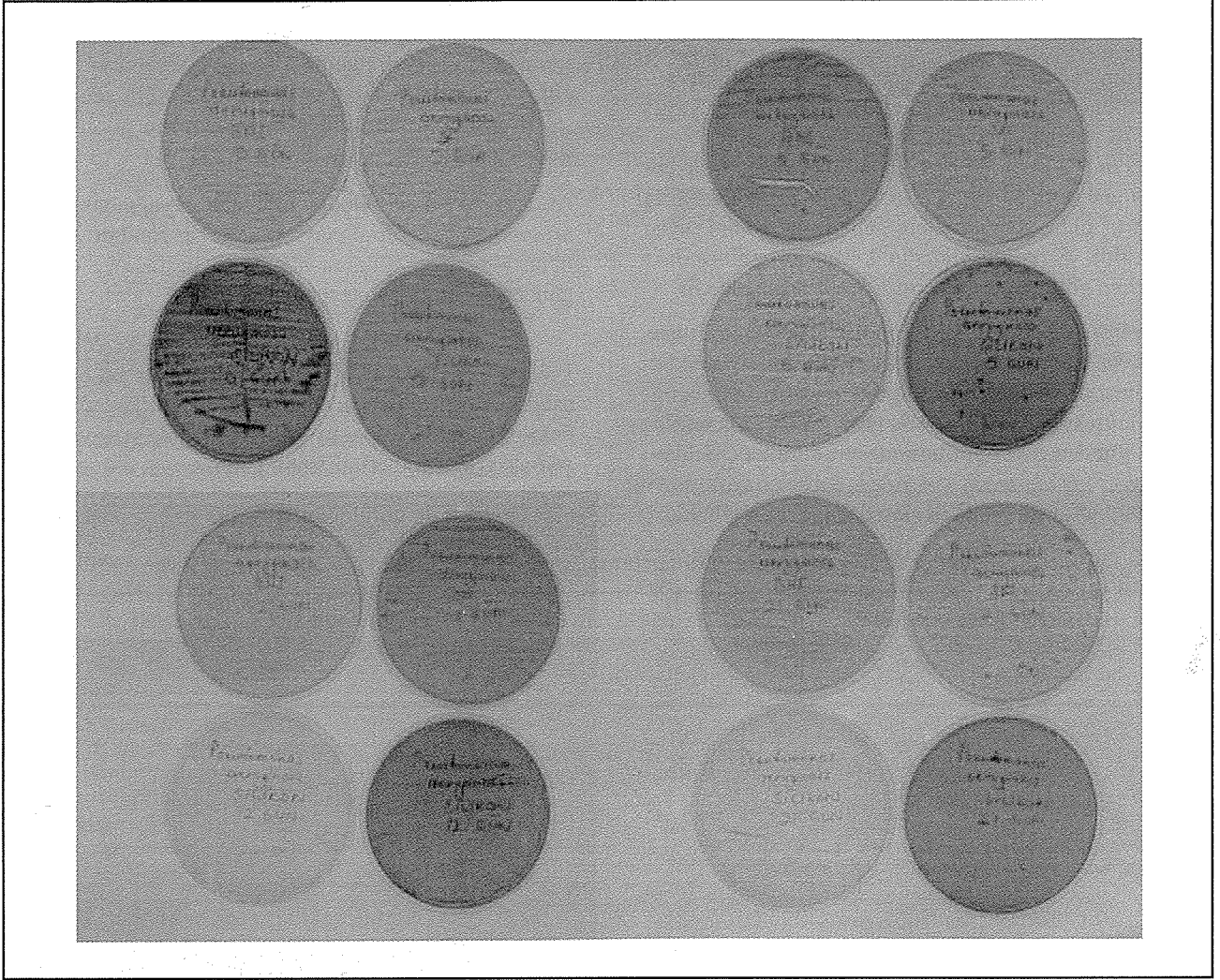
Grafik-3'de görüldüğü gibi silikon yağındaki *P. aeruginosa*'nın koloni sayısı, inkübasyondan sonraki üçüncü günden itibaren azalmaya başladı ve onuncu günden sonra da üreme tespit edilmedi.

C. albicans'in serum fizyolojik içindeki koloni sayısı inkübasyonun ilk gününden itibaren izlem boyunca sabit kaldı. *C. albicans*'in büyüme aracı olan Sabouraud dekstroz agarda koloni sayısı ilk üç günde artış gösterdi, sonraki izlem günlerinde sabit kaldı.

Grafik-4'de görüldüğü gibi silikon yağındaki *C. al-*

Resim 1. *S. epidermidis*'in kültür ortamlarındaki ekimlerinin görünüşleri



Resim 2. *P. aeruginosa*'nın kültür ortamlarındaki ekimlerinin görünüşleri

bicans'ın koloni sayısı ilk üç günde sabit kaldı ve üçüncü günden sonra kademeli bir düşüş gösterdi, onsekizinci günden sonra üreme tespit edilmedi.

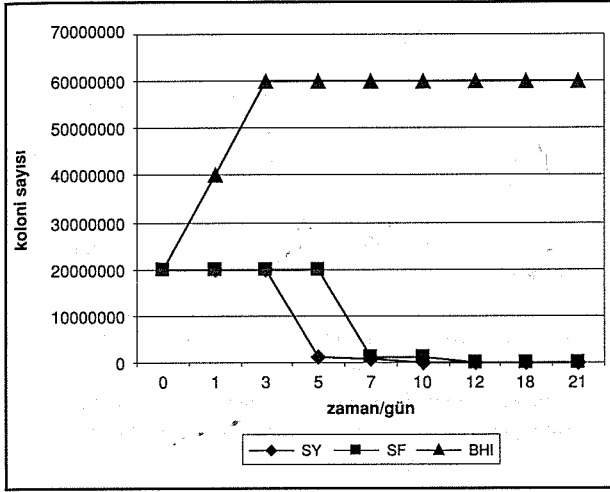
TARTIŞMA

Silikon yağı geçirgenliği, refraktif indeksi ve viskoelastik yapısı ile vitröz yapıya benzeyen bir dimetil siloksan polimeridir. Bu özellikleri sayesinde vitreoretinal cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır (1). Vitrektomi gelişmeden önce silikon yağı, kontrakte preretinal zarları ayırmak amacıyla retina ile traksyonel bandlar arasına verilmekte, bazı olgularda ise vitreus içine enjekte edilmekte idi (3). Günümüzde ise vitrektomi cerrahisinin bir bölümü olarak postoperatif intraoküler tamponadı sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (4,5).

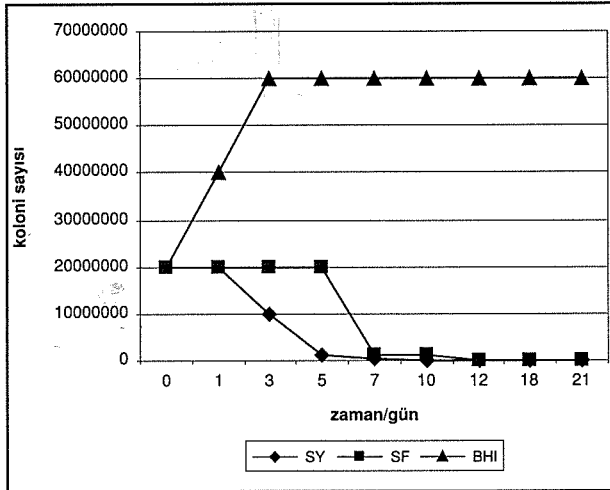
Literatürde silikon yağının antimikrobiyal özelliği gösterilememiştir. Silikon yağı verilmiş gözlerde oluşan

endoftalmi ile ilgili iki çalışma bulunmaktadır (6,7). Her iki çalışmada da silikon yağının mikroorganizmaların büyümlerine etkisi olup olmadığı gösterilememiştir.

Bu çalışmada endoftalimde sıklıkla etken olan *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* and *C. albicans*'a karşı silikon yağının antimikrobiyal etkisi gösterilmiştir. *S. aureus*'un koloni sayıları silikon yağında 3. günden sonra azalırken 10. günden sonra hiç üreme saptanmadı. Negatif kontrol olarak kullanılan serum fizyolojikli ortamda koloni sayısında azalma 7. günden sonra başlayıp giderek azalmış ve 21. günde hiç üreme olmamıştır. *S. epidermidis* koloni sayıları silikon yağında 5. günden sonra azalmaya başlamış 10. günden sonra hiç üreme görülmemiştir. Serum fizyolojikli ortamdaki sonuçlar *S. aureus*'un üreme paternine benzer bulunmuştur. *C. albicans*'ın koloni sayıları silikon yağında 5. günden sonra azalmaya başlayıp 18. günde üreme saptanmadı.

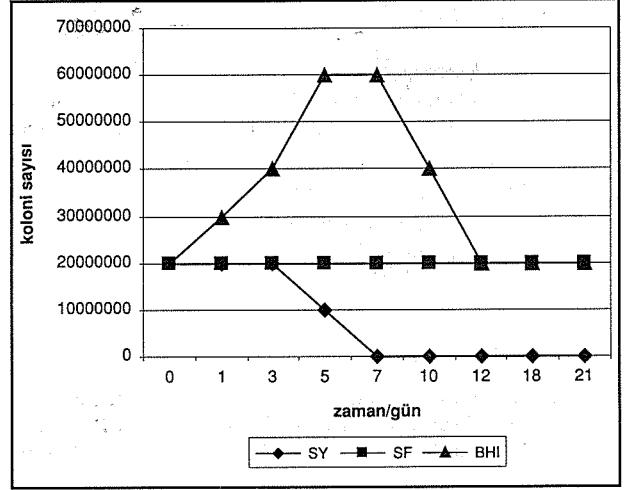
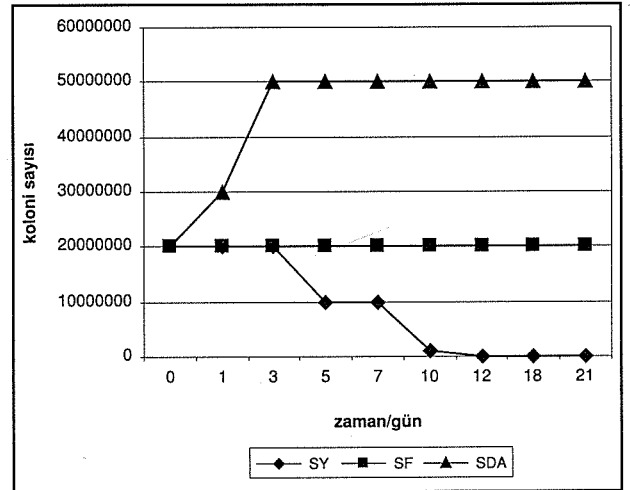
Grafik 1. *S. aureus*'un üç değişik ortamdaki koloni sayısı ve üreme eğrileri

SY; Silikon yağı, SF; Serum fizyolojik, BHI; Beyin -kalp infüzyonu

Grafik 2. *S. epidermidis*'in üç değişik ortamdaki koloni sayısı ve üreme eğrileri

tanmamıştır. Serum fizyolojikli ortamda koloni sayılarında değişiklik gözlenmemiştir. *P. aeruginosa* koloni sayıları ise silikon yağında 5. günden sonra azalmaya başlayıp 12. günde tamamen kaybolmuştur. Serum fizyolojikli ortamda ise çalışmanın başlangıcından sonuna kadar koloni sayıları aynı kalmıştır. Bunun nedenini, *P. aeruginosa*'nın suda canlılığını sürdürebilmesiyle açıklayabiliriz.

Özdamar ve ark.'ları (8) yaptıkları çalışmada da *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* ve *Aspergillus*'un silikon yağında in vitro üreme davranışlarını araştırmışlardır. Sonuçlar değerlendirildiğinde silikon yağındaki *S. aureus*, *S. epidermidis* kolonilerinde

Grafik 3. *P. aeruginosa*'nın üç değişik ortamdaki koloni sayısı ve üreme eğrileri**Grafik 4.** *C. albicans*'in üç farklı ortamda koloni sayısı ve üreme eğrileri

SDA: Sabouraud dekstroz agar

yedinci günden sonra, *P. aeruginosa* kolonilerinde 10. günden sonra, *C. albicans* kolonilerinde ise 14. günden sonra üreme tespit edilmemiştir. Çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızla korelasyon göstermektedir.

Çalışmamızın sonucunda silikon yağının mikroorganizmaların üremeleri için gereksinim duyduğu besin maddelerini içermediği görülmektedir. Böylece mikroorganizmaların üremeleri baskılanmaktadır. Serum fizyolojikli ortamda, herhangi bir besin maddesi içermemesine rağmen mikroorganizmaların üremesi tamamen baskılanamamıştır (*S. aureus*, *S. epidermidis* dışında). Oysa silikon yağında test edilen tüm mikroorganizmaların üremesinde baskılanma, koloni sayısındaki azalma ile kendini göstermiştir. Bu nedenle, endoftalmi cerrahi

sinde uygun olgularda silikon yağının kullanılması, silikonun tampon katkıları yanısıra enfeksiyon ajanının üremesinde belli bir baskılama etkisi yaratacağı düşünülebilir.

Bu nedenle çalışmaya alınan mikroorganizmaların üzerinde silikon yağının antimikrobiyal etki mekanizmasının daha çok besinsel faktörlerin yetersizliğine bağlı olduğu düşünülmele birlikte silikon toksisitesinin değerlendirilmesi amacıyla düzenlenecek diğer deneysel çalışmalar yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Lean JS: Use of silicone oil as an additional technique in vitreoretinal surgery. In *Retina*, Ryan SJ, Glaser BM, Michels RG. eds. St. Louis, The CV Mosby Co. 1989; 279-291.
2. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr: *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology* 5th ed. Philadelphia, Lipincott- Raven. 1997; 785-856.
3. Parel JM: Silicone oils. Physicochemical properties. In *Retina*, Ryan SJ, Glaser BM, Michels RG. eds. St. Louis, The CV Mosby Co. 1989; 261-277.
4. Lean JS, Leaver PK, Cooling RJ, McLeod D: Management of complex retinal detachments by vitrectomy and fluid/silicone exchange. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1982; 102: 203-205.
5. McCuen BW, de Juan E Jr, Landers MB, Machamer R: Silicone oil in vitreoretinal surgery Part 2. Results and complications. *Retina* 1985; 5:198-205.
6. Chong LP, de Juan E Jr, McCuen BW, Landers MB: Endophthalmitis in a silicone oil- filled eye. *Am J Ophthalmol* 1986; 102: 660- 661.
7. Zimmer- Galler IE, Santos A, Haller JA, Campochiaro PA: Management of endophthalmitis in a silicone oil- filled eye. *Retina* 1997; 17: 507- 509.
8. Özdamar A, Aras C, Öztürk R, Akın E, Karaçorlu M, Ercikan C: In vitro antimicrobial activity of silicone oil against endophthalmitis-causing agents. *Retina* 1999; 19: 122-126.