

KONTAKT LENS SOLÜSYONLARININ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERE KARŞI ETKİSİ

Miray ÜSTÜNTÜRK-ONAN

İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
e-mail: ustunrk@istanbul.edu.tr

Alınış (Received): 07 Haziran 2017, Kabul (Accepted): 22 Kasım 2017, Erken Görünüm (Online First): 27 Kasım 2017, Basım (Published): 15 Aralık 2017

Özet: Bu çalışmada, son yıllarda piyasada satışa sunulan iki adet çok amaçlı kontakt lens dezenfektan solüsyonunun klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* Rosenbach ve *Pseudomonas aeruginosa* Gessard bakterilerine karşı etkinliği araştırılmıştır. Çok amaçlı kontakt lens dezenfektan solüsyonlarının antibakteriyal etkinlikleri ISO 14729'da belirtilen kültüre dayalı mikrobiyolojik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Üretici tarafından önerilen minimum dezenfeksiyon sürelerine ek olarak belirlenen örneklem saatlerindeki bakteri sayıları tespit edilmiş ve ortalama log düşüşleri hesaplanmıştır. Çalışmada antibakteriyal etkinlikleri test edilen bu kontakt lens dezenfektan solüsyonlarının 3 farklı lotu kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, her iki kontakt lens dezenfektan solüsyonunun üretici tarafından önerilen minimum dezenfeksiyon süresi sonunda denenen bakterilerin sayılarında en az 3 log düşüş sağladığını göstermiştir. Kontakt lens solüsyon endüstrisinde gelişen teknolojiler ve yapılan bilimsel çalışmalar ile yeni formülasyonlar geliştirilmektedir. Piyasada satışa sunulan bu yeni ürünlerin antibakteriyal aktivitelerinin tam olarak anlaşılabilmesi için farklı kaynaklardan izole edilen suşların kullanılacağı ileriki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Dezenfeksiyon, kontakt lens solüsyonları, bakteri, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Efficacy of Contact Lens Solutions Against Bacteria Isolated from Clinical Specimens

Abstract: In this study, the efficacy of two recently marketed multipurpose contact lens disinfecting solutions against *Staphylococcus aureus* Rosenbach and *Pseudomonas aeruginosa* Gessard bacteria isolated from clinical specimens were investigated. The antibacterial activities of multipurpose contact lens disinfecting solutions were determined by microbiological culture method described in ISO 14729 guidelines. Bacterial counts were obtained for sampling intervals determined in addition to the manufacturer's minimum recommended disinfection time and mean log reductions were calculated for each interval. Three different lots of each contact lens disinfecting solutions were used. The results showed that both contact lens disinfecting solutions provided at least 3 log reductions for all bacteria tested at the end of the manufacturer's minimum recommended disinfection time. New formulations are being developed in contact lens disinfecting solution industry by new technologies and scientific researches. Further studies on strains isolated from different sources are needed in order to a complete understanding of these newly marketed contact lens solutions.

Key words: Disinfection, contact lens solutions, bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Giriş

Günümüzde, kontakt lenslerin yaygın olarak kullanılmaya başlanması ile birlikte çeşitli göz enfeksiyonlarının sayısında da artış meydana gelmiştir. Kontakt lens kullanımına bağlı meydana gelen enfeksiyonlara sebep olan mikroorganizmaların başında *Staphylococcus aureus* Rosenbach ve *Pseudomonas aeruginosa* Gessard gibi fırsatçı patojen bakteriler gelmektedir. Piyasada satılan ve kontakt lens kullanıcılarına sunulan dezenfektan solüsyonların, kontakt lensleri hijyenik bir ortamda tutarak kişileri bu enfeksiyonlara karşı korumaları gerekmektedir (Kuzman ve ark. 2008). Bu nedenle bu solüsyonlar kontakt lens yüzeyinde ve lens saklama kaplarında potansiyel patojen mikroorganizmaların üremelerini engellemelidirler (Kilvington 2000). Ancak geçmişte yapılan pek çok

çalışmada, kontakt lens kullanan kişilerin dezenfektan solüsyonlar kullanmalarına rağmen bu kişilere ait lens kaplarında mikrobiyal kontaminasyonun varlığı gösterilmiştir (Larkin ve ark. 1990, Devonshire ve ark. 1993, Gray ve ark. 1995, Yung ve ark. 2007, Üstüntürk ve Zeybek 2012).

Etkili olmayan kontakt lens solüsyonlarının kullanımı kontakt lens kullanımına bağlı enfeksiyonların risk faktörleri arasında sayılmaktadır. Uluslararası Standartlar Teşkilâtı (ISO) tarafından yayınlanan ISO 14729 standardında kontakt lens solüsyonlarının antibakteriyal ve antifungal aktivitelerinin test edilmesi için gerekli mikrobiyolojik test yöntemleri detaylı olarak anlatılmaktadır (ISO 14729 2001). Standart ve çevresel

mikroorganizmaların dezenfektanlara karşı duyarlılıkları farklılık gösterebildiğinden, bu solüsyonların etkinliklerinin sadece referans mikroorganizmalar kullanılarak değil aynı zamanda çevresel ve klinik suşlar da kullanılarak test edilmesi son derece önemlidir.

Bu bağlamda bu çalışmada, ülkemizde son yıllarda satışa sunulan iki adet çok amaçlı kontakt lens dezenfektan solüsyonunun (KLDS) hasta numunelerinden izole edilen *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı antibakteriyal aktiviteleri ISO 14729 standardında belirtilen “bağımsız test” prosedürüne göre araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Test solüsyonları

Bu çalışmada, piyasada son yıllarda satışa sunulan KLDS A (Alcon Laboratories Inc., Fort Worth, TX, ABD) ve KLDS B (Bausch&Lomb, Greenville, SC, ABD) çok amaçlı kontakt lens solüsyonlarının antibakteriyal etkinlikleri test edilmiştir. Bu solüsyonların üretici tarafından önerilen minimum dezenfeksiyon süreleri KLDS A için 6 saat, KLDS B için 4 saat olarak belirtilmiştir. Çalışmada bu kontakt lens solüsyonlarının 3 farklı lotu kullanılmıştır.

KLDS A özel olarak tasarlanmış bir nemlendirici ajan içermektedir. HydraGlyde™ Moisture Matrix olarak adlandırılan bu ajan (polioksietilen-polioksibutilen), silikon hidrojel lensleri nemlendirmeye ve kayganlaştırmaya yönelik geliştirilmiş tescilli çok işlevli blok kopolimerdir. KLDS A %0,001 POLYQUAD® (polikuaterniyum-1) ve %0,0006 ALDOX® (miristamidopropil dimetilamin) olmak üzere çift yönlü bir dezenfeksiyon sistemi içermektedir (Corbin ve ark. 2012).

Piyasaya yeni çıkan diğer bir ürün olan KLDS B gözde doğal olarak bulunan ve kayganlaştırıcı bir madde olan hiyaluranın tuz formu olan sodyum hiyaluronat içermektedir. Sürfaktan olarak “sulfobetain” içermektedir. Solüsyonun içerik dengesi lizozim gibi gözyaşı proteinlerinin doğal antimikrobiyal fonksiyonunu korumasına yardımcı olmak için tasarlanmıştır. KLDS B %0,0001 polikuaterniyum ve %0,00013 poliaminopropil biguanid olmak üzere çift yönlü bir dezenfeksiyon sistemi içermektedir (Reindel ve ark. 2010).

Kullanılan bakteriler

Deneylerde kullanılan ve hasta numunelerinden (abse ve balgam) izole edilen *S. aureus* (1 adet) ve *P. aeruginosa* (2 adet) suşları İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi’nden temin edilmiştir. Gliserinli tampon çözelti içerisinde -86°C’de saklanmakta olan bu bakteriler önce oda sıcaklığına getirilmiş, daha sonra tripton soy agar (TSA) besiyerine ekilerek 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda Dulbecco’nun fosfat tampon solüsyonu (DPBS) kullanılarak hücre sayıları McFarland 0,5 standart bulanıklık tüpüne göre 1×10^8 hücre/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Aynı süspansiyondaki bakterilerin sayıları spektrofotometrik olarak 660nm dalga boyunda optik densite 0,1 olacak şekilde ayarlanarak kontrol edilmiştir (ISO 14729 2001,

Manuj ve ark. 2006, Zhu ve ark. 2007). Deneylerde kullanılan bakterilerin 5 kereden fazla pasajları yapılmamıştır.

Prosedür

Kontakt lens solüsyonlarının antibakteriyal etkisini araştırmak amacıyla ISO 14729’da belirtilen “bağımsız test” prosedürü kullanılmıştır (ISO 14729 2001). Kısaca, DPBS içerisinde hazırlanan her bir bakteri süspansiyonundan (1×10^8 hücre/ml) 0,1ml alınarak içerisinde 9,9ml kontakt lens solüsyonu bulunan tüplere aktarılmıştır. Tüpler, her kontakt lens solüsyonu için üreticinin önerdiği minimum dezenfeksiyon sürelerinin %0, %25, %50, %75 ve %100’ü boyunca oda sıcaklığında dezenfeksiyona bırakılmıştır (KLDS A için 0, 1,5, 3, 4,5 ve 6 saat; KLDS B için 0, 1, 2, 3 ve 4 saat).

Her bir örnekleme süresinin sonunda tüpler vortekslenmiş ve içeriden 1ml alınarak içerisinde 9ml Dey-Engley Neutralizing broth (DE) bulunan tüplere aktarılmıştır (1:10). Tüpler kontakt lens solüsyonunun nötralizasyonu için 15dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra içerisinde 9ml DE bulunan tüpler kullanılarak seri sulandırılmalar yapılmıştır (1:100, 1:1000). Daha sonra her sulandırılma tüpünden 100µl alınarak TSA besiyerlerine 3 tekrarlı olmak üzere yayma yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan petri kutuları 37°C’de inkübe edilmiş, üreyen bakterilerin sayıları 24. ve 48. saatlerde kaydedilmiş ve daha sonra ortalama logaritmik düşüşleri hesaplanmıştır. Çalışmada her iki kontakt lens solüsyonunun 3 farklı lotu aynı anda çalışılmıştır. Negatif kontrol olarak DPBS kullanılmıştır.

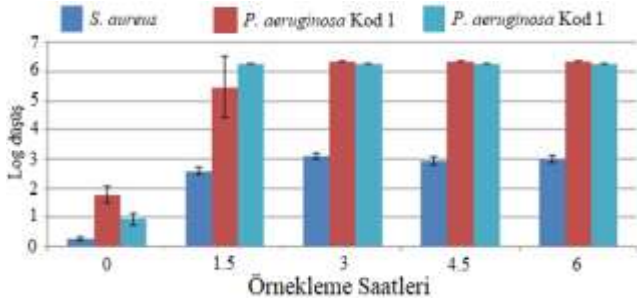
İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) programı ile eşleştirilmiş örneklerde t testi kullanılmıştır. P değerinin 0,05’in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

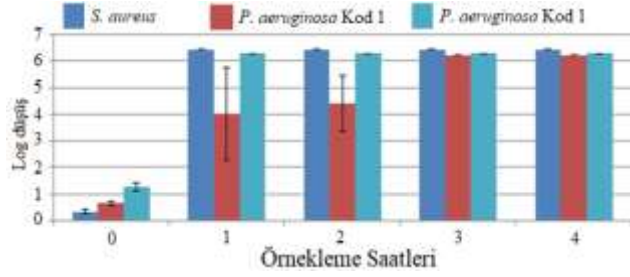
Bulgular

KLDS A’nın 6 saatlik temas süresi boyunca denenen bakteri suşlarının sayılarında meydana getirdiği log düşüşler Şekil 1’de gösterilmiştir. Bu solüsyonun 6 saat sonunda, *S. aureus* sayısında 3 log, *P. aeruginosa* kod 1 sayısında 6,36 log ve *P. aeruginosa* kod 2 sayısında 6,28 log düşüş sağladığı tespit edilmiştir. Üretici tarafından önerilen minimum dezenfeksiyon süresi sonunda KLDS A’ya maruz kalan denenen tüm bakterilerin sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu tespit edilmiştir (p<0,01).

KLDS B’nin 4 saatlik temas süresi boyunca denenen bakteri suşlarının sayılarında meydana getirdiği log düşüşler Şekil 2’de gösterilmiştir. Bu solüsyonun 4 saat sonunda, *S. aureus* sayısında 6,43 log, *P. aeruginosa* kod 1 sayısında 6,21 log ve *P. aeruginosa* kod 2 sayısında 6,29 log düşüş sağladığı tespit edilmiştir. Üretici tarafından önerilen minimum dezenfeksiyon süresi sonunda KLDS B’ye maruz kalan denenen tüm bakterilerin sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu tespit edilmiştir (p<0,01).



Şekil 1. KLDS A'nın klinik bakteriler üzerine etkisi



Şekil 2. KLDS B'nin klinik bakteriler üzerine etkisi

Sonuçlar ve Tartışma

Çok amaçlı dezenfektan solüsyonlar kontakt lenslerin ve kontakt lens saklama kaplarının hijyeninden sorumludurlar. Kontakt lens teknolojisindeki gelişmeler ışığında üretici firmalar, etkinliği artırılmış yeni kontakt lens bakım ürünleri geliştirmişlerdir. Bunlardan en yenileri bu çalışmada kullanılan Alcon'nun ürettiği KLDS A ve Bausch&Lomb'un ürettiği KLDS B adlı çok amaçlı dezenfektan solüsyonlardır. Bu iki üründe de aktif bileşenlerin konsantrasyonları artırılmış, ayrıca farklı aktif bileşenler, örneğin POLYQUAD® bir diğer aktif bileşen olan biguanid veya amidoamin ile bir arada kullanılarak solüsyonların dezenfeksiyon kapasitesinin artırılması hedeflenmiştir.

Çok amaçlı dezenfektan solüsyonlarının antibakteriyal aktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmada, en yeni çok amaçlı dezenfektan solüsyonlardan olan KLDS A, 1,5 saatlik temas süresi sonunda *P. aeruginosa* kod 2, 3 saatlik temas süresi sonunda *P. aeruginosa* kod 1 suşlarını tamamen öldürmüştür. Bu solüsyon *S. aureus* suşunun sayısında ise maksimum azalmayı (3,09 log) 3 saatlik temas süresi sonunda göstermiştir (Şekil 1). Elde edilen bu verilere göre KLDS A'nın, ISO 14729'da belirtilen birincil kriteri sağladığı tespit edilmiştir. Bu solüsyonun etkinliği standart ve çevresel *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşları üzerine de denenmiş ve bu bakterilerin sayılarında da en az 3 log düşüşe neden olduğu saptanmıştır (Üstüntürk 2014, Üstüntürk ve Zeybek, 2014). Kern ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada da, KLDS A'nın standart ve klinik *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşlarının sayılarında üretici tarafından önerilen minimum dezenfeksiyon süresi sonunda en az 4 log düşüş sağladığı rapor edilmiştir. Bu çalışmaya benzer

sonuçların elde edildiği diğer bir çalışma ise Abjani ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilmiş ve KLDS A'nın üretici tarafından önerilen minimum dezenfeksiyon süresi sonunda klinik *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşlarını tamamen öldürdüğü rapor edilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan diğer en yeni çok amaçlı dezenfektan solüsyonlardan olan KLDS B, 1 saatlik temas süresi sonunda *S. aureus* ve *P. aeruginosa* kod 2, 3 saatlik temas süresi sonunda ise *P. aeruginosa* kod 1 suşlarını tamamen öldürmüştür (Şekil 2). Elde edilen bu verilere göre KLDS B'nin, denenen bakterilerin sayılarını üretici tarafından önerilen minimum dezenfeksiyon süresinden de önce (4 saat) en az 3 log düşürerek ISO 14729'da belirtilen birincil kriteri sağladığı tespit edilmiştir. Bu solüsyonun etkinliği standart ve çevresel *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşları üzerine de denenmiş ve *S. aureus* ATCC 6538 (1,38 log düşüş) hariç diğer bakterilerin sayılarında da en az 3 log düşüş sağladığı saptanmıştır (Üstüntürk 2014, Üstüntürk ve Zeybek, 2014). Lapple (2011) tarafından, KLDS B'nin *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşlarının sayılarında üretici tarafından önerilen minimum dezenfeksiyon süresi (4 saat) sonunda en az 4 log düşüş sağladığı rapor edilmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda antibakteriyal aktivitesi test edilen her iki KLDS'inde denenen bakterilere karşı antibakteriyal aktivitelerinin oldukça etkili olmasının sebebinin bu solüsyonların aktif bileşenlerinin konsantrasyonlarının artırılmış olması ve piyasada bulunan diğer KLDS'lerden farklı olarak birden fazla aktif bileşen içermeleri olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte bu çalışma ve yapılan diğer sınırlı sayıdaki çalışmalar göstermektedir ki KLDS A ve KLDS B'nin antibakteriyal aktiviteleri standart, çevresel ve klinik kökenli bakterilere karşı değişkenlik göstermektedir. Özellikle bu çalışmada KLDS A'nın *S. aureus* suşuna karşı ISO 14729'da belirtilen en az 3 log düşüş kriterini sağlamış olmasına rağmen (bağımsız test birincil kriter), bu azalma 3 log sınırında kaldığından ötürü dikkat çekici bulunmuştur.

Kontakt lens dezenfektan solüsyon endüstrisinde yeni formülasyonlar, gelişen teknolojiler ve yapılan bilimsel çalışmalar ile paralel olarak geliştirildiği için ve piyasaya çıkan yeni ürünlerle ilgili sınırlı sayıda bilimsel çalışma bulunduğundan, böyle ürünlerin antibakteriyal aktivitelerinin tam olarak anlaşılabilmesi için farklı kaynaklardan izole edilen daha fazla sayıda suşların kullanılacağı ileriki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmadan elde edilen veriler, ISO standardının güncelleştirilmesine ve en etkili dezenfektan formülünün ortaya çıkartılmasına katkı sağlayacağı kanaatindeyim.

Teşekkür

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: FHZ-2016-22131.

Kaynaklar

1. Abjani, F., Khan, N.A., Jung, S.Y. & Siddiqui, R. 2017. Status of the effectiveness of contact lens disinfectants in Malaysia against keratitis-causing pathogens. *Experimental Parasitology*. doi: 10.1016/j.exppara.2017.09.007.
2. Corbin, G.S., Kading, D.L., Powell, S.M., Rosenblatt, B.D., Secor, G.B., Maissa, C.A. & Garofalo, R.J. 2012. Clinical evaluation of a new multi-purpose disinfecting solution in symptomatic wearers of silicone hydrogel contact lenses. *Clinical Optometry*, 4: 13-24.
3. Devonshire, P., Munro, F.A., Abernethy, C. & Clark, B.J. 1993. Microbial contamination of contact lens cases in the west of Scotland. *British Journal of Ophthalmology*, 77: 41-45.
4. Gray, T.B., Cursons, R.T.M, Sherwan, J.F. & Rose, P.R. 1995. *Acanthamoeba*, bacterial, and fungal contamination of contact lens storage cases. *British Journal of Ophthalmology*, 79: 601-605.
5. International Organization for Standardization ISO/14729. 2001. Ophthalmic optics-Contact lens care products-Microbiological requirements and test methods for products and regimens for hygienic management of contact lenses.
6. Kern, J.R., Kappell, G., Callan, M., McNamee, L., McAnally, C., Walters, R. & Borazjani, R.N. 2011. Antimicrobial properties of a novel contact lens disinfecting solution, OPTI-FREE EverMoist. *Contact Lens and Anterior Eye*, 34: S30.
7. Kilvington, S. 2000. Through a glass darkly: contact lenses and personal hygiene. *Microbiology Today*, 27: 66-69.
8. Kuzman, T., Pokupec, R., Kalauz, M., Juri, J., Bujger, Z. & Presecki, A. 2008. A comparative study of antibacterial and antifungal efficacy of soft contact lens disinfecting solutions. *Acta Clinica Croatica*, 47: 43-48.
9. Lapple, W.J. 2011. The multi-purpose disinfecting solution (MPDS) with unsurpassed disinfection – an easy recommendation for all soft lenses. <http://solution.biotrue.com/Portals/64/PDF/Lapple.pdf> (Erişim tarihi: Şubat 2013).
10. Larkin, D.F.P., Kilvington, S. & Easty, D.L. 1990. Contamination of contact lens storage cases by *Acanthamoeba* and bacteria. *British Journal of Ophthalmology*, 74: 133-135.
11. Manuj, K., Gunderson, C., Troupe, J. & Huber, M.E. 2006. Efficacy of contact lens disinfecting solutions against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Eye and Contact Lens*, 32: 216-218.
12. Reindel, W., Cairns, G. & Merchea, M. 2010. Assessment of patient and practitioner satisfaction with Biotrue™ multi-purpose solution for contact lenses. *Contact Lens and Anterior Eye*, 33S:12-17.
13. Üstüntürk, M. 2014. Kontakt Lens Dezenfektan Solüsyonlarının Antimikrobiyal Etkinliklerinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Doktora Tezi.
14. Üstüntürk, M. & Zeybek, Z. 2012. Microbial contamination of contact lens storage cases and domestic tap water of contact lens wearers. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 124: 17-22.
15. Üstüntürk M. & Zeybek Z. 2014. Çeşitli kontakt lens dezenfektan solüsyonlarının standart ve çevresel bakteriler üzerine etkileri. 22.Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran, Eskişehir, 1502.
16. Yung, M.S., Boost, M., Cho, P. & Yap, M. 2007. Microbial contamination of contact lenses and lens care accessories of soft contact lens wearers (university students) in Hong Kong. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 27: 11-21.
17. Zhu, H., Ding, A., Bandara, M., Willcox, M.D.P. & Stapleton, F. 2007. Broad spectrum of antibacterial activity of a new multipurpose disinfectant solution. *Eye and Contact Lens*, 33: 278-283.