

Topikal Anesteziklerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of Antimicrobial Activities of Topical Anesthetics

Dr. Gözde ORMAN,^a
Dr. Cem ÇANKAYA,^a
Dr. Selim DOĞANAY,^a
Selami GÜNAL,^b
Dr. Barış OTLU^b

^aGöz Hastalıkları AD,
^bMikrobiyoloji AD,
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya

Geliş Tarihi/Received: 13.10.2009
Kabul Tarihi/Accepted: 20.04.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Cem ÇANKAYA
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göz Hastalıkları AD, Malatya,
TÜRKİYE/TURKEY
cem_cankaya@yahoo.com

ÖZET Amaç: Topikal anestezi olarak kullanılan ilaçların antimikrobiyal aktivitelerini araştırmak. **Gereç ve Yöntemler:** Test maddeleri (oksibuprokain %0.4, proparakain hidroklorür %0.5, lidokain %10), Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre değişik konsantrasyonlarda modifiye mikroplak alamar mavi yöntemi (MABA) ile *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 29213, *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) ATCC 27336, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 27853, *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922 standart suşlarına ve *Candida albicans* (*C. albicans*) mantarına karşı test edildi. **Bulgular:** *S. pneumoniae* her üç topikal anestetik için tüm kullanılan dilüsyonlarında ürememiştir. *S. aureus*; oksibuprokain'in ve lidokainin tüm dilüsyonlarında üremiş, proparakain hidroklorürün tüm dilüsyonlarında ise ürememiştir. *P. aeruginosa*; oksibuprokainin (%0.2) ve lidokainin (%2.5, %5) dilüsyonlarından sonra, proparakain hidroklorürün tüm dilüsyonlarında üremiştir. *C. albicans*, oksibuprokainin (%0.05, %0.025) dilüsyonlarında, lidokainin (%1.25, %0.625) dilüsyonlarında ve proparakain hidroklorürün (%0.125, %0.0625, %0.0312) dilüsyonlarında üremiştir. *E. Coli*, oksibuprokainin tüm dilüsyonlarında, lidokainin %0.625 dilüsyonunda ve proparakain hidroklorürün (%0.125, %0.0625, %0.0312) dilüsyonlarında üremiştir. **Sonuç:** Oküler yüzey enfeksiyonlarında, örnek toplama öncesinde kullanılan topikal anestetikler, mikroorganizmaların üremesini inhibe ederek kültür üremelerinde yanlış sonuçlara neden olabilir. Bu nedenle topikal anestetiklerin ve dilüsyonlarının, bakteriyel üreme üzerindeki etkilerinin bilinmesi önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Anti-enfektif ajanlar, lokal; anestetikler, lokal; göz enfeksiyonları

ABSTRACT Objective: To investigate the antimicrobial activities of the drugs used as topical anesthetics. **Material and Methods:** Test drugs (oxybuprocaine 0.4%, proparacaine hydrochloride 0.5%, lidocaine 10%) were tested for *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 29213, *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) ATCC 27336, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 27853, standard strains of *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922 and *Candida albicans* (*C. albicans*) using modified microplate alamar blue method (MABA) in different concentrations according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) criteria. **Results:** *S. Pneumoniae* proliferated in none of the dilutions of three topical anesthetics. *S. aureus* proliferated in all dilutions of oxybuprocaine and lidocaine and in no dilutions of proparacaine hydrochloride. *P. Aeruginosa* proliferated in 0.2% dilution of oxybuprocaine and 2.5% and 5% dilutions of lidocaine and in all dilutions of proparacaine hydrochloride. *C. albicans* proliferated in 0.05% and 0.025 % dilutions of oxybuprocaine, 1.25% and 0.625% dilutions of lidocaine, 0.125%, 0.0625% and 0.0312 % dilutions of proparacaine hydrochloride. *E. Coli* proliferated in all dilutions of oxybuprocaine, 0.625% dilutions of lidocaine and 0.125%, 0.0625% and 0.0312 % dilutions of proparacaine hydrochloride. **Conclusion:** Topical anesthetics that are used before sample collection in superficial ocular infections can cause false results in cultures by inhibating proliferations of microorganisms. Thus, it is important to know the effects of topical anesthetics and dilutions on bacterial proliferation.

Key Words: Anti-infective agents, local; anesthetics, local; eye infections

doi:10.5336/medsci.2009-15695

Copyright © 2011 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2011;31(2):386-9

Oküler yüzey enfeksiyonlarının etkili tedavisi için, enfeksiyona neden olan mikroorganizmaların mikrobiyolojik yöntemlerle erken dönemde saptanması ve spesifik antimikrobiyal tedavinin hastaya hemen başlanması gerekmektedir. Ancak pozitif kültür sonuçları oldukça düşüktür.¹ Konjonktival ve/veya korneal örnekler alınmadan önce çeşitli çalışmalarda antibakteriyel aktiviteleri olduğu gösterilen topikal anestezi göz damlalarının damlatılması, bu düşük kültür sonuçlarına neden olabilir.²

Çalışmamızın amacı, ülkemizde topikal anestezi olarak kullanılan oksibuprokain, lidokain ve proparakainin antibakteriyel aktivitelerini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

BAKTERİ VE MANTAR SUŞLARI

S. aureus ATCC 29213, *S. pneumoniae* ATCC 27336, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 (American Type Culture Collection, Rockville, MD) standart suşları ve *C. albicans* (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümünden temin edilen) suşu kullanıldı. Bakteriler Müller-Hinton Broth (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. Mumbai-India), mantar RPMI 1640 Broth (Sigma-Aldrich Chemie GmbH Taufkirchen, Germany) besiyerinde sub kültüre alındı. Bakteri ve mantar süspansiyonları Mac Farland 0.5 yoğunluğunda hazırlandı. Hazırlanan mikroorganizma süspansiyonları kullanılmadan önce 1/10 oranında sulandırıldı.^{3,4}

ALAMAR BLUE DUYARLILIK TESTİ MABA

Duyarlılık testi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre modifiye mikrop-lak alamar mavisi yöntemi (MABA) ile yapıldı. Doksan altı kuyucuklu mikrop-laklar kullanıldı.⁶ Test kuyucuklarındaki buharlaşmayı önlemek için tüm kenar kuyucuklar steril distile su ile dolduruldu. Test kuyucuklarının hepsine Müller-Hinton Broth besiyerinden 100 µl dağıtıldı.

Test maddelerinden 100 µl alınarak oksibup-rokain (Benoxinate, Liba, İstanbul, Türkiye) için %0.2, %0.1, %0.05 ve %0.025, proparakain (Alcai-

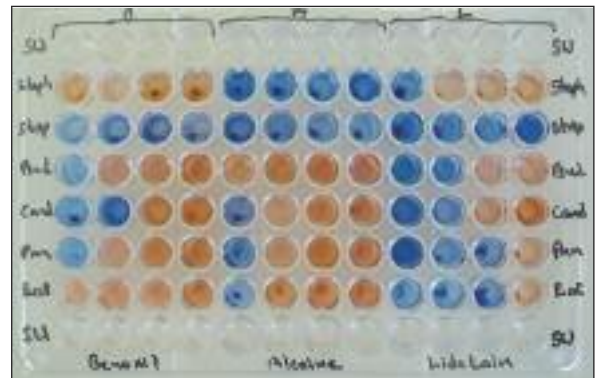
ne, Alcon, İstanbul, Türkiye) için %0.25, %0.125, %0.0625 ve %0.0312, lidokain (Aritmal, Osel, İstanbul, Türkiye) için %5, %2.5, %1.25 ve %0.625 dilüsyonlar hazırlandı. Tüm test kuyucuklarına 100 µl bakteri ve mantar süspansiyonundan dağıtıldı. Altı adet üreme kontrol kuyucuğu kullanıldı (besiyeri ve bakteri süspansiyonu). Mikrop-laklar streç filmle kapatılarak 36°C'de 20 saat inkübe edildi. 50 µl alamar blue (Invitrogen Corporation Carlsbad, CA) kontrol kuyucuğuna eklendi. Otuz altı°C'de iki saat tekrar inkübe edildi. Kontrol kuyucuğundaki renk pembe olduğunda tüm test kuyucuklarına 50 µl alamar blue eklendi ve iki saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki pembe renk üreme, mavi renk üreme yok olarak değerlendirildi (Resim 1).

BULGULAR

Yüzde 0.4' lük oksibuprokainin tüm konsantrasyonlarında *S. aureus* ve *E. coli* üremişken, *S. pneumoniae*'nin üremesi tüm konsantrasyonlarda inhibe olmuştur. *P. aeruginosa* ve *S. pneumoniae*; oksibuprokainin %0.1'lik, *C. albicans* ise %0.05'lik konsantrasyonundan sonra üremiştir (Tablo 1).

Yüzde 0.5'lik proparakainin tüm konsantrasyonlarında *S. aureus* ve *S. pneumoniae* türleri ürememişken, *P. aeruginosa*, proparakainin tüm konsantrasyonlarında üremiştir. *E. coli*, *S. pneumoniae* ve *C. albicans*, proparakainin %0.125'lik konsantrasyonundan sonra üremiştir (Tablo 1).

Yüzde 10'luk lidokainin tüm konsantrasyonlarında *S. pneumoniae*'nin üremesi inhibe olmuş-



RESİM 1: İnkübasyon kuyucuklarında anestetik ilaçların üreme profilleri görülmekte.

Pembe renk: üreme mevcut, mavi renk: üreme yok.

TABLO 1: Topikal anesteziğin (oksibuprokain, proparakain ve lidokain) farklı dilüsyonlarında *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae*, *E. coli* ve *C. albicans*'in üreyebilme profilleri.

	Oksibuprokain				Proparakain				Lidokain			
	%0.2	%0.1	%0.05	%0.025	%0.25	%0.0125	%0.0625	%0.0312	%5.0	%2.5	%1.25	%0.625
<i>S.aureus</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>E.faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>S.pneumoniae</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
<i>E.coli</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
<i>C.albicans</i>	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+

(+): üreme var, (-): üreme yok.

tur. Yüzde 2.5'lük konsantrasyondan itibaren *S. aureus* üremişken, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* %1.25'lik konsantrasyonundan sonra üremiştir. *S. pneumoniae* ve *E. coli* ise lidokainin %0.625'lik konsantrasyonundan sonra üremiştir (Tablo 1).

Streptokok her üç topikal anestetikğin tüm kullanılan dilüsyonlarında ürememiştir (Tablo 1).

TARTIŞMA

Lokal anesteziğin, sinir lifleriyle uygun konsantrasyonda temas ettiklerinde bu liflerdeki impuls iletimini geri dönecek şekilde bloke eden ilaçlardır, ayrıca sadece sinir lifi membranını değil, uyarılabilir tüm hücre membranlarını doza bağımlı olarak etkilerler.⁵

Lokal anesteziğin lokal anesteziğin etkilerinin yanısıra analjezik, antiaritmik, antibakteriyel/anti-fungal, antitrombotik, antikonvülfif, nöroprotektif, antiinflamatuvar, DNA aşılarda DNA taşınması, anti tümör ilaçlardan sisplatinin kullanımında hem etkinliğini artırma hem de nefrotoksik ve hemotoksik etkilerini azaltma gibi etkileri de vardır. Ancak klinikte bu etkilerinden en çok istifade edilenleri, lokal anesteziğin, antiaritmik ve analjezik etkileridir.⁵

Lokal anesteziğin antibakteriyel etkilerinden; büyümenin inhibisyonu, yaşayan hücre sayısında azalma, protoplastların yıkımı, membran geçirgenliğinde değişiklik, karakteristik ultrayapısal değişiklikler ve membran bağımlı enzimatik aktivitenin inhibisyonu sorumlu tutulmaktadır.³

Çalışmamızda sıra ile en çok lidokain, sonra proparakain ve en az oksibuprokainin antimikrobiyal aktivitesi olduğunu gözlemledik.

Çalışmamızda ortaya çıkan bulguların aksine Labetolle ve ark.,⁴ lidokainin oksibuprocaine, tetracaine ve benzalkoniuma göre korneal örnek toplama öncesinde kullanılabilecek en uygun topikal anestetik olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada %0.2'lik oksibuprokain ve %0.4'lük tetracainin en yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Oğuz ve ark.,⁶ proparakainin konjonktival floradan alınan kültürlerde, pozitif sonuçları düşürdüğünü göstermişlerdir. Benzer bir çalışmada da proparakainin konjonktival flora üzerinde inhibitör etkisi olduğu bulunmuştur.⁷

Bazı çalışmalarda tetrakain, benoksinate, kokain, klorobutanol ve butil p-hidroksbenzoatın değişik dilüsyonlarda *P. aeruginosa*, *S. albus* ve *C. albicans*'i inhibe ettiği bulunmuştur.⁸

Badenoch ve Coster⁹ ise %0.001'lik klorhekzidin diasetat ve %0.2'lik borik asit içeren oksibuprokainin, en yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduklarını saptamışlardır.

Çalışmamızda prezervan içeren topikal anesteziğin kullanılmamasının nedeni korneal ve/veya konjonktival sürüntü örneği alımlarında, poliklinik ortamında korneal sütür almadan önce veya ameliyat öncesi anestezi hazırlığında, ülkemiz göz kliniklerinde poliklinik ve ameliyathane şartlarında günlük olarak kullandığımız bu damlaların, antibakteriyel etkileri ile yanlış negatif kültür sonuçlarına neden olmasını göstermekti. Yapılan bir çalışmada %0.005'lik benzalkonyum (BAK) içeren gatifloksasin solüsyonunun, BAK içermeyen

%0.5'lik moksifloksasin ve sadece %0.005'lik BAK ile kıyaslandığında daha çok stafilokok eradikasyonu yaptığı gösterilmiştir.¹⁰ Yine başka bir çalışmada tavşan gözlerinde oluşturulan intrastromal keratitlerde kullanılan BAK'ın %0.3'lük gatifloksasinin antibakteriyel akivitesini arttırdığı tespit edilmiştir.¹¹ Her ne kadar kullanıldığımız topikal anestetiklerin prezervan madde içeriyor olması bu tür mikrobiyolojik bir çalışmada sonuçları etkilese de, pratikte bu damlaların kullanılıyor olması sonuçların kabul edilebilir olacağını düşündürmektedir.

Pelosini ve ark.nın¹² yaptığı bir çalışmada, en çok antibakteriyel etkiye sahip topikal anestetik tetrakain, daha sonra oksibuprokain ve en az etkili ise proksimetakain olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda ilginç olarak her üç topikal anesteziğin en düşük dilüsyonlarında dahi streptokok büyümesi inhibe olmuştur. Endoftalmi ve oküler yüzey enfeksiyonlarının en sık nedenlerinden olan *S. aureus*'un ise kliniklerimizde en çok kullanılan topikal anestetik olan proparakainin en dü-

şük konsantrasyonlarında dahi üreyememiş olması dikkat çekicidir.

Sonuç olarak rutinde kullandığımız bu damlaların, oküler yüzey enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmaların çoğalması üzerindeki inhibitör etkisi, korneal ve/veya konjonktival kültürlerin yalancı negatif sonuçlanmasına, tedavide yanlış antibiyoterapi başlanmasına ve spesifik antibiyoterapileri kullanmakta gecikmelere neden olabilmektedir. Aynı zamanda bu damlalar, kullanıldığı tıbbi ve cerrahi girişimlerde antibakteriyel etkilerinden dolayı enfeksiyon riskini de azaltabilirler. Bu nedenle pratikte çok sık kullandığımız bu damlaların ne tür etkilere yol açabileceğini akılda tutmak gerekmektedir. Bununla birlikte topikal anestetiklerin konjonktiva florası üzerinde antibakteriyel etkileri ile ilgili literatürde yeni araştırmalar yapılmasını gerektirmeyecek düzeyde, oldukça fazla çalışma ve veri mevcuttur. Bu çalışmaların sonuçları ile kendi çalışmamızı karşılaştırdığımızda, topikal anestetiklerin belli konsantrasyonlarda farklı antibakteriyel etkiye sahip olduklarını gözlemekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Knox CM, Cevallos V, Dean D. 16S ribosomal DNA typing for identification of pathogens in patients with bacterial keratitis. *J Clin Microbiol* 1998;36(12):3492-6.
2. Kleinfeld J, Ellis PP. Effects of topical anesthetics on growth of microorganisms. *Arch Ophthalmol* 1966;76(5):712-5.
3. Silva MT, Sousa JC, Polónia JJ, Macedo PM. Effects of local anesthetics on bacterial cells. *J Bacteriol* 1979;137(1):461-8.
4. Labetoulle M, Frau E, Offret H, Nordmann P, Naas T. Non-preserved 1% lidocaine solution has less antibacterial properties than currently available anaesthetic eye-drops. *Curr Eye Res* 2002;25(2):91-7.
5. Erdine S, Yücel A. [Peripheral nerve physiology and local anesthetic agents]. Erdine S, editör. *Rejyonel Anestezi*. 1. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2005. p.23-44
6. Oğuz H, Oğuz E, Sobacı G, Aslan G. [The effect of topical anesthetic proparacaine on normal conjunctival flora]. *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol* 2000;9(3):175-8.
7. Mullin GS, Rubinfeld RS. The antibacterial activity of topical anesthetics. *Cornea* 1997; 16(6):662-5.
8. Kleinfeld J, Ellis PP. Inhibition of microorganisms by topical anesthetics. *Appl Microbiol* 1967;15(6):1296-8.
9. Badenoch PR, Coster DJ. Antimicrobial activity of topical anaesthetic preparations. *Br J Ophthalmol* 1982;66(6):364-7.
10. Hyon JY, Eser I, O'Brien TP. Kill rates of preserved and preservative-free topical 8-methoxy fluoroquinolones against various strains of *Staphylococcus*. *J Cataract Refract Surg* 2009;35(9):1609-13.
11. Romanowski EG, Mah FS, Kowalski RP, Yates KA, Gordon YJ. Benzalkonium chloride enhances the antibacterial efficacy of gatifloxacin in an experimental rabbit model of intrastromal keratitis. *J Ocul Pharmacol Ther* 2008;24(4):380-4.
12. Pelosini L, Treffene S, Hollick EJ. Antibacterial activity of preservative-free topical anesthetic drops in current use in ophthalmology departments. *Cornea* 2009;28(1):58-61.