

Ön Blefariti Olan Olgularda Biyofilm Üretme Özelliği Olan Koagülaz Negatif Stafilokok Görülme Sıklığı

SLIME POSITIVE COAGULASE NEGATIVE STAPHYLOCOCCI FREQUENCY
OF PATIENTS WITH ANTERIOR BLEPHARITIS

Dr. Gürsoy ALAGÖZ,^a Dr. Oğuz KARABAY,^b Dr. Didem SERİN^a

^aGöz Hastalıkları AD, ^bİnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi, BOLU

Özet

Amaç: Ön blefariti olan hastalarda koagülaz negatif stafilokokların (KNS) üreme sıklığı ve üreyenlerde biyofilm (slime) oluşturma sıklığının araştırılması.

Gereç ve Yöntemler: Ön blefariti olan 33 hastadan ve benzer yaş grubunda blefariti olmayan 20 olgudan alt kapak forniks konjonktivası ve kirpik diplerinden dakron uçlu çubuk ile kültür için 2 ayrı örnek alındı. Olgulardan alınan sürüntü örnekleri %5 koyun kanlı agarda ekildikten sonra 37°C'de 18 saat inkübe edildi. Klasik bakteri tanımlama yöntemleri kullanılarak KNS tanısı konuldu ve KNS'lerinin patojenitesinde önemi bulunan biyofilm oluşturma özelliği tüp adherans yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular: Ön blefariti olan grupta 21 (%63.6) olguda KNS tespit edilirken, kontrol grubunda 8 olguda (%40.0) KNS saptandı ($p > 0.05$). Ön blefarit grubunda saptanan 21 KNS örneğinin 15'inde (%71.4) biyofilm üretimi varken, kontrol grubundaki 8 KNS'nin 2'sinin (%25.0) biyofilm ürettiği saptandı ($p < 0.05$).

Sonuç: Ön blefaritli olgularda KNS üremesi daha fazla olup, üreyen KN'lerin, blefariti olmayan olgularda üreyen stafilokoklara göre daha fazla biyofilm üretme özelliği bulunduğu görüldü. Ön blefaritin etiyopatogenezinde diğer faktörlerin yanı sıra, koagülaz negatif stafilokokların biyofilm oluşturma özelliğinin de önemli bir etken olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Blefarit, glikoprotein, ekstraselüler slime, bakteri, staphylococcus

Türkiye Klinikleri J Ophthalmol 2006, 15:77-79

Abstract

Objectives: To investigate the growth rate of coagulase negative staphylococci (CNS) in patients with anterior blepharitis and in control patients and to assess the frequency of slime production in patients with positive cultures.

Material and Methods: Two specimens from the lower eyelid forniceal conjunctiva and eyelashes of 33 patients with anterior blepharitis and 20 age matched control patients were obtained with a dacron tipped rod for culture. After the specimens were placed in 5% sheep blood agar plate, they were incubated at 37°C for 18 hours. Slime production by the bacteria was evaluated by tube adherence following isolation of CNS with classical methods.

Results: CNS were isolated from 21 (63.6%) and 8 (40%) patients in anterior blepharitis and control groups, respectively ($p > 0.05$). Slime production was noted in 15 patients out of 21 (71.4%) in the anterior blepharitis group and 2 patients out of 8 (25%) in the control group ($p < 0.05$).

Conclusion: The frequency of slime production of CNS isolated from patients with anterior blepharitis is higher than that of CNS isolated from control patients. Together with other etiological factors, slime production property of CNS may have a significant role in the pathogenesis of anterior blepharitis.

Key Words: Blepharitis, glycolipoprotein, extracellular slime, bacteria, staphylococcus

Blefarit, kirpik diplerinin iltihabıdır ve göz hekimlerinin sıklıkla karşılaştığı bir hastalıktır. Blefaritler anatomik tutulumuna göre ön ve arka blefarit olarak ikiye ayrılır. Ön

blefaritler ise stafilokoksik ve seboreik blefarit olmak üzere 2 alt başlık altında değerlendirilebilir.¹ Blefaritli hastalarda en sıklıkla izole edilen bakteri *Staphylococcus epidermidis*dir.^{2,3} Stafilokokların neden olduğu blefaritte, bakterinin üretim salgıladığı enzim ve toksinler hastalığa neden olmaktadır.⁴ Ayrıca koagülaz negatif stafilokokların (KNS) bir kısmı ekstraselüler polisakkarit olan biyofilm üretmektedir ve bu madde adeta bir kapsül işlevi görerek, bakterinin fagosite edilmesini zorlaştırdığı, infeksiyon oluş-

Geliş Tarihi/Received: 31.03.2006 Kabul Tarihi/Accepted: 15.09.2006

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Gürsoy ALAGÖZ
Abant İzzet Baysal Üniversitesi
İzzet Baysal Tıp Fakültesi,
Göz Hastalıkları AD, BOLU
gursoyalagoz@hotmail.com

Copyright © 2006 by Türkiye Klinikleri

turma yeteneğini ve antibiyotiklere direncini artırdığı bildirilmektedir.⁵⁻⁷

Bu çalışmada kliniğimize başvuran ön blefaritli olgularda KNS üreme oranı ve üreyen KNS'lerin biyofilm oluşturma özellikleri araştırıldı.

Gereç ve Yöntemler

A.İ.B.Ü. İzzet Baysal Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Polikliniğinde Mart 2004 ile Nisan 2005 tarihleri arasında ön blefarit tanısı konan 33 ve benzer yaş grubundaki rastgele seçilen 20 kontrol olgusu çalışma kapsamına alındı. Çalışmaya alınan olguların sistemik göz muayeneleri yapıldı. Ön blefarit tanısı, kirpik üzerinde kepeklenme, kabuklanma, mikropeteşiler ve keratokonjonktivitin varlığına göre konuldu. Son 1 yıl içinde blefarit tedavisi alan, kronik ilaç kullanan, son 3 ayda antibiyotik kullanma hikâyesi olan, diyabet, akne rozasea, pemfigoid hastalıkları olan, oküler cerrahi geçirmiş olan hastalar çalışmaya alınmadı. Mikrobiyolojik inceleme için olguların alt kapak forniks konjonktivasından ve kirpik diplerinden kültür için dakron uçlu çubuk ile 2 ayrı örnek alındı. Birinci örnek, hasta yukarı bakar pozisyonda iken alt kapak açılıp çubuk fornikse sürülerek alındı. İkinci örnek ise hastalar aşağı bakar pozisyonda iken üst kapak kenarı kirpik dibi lateral kantüsten punktuma dek boylu boyunca çubukla sıvazlanarak alındı. Bu örneklerde herhangi birinde ya da her 2'sinde üreme olması, pozitif olgu olarak değerlendirildi.

Mikrobiyolojik İncelemeler

Olgulardan alınan sürüntü örnekleri %5 koyun kanlı agarda ekildikten sonra 37 santigrat derecede 18 saat inkübe edildi. Stafilocok suşları koloni morfolojileri, üreme ve Gram boyanma özellikleri, katalaz ve koagülaz testleri ile tanımlandı. Koagülaz testleri dry Spot Staphylect Plus (Oxoid) ile gerçekleştirildi. Sayılan klasik yöntemlerle KNS tanısı konulduktan sonra, bakterilerin biyofilm oluşturma özelliği Christiensen ve ark. tarafından tarif edilen tüp adherens testi kullanılarak araştırıldı.⁸

Bu çalışmada Helsinki deklarasyonuna uyulmuş ve yerel etik komite tarafından onay alınmıştır. Gruplar birbiri ile cinsiyet, KNS izole edilenler

ve KNS izole edilenlerde biyofilm pozitifliği oluşumu açısından χ^2 testi, yaş değişkeninin ise kolmogorov-Smirnov testine göre normal dağılımda olduğu tespit edilmesine üzerine bağımsız t testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Bulgular

Çalışmaya alınan olguların 33'ü ön blefaritli ve 20'si kontrol olgusu idi. Ön blefaritli olguların 13'ü kadın (%39.4), 20'si erkek (%90.6) ve kontrol grubunun 10'u kadın (%50), 10'u (%50) erkekti (p= 0.32). Ön blefarit olgularının yaş ortalaması 43.2 ± 16.1 ve kontrol olgularının yaş ortalaması 38.8 ± 14.0 olarak saptandı (p= 0.85) (Tablo 1).

Alınan kültür örneklerinden ön blefarit grubunda KNS 21 olguda (%63.6) tespit edilirken, kontrol grubunda 8 olguda (%40.0) saptandı (p= 0.32) (Tablo 1). Ön blefarit grubunda saptanan 21 koagülaz negatif stafilocok örneğinin 15'inde (%71.4) biyofilm üretimi varken, kontrol grubundaki 8 örneğin 2'sinde (%25.0) tespit edildi (p= 0.03) (Tablo 1).

Tartışma

Kirpik diplerinin enflamasyonu olan blefaritin etiyojisi halen tam olarak ortaya konmamıştır.⁹ Blefaritin en sık sebebi olan KNS'ler normalde kapak ve konjonktiva florasında bulunurlar ve ürettikleri toksin ve enzimlerle blefarit yanında konjonktivit ve keratit gibi göz enfeksiyonlarına da neden olabilirler.^{2,4} KNS'lerin bir kısmı hücre dışına biyofilm adı verilen bir ekstraselüler polisakarit salgırlar. Biyofilm, bakterinin virülansını

Tablo 1. Ön blefarit ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet, stafilocok üreme ve üreyen stafilocokların biyofilm üretme sıklığınının karşılaştırılması.

	Ön Blefarit Grubu (n: 33)	Kontrol Grubu (n: 20)	P
Kadın/Erkek	13/20	10/10	p= 0.32
Ortalama yaş	43.2 ± 16.1	38.8 ± 14.0	p= 0.85
KNS izole edilenler oranı (%)	21/33 (63.6)	8/20 (40.0)	p= 0.08
İzole edilen KNS biyofilm üretim sıklığı (%)	15/21 (71.4)	2/8 (25.0)	p= 0.03

KNS: Koagülaz negatif stafilocok

arttırmakta; bunu bakterinin dokuya yapışmasını kolaylaştırarak, fagositozu önleyerek ve fagositoza uğramış bakterinin polimorfonükleer hücreler tarafından öldürülmesini engelleyerek sağlamaktadır.^{7,10}

Nayak ve ark.nın yaptığı çalışmada KNS'lere bağlı bakteriyel keratiti olan 126 hastanın ve 50 keratiti olmayan KNS üreyen kontrol olgusunun biyofilm üretmesi ve ilaç direnci araştırılmış, keratitli olgularda %70 biyofilm üretimi varken, kontrol grubunda bu oran %22 olarak tespit edilmiştir.⁶ Bu çalışmada üreyen KNS'lerde 3 ve üzerinde ilaca rezistans gelişimi, biyofilm oluşturanlarda anlamlı derecede fazla olarak tespit edilmiştir.⁶ Sepsisli olgularda yapılan bir çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiş ve alınan kültürlerde üreyen KNS'lerin çoğunlukla biyofilm üreten stafilokoklar olduğu ve biyofilm üreten suşların üretmeyenlerden daha fazla ilaç direncinin bulunduğu gösterilmiştir.^{5,11-13} Vücut florasında benzer oranlarda biyofilm üreten ve üretmeyen KNS bulunmasına rağmen sepsis, keratit ve blefarit gibi hastalıkları yapan etkenin çoğunlukla biyofilm üreten KNS'ler olduğu anlaşılmaktadır.^{5,6,11-14} Bizim çalışmamızda ise ön blefaritli olgulardan alınan kültürde üreyen KNS'lerin biyofilm üretiminin, blefariti olmayan olgulardan anlamlı derecede fazla olduğunu tespit ettik. Bu durum blefarit etkeni olan KNS'lerin biyofilm polisakkariti üretiminin hastalık patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürülebilir. Ancak blefaritli olgularla sağlam olgulardan üretilen KNS'lerin biyofilm üretiminin ve ilaç direncinin benzer olduğunu tespit eden çalışmalar da mevcuttur.⁷

Stafilokokal blefarit etiopatogenezinde birçok enzim ve toksin rol oynamaktadır.^{3,14} Bu faktörlerden bazıları henüz aydınlatılamamıştır. Biyofilm üretimi, bakteriyi fagositozdan koruduğu gibi, gram pozitif bakterilerde iltihabi mekanizmalarda önemli rolü olan süper antijen gibi davranışa da neden olabilir. Böylece non-selektif bölgede antijenik uyarıma cevap veren hücrel immünite hücrelerinin, blefarit etiopatogenezinde rolü olabilir. Ayrıca konjonktival kültürlerde üretilen KNS bakterileri çoğu zaman flora bakterisi olarak adlandırılabilir. Ancak KNS bakterilerine flora bakterisi demeden önce, biyofilm üretimine

ait mikrobiyolojik testlerin yapılması gerektiğini düşünüyoruz. Ancak bu konuda kesin bir yargıya varmak için moleküler testlerin de kullanıldığı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak ön blefarit olgularında, biyofilm üreten koagülaz negatif stafilokokların daha fazla kolonize olduğu saptanmıştır. Ancak biyofilm üreten koagülaz negatif stafilokok bakterilerin, hastalığın patogenezindeki rolünü açıklamak için, ileri çalışmalara gereksinim olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Hussein N, Schwab IR, H.B. O. Blepharitis. In: Tasman W, ed. Duane's Clinical Ophthalmology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p.22.
2. Groden LR, Murphy B, Rodnite J, Genvert GI. Lid flora in blepharitis. *Cornea* 1991;10:50-3.
3. Dougherty JM, McCulley JP. Bacterial lipases and chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986;27:486-91.
4. Tetz MR, Klein U, Volcker HE. Staphylococcus-associated blepharokeratoconjunctivitis. Clinical findings, pathogenesis and therapy. *Ophthalmologie* 1997;94:186-90.
5. Kotilainen P, Nikoskelainen J, Huovinen P. Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococcal blood isolates with special reference to adherent, slime-producing Staphylococcus epidermidis strains. *Scand J Infect Dis* 1991;23:325-32.
6. Nayak N, Satpathy G. Slime production as a virulence factor in Staphylococcus epidermidis isolated from bacterial keratitis. *Indian J Med Res* 2000;111:6-10.
7. Oto S, Aydın P, Ciftcioglu N, Dursun D. Slime production by coagulase-negative staphylococci isolated in chronic blepharitis. *Eur J Ophthalmol* 1998;8:1-3.
8. Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime-producing strains of Staphylococcus epidermidis to smooth surfaces. *Infect Immun* 1982;37:318-26.
9. Kanski JJ. Clinical Ophthalmology. Chronic Blepharitis. 3rd ed. London: Butterworth-Heinemann; 1994. p.74.
10. Kristinsson KG, Hastings JG, Spencer RC. The role of extracellular slime in opsonophagocytosis of Staphylococcus epidermidis. *J Med Microbiol* 1988;27:207-13.
11. Wolff LS, Orchansky E, Jimenez MG, Paolasso RW. Production of slime by coagulase-negative staphylococci as a marker of systemic infection in newborn infants. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1991;9:551-3.
12. Elçi S, Gül K, Özel F, Suay A, Mete Ö. Koagülaz-negatif stafilokoklarda makro ve mikro yöntemle "slime" oluşumunun saptanması ve antibiyotik direncinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 1996;103:203-6.
13. Gürdoğan K, Aktaş F, Dizbay M. Kan kültürlerinden izole edilen koagülaz-negatif stafilokokların klinik öneminin değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 1996;10:203-6.
14. Seal D, Ficker L, Ramakrishnan M, Wright P. Role of staphylococcal toxin production in blepharitis. *Ophthalmology* 1990;97:1684-8.