



# Göz İçi Lensler Üzerinde, *icaA* ve *icaD* Genleri Pozitif ve Negatif olan İki *Staphylococcus Epidermidis* Klinik Suşunun Biyofilm Oluşturma Özelliklerinin Karşılaştırılması

## Comparison of Biofilm Formation Capacities of Two Clinical Isolates of *Staphylococcus Epidermidis* with and without *icaA* and *icaD* Genes on Intraocular Lenses

Sertaç Argun Kıvanç\*, Merih Kıvanç\*\*, Volkan Kılıç\*\*, Gülay Güllülü\*\*\*, Ahmet Tuncer Özmen\*

\*Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

\*\*Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

\*\*\*Armedica Göz Merkezi, Göz Hastalıkları Kliniği, Darıca, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Biyofilm oluşturma kapasiteleri bilinen iki *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) izolatının daha önce çalışılmamış dört farklı göz içi lensi (GİL) üzerinde biyofilm oluşturma özelliklerinin karşılaştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Daha önceki çalışmalarda oküler yüzeyden izole edilip Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda -86 °C'de %15 gliserol içinde muhafaza edilen *icaA*, *icaD* ve *bap* pozitif ve yüksek biyofilm oluşturduğu bilinen *S. epidermidis* KA 15,8 izolatı (ICA+) ile *icaA*, *icaD* ve *bap* negatif biyofilm oluşturmadığı bilinen *S. epidermidis* KA 14,5 (ICA-) izolatı saflaştırılarak kullanıldı. Biyofilm oluşturma özellikleri dört farklı GİL üzerinde karşılaştırıldı. İki tanesi katlanabilir akrilik lens idi [UD613(GİL A) Türkiye; SA60AT(GİL B), ABD]. Diğer iki tanesi ise polimetilmetakrilat (PMMA) [B60130C(GİL C), Hindistan; B55125C(GİL D), Hindistan] lensi. Lenslerin üzerinde oluşan biyofilmlerde bakteri sayımı ve optik yoğunluk ölçümü yapıldı. Oluşan biyofilmler scanning elektron mikroskopu ile görüntüldü.

**Bulgular:** Biyofilm üretici olduğu bilinen İCA lokusu bulunan suş ile lensler üzerinde ortalama bakteri sayısının  $7,1 \pm 0,4 \log_{10}$  CFU/mL, İCA lokusu negatif (ICA-) olan izolatla ise  $6,7 \pm 0,8 \log_{10}$  CFU/mL bulundu, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Biyofilm oluşumu akrilik lenslerde, PMMA lenslere göre her iki suş ile de daha düşük olarak bulundu ( $p=0,009$  ve  $p=0,013$ ). Her iki izolat ile de en yüksek biyofilm oluşumu bir PMMA lens olan GİL C üzerinde ( $p<0,001$ ), en düşük biyofilm oluşumu da hidrofobik özellik gösteren bir hidrofilik akrilik lens olan GİL A üzerinde oldu ( $p<0,001$ ).

**Sonuç:** Biyofilm oluşumu sonrası ölçülen bakteri sayısı, akrilik lenslerde ve özellikle hidrofobik davranış gösteren hidrofilik akrilik bir lensin üzerinde az bulunmuştur. Bu araştırmanın sonuçlarının ileri dönemde yapılacak hayvan çalışmaları ve *in vivo* çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyofilm, göz içi lens, *Staphylococcus epidermidis*, hidrofobik, hidrofilik

### Abstract

**Objectives:** To compare biofilm formations of two *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) isolates with known biofilm formation capacities on four different intraocular lenses (IOL) that have not been studied before.

**Materials and Methods:** Two isolates obtained from ocular surfaces and identified in previous studies and stored at -86 °C in 15% glycerol in the microbiology laboratory of the Anadolu University Department of Biology were purified and used in the study. The isolates were *S. epidermidis* KA 15.8 (ICA+), a known biofilm producer isolate positive for *icaA*, *icaD* and *bap* genes, and *S. epidermidis* KA 14.5 (ICA-), known as a non-biofilm producer isolate negative for *icaA*, *icaD* and *bap* genes. The biofilm formation capacities of the 2 isolates on 4 different IOLs were compared. Two of the IOLs were acrylic (UD613 [IOL A], Turkey; SA60AT [IOL B], USA), and the other two were polymethyl methacrylate (PMMA) (B60130C [IOL C], India; B55125C [IOL D], India). Bacterial enumeration and optical density measurements were done from biofilms that formed on the IOLs. Biofilms were imaged using scanning electron microscopy.

**Results:** Mean bacterial counts on the IOLs were  $7.1 \pm 0.4 \log_{10}$  CFU/mL with the ICA+ isolate, and  $6.7 \pm 0.8 \log_{10}$  CFU/mL with the ICA- isolate; there were no statistically significant differences. Biofilm formation was lower with acrylic lenses than PMMA lenses with both isolates ( $p=0.009$  and  $p=0.013$ ). The highest biofilm production was obtained on IOL C (PMMA) ( $p<0.001$ ) and the lowest was obtained on IOL A (hydrophilic acrylic) ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** Bacterial counts after biofilm formation were lower on acrylic lenses, especially hydrophilic acrylic with hydrophobic properties. Further animal and *in vivo* studies are required to support the findings of this study.

**Keywords:** Biofilm, intraocular lenses, *Staphylococcus epidermidis*, hydrophobic, hydrophilic

**Yazışma Adresi/Address for Correspondence:** Dr. Sertaç Argun Kıvanç, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Tel.: +90 505 923 50 04 E-posta: sakivanc@yahoo.com **Geliş Tarihi/Received:** 16.03.2016 **Kabul Tarihi/Accepted:** 11.06.2016

Bu çalışma ESCRS 2014 Londra Toplantısı'nda poster olarak sunulmuştur.

©Telif Hakkı 2017 Türk Oftalmoloji Derneği  
Türk Oftalmoloji Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.

## Giriş

Göz içi cerrahiler sonrasında görülen endoftalmi, katarakt ameliyatlarında göz içi lens (GİL) yerleştirilmesinden sonra ortaya çıkan en ciddi komplikasyonlardan biridir.<sup>1</sup> Araştırmalarda katarakt ameliyatı sonrasında %0,02 ile %0,2 oranlarında cerrahi sonrası endoftalmi rapor edilmiştir.<sup>2,3,4,5,6</sup> *Staphylococcus epidermidis* bir koagülaz negatif stafilokoktur (KNS) ve postoperatif endoftalmilerden sıklıkla izole edilen bakteri olma özelliğine sahiptir. KNS'ler normal olarak göz ve çevresi dokuların florasında yer alırlar.<sup>7,8</sup> Bu mikroorganizmalar ameliyat sırasında kullanılan aletler ya da kontamine GİL ile göze girebilirler.<sup>9,10</sup> Kontakt lensler, GİL, glokom tüpleri ve kornea sütürleri gibi oküler materyaller üzerinde de bakterilerin oluşturduğu biyofilmler belirlenmiştir.<sup>11,12</sup> Yapılan çalışmalar GİL üzerinde *S. epidermidis*'in biyofilm oluşturduğunu ortaya koymuştur.<sup>9,13,14,15</sup> *S. epidermidis*'in biyofilm oluşturması kendisine ve çevresel faktörlere bağlıdır. Bakterinin kendisine ait faktörlerin en önemlisi bakterinin *icaADBC* gen lokusuna sahip olup olmamasıdır. *S. epidermidis*'te biyofilm oluşumundan 'polisaccharide intercellular adhesin' (PIA) sorumludur.<sup>16</sup> İca operonu 'poli-N-asetil-beta-1-6-glukozamin' oligomerlerini sentezler. Bu ise PIA oluşumunu sağlar. İca genleri *S. epidermidis*'de polisakarit bir madde olan β-1-6 glikozaminoglikan zincirinin sentezini sağlarlar. İca genlerinden *S. epidermidis*'in biyofilm oluşturmasında *icaA* ve *icaD* genleri daha önemli olup UDP-N-asetilglukozamini substrat olarak kullanarak şeker oligomerlerinin sentezi sağlarlar. Bu şekilde biyofilm gelişimi başlar (Şekil 1).<sup>10</sup> Biyofilm gelişimi kompleks bir olay olup, çevresel faktörler de önem kazanmaktadır. Biyomateryalin yüzey durumu, yüzeyin kimyasal yapısı, hidrofilik ve hidrofobik olma gibi özellikleri de önemli bir rol oynamaktadır.<sup>13</sup> Biz de bu çalışmamızda farklı özelliklere sahip ve daha önceki çalışmalarda karşılaştırılmamış iki akrilik ve iki polimetilmetakrilat (PMMA) GİL üzerinde yüksek biyofilm oluşturan *icaA* ve *icaD* pozitif ve negatif klinik iki *S. epidermidis* suşunun biyofilm oluşturma özellikleri araştırdık.

## Gereç ve Yöntem

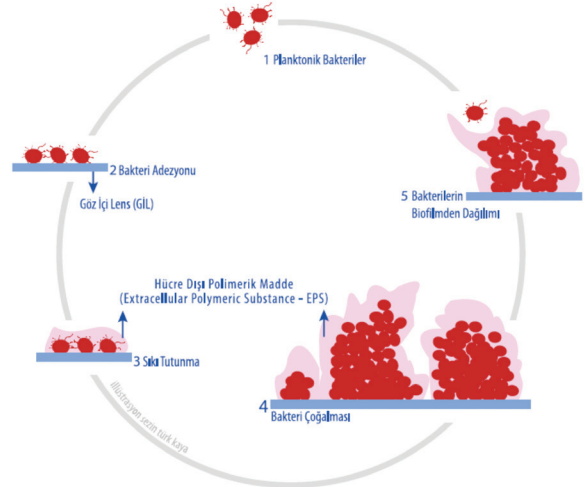
### Bakteriler

Daha önceki çalışmalarda oküler yüzeyden izole edilen ve saflaştırılan *S. epidermidis* kültürleri -86 °C'de %15 gliserol içinde

muhafaza edildi. *İcaA*, *icaD* ve *bap* (biofilm associated protein) genleri pozitif ve yüksek biyofilm oluşturan *S. epidermidis* KA 15,8 izolatu (İCA+) ile *İcaA*, *icaD* and *bap* negatif *S. epidermidis* KA 14,5 (İCA-) izolatu Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edildi. Kültür canlandırılarak saflığı ve canlılığı kontrol edilerek çalışmalarda kullanıldı.

### Göz İçi Lensler

Dört farklı GİL kullanıldı. İki tanesi katlanabilir akrilik lens idi: Acriva UD613 VSY, Türkiye (GİL A); AcrySof SA60AT, Alcon (GİL B), ABD. Diğer iki tanesi ise PMMA: PMMA, B60130C, Biotech (GİL C), Hindistan; PMMA, B55125C, Biotech (GİL D), Hindistan, lensi idi. GİL A, hidrofobik özelliklere sahip hidrofobik akrilik bir lenstir ve su içeriği %25'dir. GİL B hidrofobik akrilik bir lens olup su içeriği ≤%2'dir. GİL C PMMA bir lenstir, hidrofobiktir, su içeriği ≤%1'dir ve üzerinde 2 adet yer belirleyici delik vardı. GİL D PMMA bir lenstir, hidrofobiktir, ≤%1 su içermektedir ve GİL C'de bulunan 2 adet yer belirleyici delik bu lenste bulunmamaktadır. Çalışmada kullanılan lenslerin özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Göz içi lens üzerinde biyofilm oluşumunun şematik görünümü

Tablo 1. Çalışmada kullanılan lenslerin özellikleri

	GİL A	GİL B	GİL C	GİL D
Materyali	Hidrofilik	Hidrofobik	Hidrofobik	Hidrofobik
	Akrilik	Akrilik	PMMA	PMMA
Su içeriği	%25	≤%2	≤%1	≤%1
A sabiti	118,0	118,4	118,2	118,0
Haptik boyu	13	13	13	12,5
Optik boyu	6	6	6	5,5
Haptik açısı	0	0	10°	5°
Diğer özellikler	Monoblok, Hidrofobik özellik gösteriyor	Monoblok	Monoblok, Yüzeyde 2 adet konumlandırıcı delik var	Monoblok, Konumlandırıcı delik yok

GİL: Göz içi lens, PMMA: Polimetilmetakrilat

### Göz İçi Lens Üzerinde Biyofilm Belirlenmesi

*S. epidermidis*, %0,25 glukoz içeren 'triptikase soy broth' (TSB) içinde 24 saat 37 °C'de geliştirildi. GİL'ler 12 kuyucuklu polistren mikrotiter plak içine (Greiner, Türkiye) her kuyucuğa bir adet olacak şekilde yerleştirildi. *S. epidermidis* %0,25 glukoz içeren TSB ile 1:40 oranında dilüe edildikten sonra kuyucuklardaki lenslerin üzerine 1 mL olacak şekilde dağıtıldı. Bütün plaklar 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Bir grup GİL'e ise bakteri içermeyen besiyeri aktarıldı. İnkübasyon süresi sonunda GİL'lerde oluşan biyofilm spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Bunun için önce GİL besiyerinden çıkarılarak fosfat tamponlu steril su (PBS) ile 3 kez yıkandı. Steril bir plak içine yerleştirilerek kurutulduktan sonra %1 kristal viyole ile 15 dakika boyanmış ve tekrar PBS ile yıkanmıştır. GİL üzerine 200 µl etanol-aseton (80:20, vol/vol) çözeltisi ilave edilerek hücrelerin serbest hale gelmesi sağlanmıştır. Buradan çok kuyucuklu plağa aktarılarak optik yoğunluğu (OD) 620 nm'de mikroplak okuyucuda okunmuştur.<sup>17</sup>

Kontrol grubu olarak polistren kuyucuktaki biyofilm oluşumu dikkate alınmıştır. Her grup deney 5 paralel olarak yapılmıştır.

### Göz İçi Lens Üzerinde Kolonize Bakterilerin Sayımı

Yukarıda anlatıldığı gibi bakteri gelişen GİL alınarak PBS ile yıkandıktan sonra her GİL içinde 1 mm çapında steril cam boncuk bulunan 1,5 mL'lik mikrotübe nakledildi ve üzerine 1 mL PBS ilave edildi. Tüpler dakikada 2500 turda 1,5 dakika vorteksenerek biyofilm matriksinden hücrelerin ayrılması sağlandı. Daha sonra dilüsyonları hazırlanarak damlatma plak yöntemi ile bakteri sayımı yapıldı. Çalışmaların tümü beş paralel şekilde yapıldı.

### Scanning Elektron Mikroskobu (SEM) ile İnceleme

Bakteriyal adezyon, taramalı elektron mikroskobu ile Okajima ve ark.'na<sup>13</sup> göre bazı değişiklikler yapılarak incelendi. *S. epidermidis* izolatları %0,25 glukoz içeren TSB'de 24 saat süre ile 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra GİL'ler dikkatlice alınarak 3 kez PBS ile yıkandı. GİL 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içindeki %2,5'lik (wt/vol) glutaraldehit ile oda sıcaklığında 2 saat tutularak fikse edildi. Daha sonra 3 kez 15 dakika 0,1 M sodyum kakodilat içinde yıkandı. Bu işlemden sonra lensler distile sudan geçirildi ve alkol serileri (%50, %70, %80 ve %95) ile dehidrasyon işlemi yapıldı. Her bir seride 7 dakika bekletildikten sonra iki saf alkol içinde 15 dakika bekletildi. Alkol serilerinden sonra hemen Critical Point Dryer'da kurutma işlemi yapıldı. Daha sonra altın ile kaplanarak SEM'de incelendi.

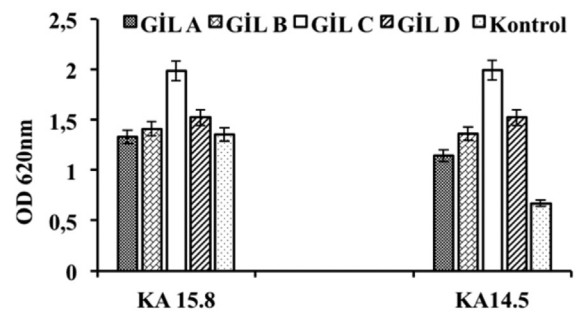
### İstatistiksel Analiz

İstatistik analizi için SPSS 22 (IBM) istatistik programı kullanıldı. Bakteri sayılarının ve iki suş için değerlerin, akrilik ve PMMA lenslerde karşılaştırılmasında t-testi; her lensin diğeri ile karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. P değeri 0,05'in altında anlamlı kabul edildi.

### Bulgular

Akrilik ve PMMA lensler üzerinde biyofilm üreten ve üretmeyen iki *S. epidermidis* suşunun biyofilm oluşumu incelendi. Kristal viyole boyama ve spektrofotometrik yöntem ile biyofilm belirlenmesinde; her iki izolatın da lensler üzerinde değişen oranlarda biyofilm oluşturduğu saptandı (Şekil 2). Biyofilm üretici olduğu bilinen *ica* lokusu bulunan (İCA+) suş ile tüm lensler dikkate alınınca lenslerin üzerindeki ortalama bakteri sayısının  $7,1 \pm 0,4 \log_{10}$  CFU/mL, OD değerinin ise  $1,6 \pm 0,8$  olduğu görüldü. İca lokusu negatif (İCA-) olan izolatla ise bakteri sayısı  $6,7 \pm 0,8 \log_{10}$  CFU/mL ve OD  $1,5 \pm 0,3$  olarak bulundu. İCA+ izolatla değerler fazla bulunsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Bakteri, sayısı ile OD okuma arasında korelasyon saptandı ( $p < 0,001$ ,  $r = 0,720$ ).

Teorik olarak biyofilm üreticisi olmadığı düşünülen İCA- *S. epidermidis* suşunun da lenslerde biyofilm oluşturduğu saptandı. Lensler (akrilik ve PMMA lensleri) üzerinde İCA+ izolatın biyofilm oluşturma özelliklerini İCA- izolat ile karşılaştırdığımız veriler Tablo 2'de verildi. Akrilik lenslerde İCA+ suş ile İCA-suştan daha fazla bakteri sayımı yapılmış olmasına rağmen ikisi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. PMMA lenslerde ise her iki suş ile sonuçlar benzer bulundu (Tablo 2). Akrilik ve PMMA GİL'lerin istatistiksel olarak



Şekil 2. Kristal viyole ile boyanan göz içi lensler üzerinde *S. epidermidis* KA 15.8 (biyofilm üreticisi) ve *S. epidermidis* KA 14.5 (biyofilm üreticisi değil) suşlarının biyofilm oluşturmaları

GİL: Göz içi lens, OD: Optik yoğunluk

Tablo 2. Akrilik ve polimetilmetakrilat lensler üzerinde her iki suş ile oluşan biyofilmlerdeki bakteri sayısı ve optik yoğunluk değerleri

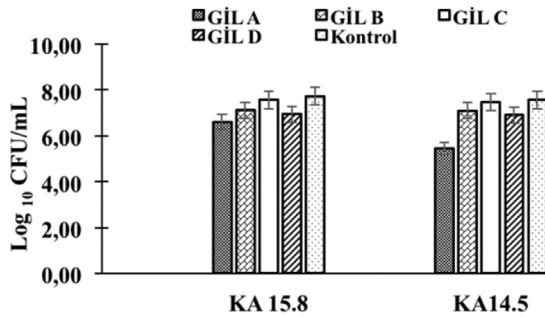
	Akrilik	PMMA		Akrilik	PMMA	
	Bakteri ( $\log_{10}$ CFU/mL)	Bakteri ( $\log_{10}$ CFU/mL)	p değeri	OD (620 nm)	OD (620 nm)	p değeri
İCA+ izolat	$6,9 \pm 0,3$	$7,3 \pm 0,3$	0,013	$1,4 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,2$	0,003
İCA- izolat	$6,3 \pm 0,9$	$7,2 \pm 0,3$	0,009	$1,2 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,3$	0,001
	0,247	0,315		0,279	0,878	

PMMA: Polimetilmetakrilat, OD: Optik yoğunluk

karşılaştırılmasında ise biyofilm oluşumu akrilik lenslerde, PMMA lenslere göre her iki suş ile de daha düşük olarak bulundu ( $p=0,009$  ve  $p=0,013$ ).

Tüm lensler tek tek ele alındığında yapılan ölçümlerde her iki izolat ile de en yüksek biyofilm oluşumu bir PMMA lens olan GİL C üzerinde oldu. En düşük biyofilm oluşumu da bir hidrofilik akrilik lens olan GİL A üzerinde oldu. GİL A dışındaki lenslerin üzerinde oluşan biyofilmlerdeki bakteri sayısı her iki suş ile de benzer bulundu. GİL A üzerindeki bakteri sayısı GİL B, C ve D'den anlamlı derecede düşük bulundu (sırası ile  $p<0,001$ ,  $p<0,001$  ve  $p=0,006$ ). GİL A üzerinde İCA- izolat ile oluşan biyofilmdeki bakteri sayısı İCA+ izolat ile oluşan biyofilmdeki bakteri sayısından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ( $p=0,003$ ). İCA+ ve İCA- suşların lensler üzerinde oluşturdukları biyofilmlerdeki bakteri sayıları ve OD ölçüm değerleri Tablo 3'de verilmiştir.

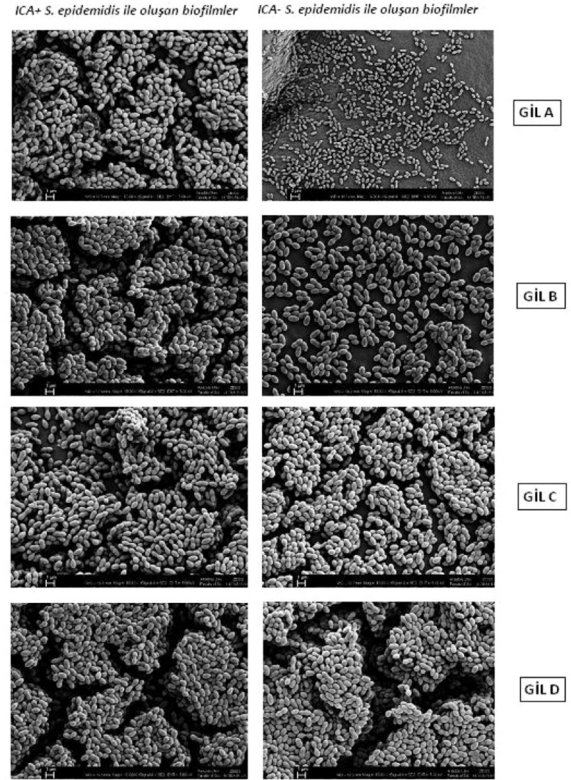
Kolonize olan bakteri sayılarına baktığımızda bütün lenslerde her iki suşun da yüksek sayıda olduğu görüldü (Şekil 3). Akrilik lenslerde bakteri sayımları diğer GİL'lere göre daha düşük oldu. Bakteri adezyonu elektron mikroskobu ile de gözlemlendi (Şekil 4). SEM ile elde edilen İCA+ olan *S. epidermidis*'in lensler üzerinde oluşturduğu biyofilm görüntülerinde bütün lenslerde çok tabakalı bir yapı göze çarpmakta idi. Buna karşılık akrilik lenslerde İCA- suşa ait görüntülerde bu tabakalı yapı görülmezken PMMA GİL'lerde yine tabakalı yapı gözlemlendi.



Şekil 3. Göz içi lensler üzerinde oluşan biyofilmdeki bakteri sayımları  
GİL: Göz içi lens

## Tartışma

Biyofilm oluşumu bakterilerin virülansını arttırmaktadır ve antimikrobiyal ajanlara karşı geliştirdikleri bir direnç faktörü olma özelliğine sahiptir.<sup>12,18,19,20</sup> Oftalmoloji camiasında biyofilm üretimi üzerine dikkatler 21. yüzyılın başında çekilmeye başlanmış ve günden güne artarak devam etmiştir. Oftalmolojide ilk kez 2003 yılında Kodjikian ve ark.<sup>21</sup> PMMA



Şekil 4. *S. epidermidis* KA15.8 (biyofilm üreticisi) ve *S. epidermidis* KA14.5 (biyofilm üreticisi değil) suşlarının farklı lenslerde oluşturduğu biyofilmin scanning elektron mikroskop görüntüleri  
GİL: Göz içi lens

Tablo 3. Her iki suş ile 4 farklı göz içi lens üzerinde oluşan biofilmlerdeki bakteri sayısının ve optik yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması

	İCA+	İCA-		İCA+	İCA-	
	Bakteri sayısı (log <sub>10</sub> CFU/mL) (ort.±SS)		p değeri	OD ölçüm değerleri (620 nm) (ort.±SS)		p değeri
GİL A <sup>a</sup>	6,6±0,28	5,5±0,47	0,003	1,3±0,16	1,1±0,20	0,202
GİL B <sup>b</sup>	7,1±0,04	7,1±0,07	0,660	1,4±0,09	1,4±0,10	0,513
GİL C <sup>c</sup>	7,6±0,01	7,5±0,12	0,092	2,0±0,04	2,0±0,01	0,737
GİL D <sup>d</sup>	7,0±0,01	6,9±0,06	0,160	1,5±0,03	1,5±0,02	0,787
P <sup>a-b</sup>	<0,001	<0,001		0,605	0,075	
P <sup>a-c</sup>	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001	
P <sup>a-d</sup>	0,006	<0,001		0,062	0,002	
P <sup>b-c</sup>	0,001	0,128		<0,001	<0,001	
P <sup>b-d</sup>	0,302	0,605		0,368	0,246	
P <sup>c-d</sup>	<0,001	0,012		<0,001	<0,001	

GİL: Göz içi lens, OD: Optik yoğunluk, ort.: Ortalama, SS: Standart sapma, a: GİL A, b: GİL B, c: GİL C, d: GİL D

haptikli silikon GİL'lerin üzerinde biyofilm geliştiren *S. epidermidis*'lerin SEM fotoğraflarını çekmişler ve ica lokusu taşıyanların daha fazla biyofilm oluşturduğunu belirtmişlerdir. Aynı yazar ve arkadaşlarının daha sonraki bir çalışmalarında ise bakteri türü, inkübasyon süresi, GİL tasarımının bakteri adezyonunu etkileyeceğini bildirmişler ancak en önemli faktörün lens materyali olduğunu ve özellikle de hidrofobik ya da hidrofilik olma durumunun olduğunu belirtmişlerdir.<sup>14</sup> Biz de çalışmamızda hem *icaA* pozitif hem de *icaA* negatif klinik izolatlarımızın biyofilm oluşturma özelliklerini PMMA ve akrilik lensler üzerinde araştırdık.

Bizim çalışmamızda hem *icaA*, *icaD* ve *bap* genleri pozitif olan izolat hem de negatif olan izolat her iki lens gruplarında biyofilm oluşturdu. Bakteri sayımlarında ve SEM görüntülerinde biyofilm oluşumu çok katlı tabaka halinde görüldü. Hem spektrofotometrik olarak hem bakteri sayımı ile her iki suşta da benzer sonuçlar elde edildi. *icaA*, *icaD* ve *bap* negatif izolatların biyofilm oluşturmaları, biyofilm oluşumu için sadece bu gen lokusunun değil bunun dışında başka virülans faktörlerinin de etkili olma durumu ile açıklanabilir. Benzer olarak Prasad ve ark.<sup>22</sup> da hem *icaA* pozitif hem de negatif izolatların her ikisinin de PMMA lenslerde biyofilm oluşturduğunu bunu bakteri sayımı ile de doğruladıklarını bildirmişlerdir. Okajima ve ark.<sup>13</sup> ise biyofilm üreticisi olan ve olmayan izolatlarla benzer olarak yaptıkları çalışmada akrilik lenslerde her iki *S. epidermidis*'in de yüksek biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Akrilik lensler ile PMMA lensleri karşılaştırdığımızda, çalışmamızda her iki suş ile de PMMA lens üzerinde anlamlı miktarda daha fazla bakteri tespit edildi. Bu konuda yapılmış bir çok araştırmada değişik sonuçlar elde edilmiştir. Okajima ve ark.<sup>13</sup> silikon lenslerde diğer lenslere göre *S. epidermidis*'in daha az biyofilm oluşturduğunu akrilik lensler ile PMMA lensler arasında istatistiksel fark olmamasına rağmen en fazla biyofilm oluşumunun akrilik lenslerde olduğunu bildirmişlerdir. Schroeder ve ark.<sup>23</sup> akrilik, silikon ve PMMA lensler arasında bir fark tespit edememişlerdir. Baillif ve ark.<sup>24</sup> ise hidrofilik akrilik lenslerin üzerinde zamana karşı bakteri çoğalma miktarını PMMA, hidrofobik akrilik ve silikonlardan daha az olarak bulmuşlardır. Bu çalışmalara karşıt olarak Fazly Bazzaz ve ark.<sup>25</sup> PMMA lenslerinde hidrofilik akrilik lenslerden daha az biyofilm oluşumu tespit etmişlerdir. Bir çok yazar biyofilm oluşumunun, lens materyalinin özelliği, yüzey özelliği gibi faktörler kadar mikroorganizmaların özelliklerine de bağlı olabileceğini belirtmişlerdir.<sup>10,14</sup> Araştırmalar arasındaki farklılık bu özelliklerin farklı olması ile ilişkili olabilir. Çalışmalarda kullanılan GİL'ler birbirlerinden farklı özelliktedir, standart bir GİL ile çalışılmamıştır. Ayrıca izole edilen mikroorganizmanın özellikleri de farklıdır. Bu yüzden değişik çalışmaların sonuçlarını karşılaştırmanın yanlış çıkarımlar yapmamıza neden olabileceğini düşünüyoruz. Biz de bu çalışmamızda farklı özellikleri olan 2 farklı markanın akrilik lenslerini ve aynı markanın 2 farklı özellikli PMMA lenslerini kullandık. Çalışmamızdaki ilginç bulgulardan biri istatistiksel olarak en az bakteri kolonizasyonunun GİL A'da elde edilmesiydi. Çalıştığımız lensler arasında en yüksek su içeriğine (%25) sahip olma özelliği ile hidrofilik olan bu

lensin yapısına müdahale ile hidrofobik davranış gösterdiği iddia edilmektedir. Bir diğer sonucumuzda aynı markanın iki farklı PMMA lenslerindeki (GİL C ve GİL D) bakteri sayılarının farklı bulunmasıdır. GİL C'nin lens büyüklüğünün dolayısı ile yüzeyinin GİL D'den büyük olması ve GİL C'nin üzerinde 2 adet konumlandırıcı delik bulunmasının bakteri tutunmasını kolaylaştırdığını düşünmekteyiz.

Katarakt cerrahisinde GİL, implantasyon öncesinde, implantasyon sırasında ya da implantasyon sonrasında bakteri ile kontamine olabilir.<sup>25,26,27</sup> GİL yerleştirilmesinde kartuş kullanılması ve hatta GİL'lerin kartuşa yerleştirilmiş hazır halde ameliyat masasına gelmesi sebebi ile ilk iki sırada saydığımız kontaminasyon ihtimali günümüzde azalmıştır.<sup>28</sup> Ancak son dönemde yapılan çalışmalarda steril şartlarda fakoemülsifikasyon yöntemi ile yapılan katarakt cerrahisi sonunda oküler yüzeyde ve geri kaçış (influx) mekanizması ile göz içerisinde bakteriler bulunabildiği bildirilmiştir.<sup>26,29</sup> Cerrahi sırasında açığa çıkan enflamatuvar mediyatörlerden fibronektinin lensleri kaplamasının göz içine giren bakterilerin tutunmasını kolaylaştıracağı gösterilmiştir.<sup>23</sup> Bu sebeple materyal yüzeyini değiştiren çözümlerin lenslerin biyo-uyumluluğunu arttıracığı düşünülmüştür. Schroeder ve ark.<sup>23</sup> yüzey modifikasyonu yapılan GİL'lerin *S. epidermidis* tutunmasını hafiflettiğini bildirmişlerdir. Nomura ve ark.<sup>30</sup> PMMA materyallerinde heparin ilavesinin biyofilm oluşumunu azalttığını belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada ise silikon materyalin hidrofilik kaplanmasının mikroorganizma kolonizasyonunu azalttığı gösterilmiştir.<sup>31</sup> Yapılan birçok çalışmada lenslerin kaplanması ve yüzey modifikasyonu ile bakteri adezyonunun düştüğü gösterilmiştir.<sup>13,23,32</sup> Bizim GİL A'da elde ettiğimiz sonucumuzun lensin hidrofiliğine mi yoksa yeni elde edilen materyalin moleküler yapısının yüzey özelliklerine mi bağlı olduğunu bilemiyoruz. Üretici firmanın lens üretimi ile ilgili ve tam olarak nasıl bir işlemin yapıldığına dair bir bilgisine ulaşamadık.

## Sonuç

Sonuç olarak yapılan çalışmalar biyofilm oluşumunun birçok faktörden etkilendiğini göstermektedir. Bizim çalışmamızda hidrofobik özellik gösteren hidrofilik akrilik bir lensin üzerindeki bakteri sayısını diğer lenslerden daha az bulduk. Bu araştırmaların hayvan çalışmaları ve *in vivo* çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir. Yapılan tüm çalışmalarda lenslerde biyofilm oluşumu görülmüştür ve henüz üzerinde bakteri adezyonu gerçekleşmeyen bir GİL üretimi söz konusu değildir. Son dönemde yapılan çalışmalar biyofilm gelişmeden önce antibiyotiklerin etkin olabileceği ancak biyofilm geliştikten sonra antibiyotiklerin etkinliklerinin sınırlı kaldığı yönündedir.<sup>20</sup> Bu yüzden biyofilmleri tedavi etmek yerine, biyofilmlerin oluşumunu önleyecek yöntemler ortaya koyulmasının daha önemli olduğunu düşünüyoruz. Bütün bu hususlar göz önüne alındığında lenslerin üretiminde yeni stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

## Teşekkür

Anadolu Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 1404F202 no'lu (intraoküler lenslerde *Staphylococcus epidermidis*'in Biyofilm

Oluşturma Potansiyelinin İncelenmesi) proje kapsamında desteklenmiştir.

İllüstrasyon, Uludağ Üniversitesi, Güzel Sanatlar Fakültesi, Resim Bölümü Öğretim Üyesi, Doç. Dr. Sezin Türk Kaya tarafından çizilmiştir.

#### Etik

Etik Kurul Onayı: Hayvan ya da insan çalışması değildir, Hasta Onayı: Hayvan ya da insan çalışması değildir.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışındaki kişilerce değerlendirilmiştir.

#### Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: Merih Kıvanç, Volkan Kılıç (Laboratuvar uygulaması), Konsept: Sertaç Argun Kıvanç, Merih Kıvanç, Gülay Güllülü, Dizayn: Sertaç Argun Kıvanç, Merih Kıvanç, Gülay Güllülü, Ahmet Tuncer Özmen, Veri Toplama veya İşleme: Sertaç Argun Kıvanç, Merih Kıvanç, Gülay Güllülü, Volkan Kılıç, Analiz veya Yorumlama: Sertaç Argun Kıvanç, Merih Kıvanç, Gülay Güllülü, Ahmet Tuncer Özmen, Literatür Arama: Sertaç Argun Kıvanç, Merih Kıvanç, Volkan Kılıç, Yazan: Sertaç Argun Kıvanç, Merih Kıvanç.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Anadolu Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 1404F202 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

#### Kaynaklar

- Wong TY, Chee SP. The epidemiology of acute endophthalmitis after cataract surgery in an Asian population. *Ophthalmology*. 2004;111:699-705.
- Taban M, Behrens A, Newcomb RL, Nobe MY, Saedi G, Sweet PM, McDonnell PJ. Acute endophthalmitis following cataract surgery: a systematic review of the literature. *Arch Ophthalmol*. 2005;123:613-620.
- West ES, Behrens A, McDonnell PJ, Tielsch JM, Schein OD. The incidence of endophthalmitis after cataract surgery among the U.S. Medicare population increased between 1994 and 2001. *Ophthalmol*. 2005;112:1388-1394.
- Miller JJ, Scott IU, Flynn HW Jr, Smiddy WE, Newton J, Miller D. Acute-onset endophthalmitis after cataract surgery (2000-2004): incidence, clinical settings, and visual acuity outcomes after treatment. *Am J Ophthalmol*. 2005;139:983-987.
- Jabbarvand M, Hashemian H, Khodaparast M, Jouhari M, Tabatabaei A, Rezaei S. Endophthalmitis Occurring after Cataract Surgery: Outcomes of More Than 480 000 Cataract Surgeries, Epidemiologic Features, and Risk Factors. *Ophthalmology*. 2016;123:295-301.
- Esteban J, Pe'rez-Tanoira R, Pe'rez-Jorge-Peremarch C, Go'mez-Barrena E. Bacterial Adherence to Biomaterials Used in Surgical Procedures. In: Kon K, Rai M, eds. *Microbiology for surgical infections*. Diagnosis, prognosis and treatment. Elsevier UK; 2014:41-59.
- Perkins RE, Kundsinn RB, Pratt MV, Abrahamsen I, Leibowitz HM. Bacteriology of normal and infected conjunctiva. *J Clin Microbiol*. 1975;1:147-149.
- Speaker MG, Milch FA, Shah MK, Eisner W, Kreiswirth BN. Role of external bacterial flora in the pathogenesis of acute postoperative endophthalmitis. *Ophthalmology*. 1991;98:639-649.
- Schauersberger J, Amon M, Aichinger D, Georgopoulos A. Bacterial adhesion to rigid and foldable posterior chamber intraocular lenses: in vitro study. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29:361-366.
- Ahmad S, Ashraf H, S.M. Akram SM. Adhesion of Biofilm forming *Staphylococcus epidermidis* strains on Intraocular Lenses – An Update. In: Méndez-Vilas A, ed. *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*. Formatex; 2015:357-363.
- Bispo PJ, Haas W, Gilmore MS. Biofilms in infections of the eye. *Pathogens*. 2015;4:111-136.
- Zegans ME, Becker HI, Budzik J, O'Toole G. The role of bacterial biofilms in ocular infections. *DNA Cell Biol*. 2002;21:415-420.
- Okajima Y, Kobayakawa S, Tsuji A, Tochikubo T. Biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* on intraocular lens material. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:2971-2975.
- Kodjikian L, Burillon C, Roques C, Pellon G, Renaud FN, Hartmann D, Freney J. Intraocular lenses, bacterial adhesion and endophthalmitis prevention: a review. *Biomed Mater Eng*. 2004;14:395-409.
- García-Sáenz MC, Arias-Puente A, Fresnadillo-Martinez MJ, Matilla-Rodríguez A. In vitro adhesion of *Staphylococcus epidermidis* to intraocular lenses. *J Cataract. Refract Surg*. 2000;26:1673-1679.
- Fey PD, Olson ME. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Future Microbiol*. 2010;5:917-933.
- Pitts B, Hamilton MA, Zilver N, Stewart PS. A microtiter-plate screening method for biofilm disinfection and removal. *J Microbiol Methods*. 2003;54:269-276.
- Arciola CR, Baldassarri L, Montanaro L. Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. *J Clin Microbiol*. 2001;39:2151-2156.
- Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*. 2001;358:135-138.
- Kivanc SA, Akova Budak B, Yildiz M, Kivanc M. The effect of the linezolid and the vancomycin on biofilm production that formed on two different acrylic hydrophobic intraocular lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:287.
- Kodjikian L, Burillon C, Lina G, Roques C, Pellon G, Freney J, Renaud FN. Biofilm formation on intraocular lenses by a clinical strain encoding the *ica* locus: a scanning electron microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:4382-4387.
- Prasad S, Nayak N, Satpathy G, Nag TC, Venkatesh P, Pandey RM. Biofilm: The Haven for *Staphylococcus epidermidis* in Post-operative Endophthalmitis. *J Clin Exp Ophthalmol*. 2014;5:1-5.
- Schroeder AC, Schmidbauer JM, Sobke A, Seitz B, Ruprecht KW, Herrmann M. Influence of fibronectin on the adherence of *Staphylococcus epidermidis* to coated and uncoated intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg*. 2008;34:497-504.
- Baillif S, Ecochard R, Casoli E, Freney J, Burillon C, Kodjikian L. Adherence and kinetics of biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* to different types of intraocular lenses under dynamic flow conditions. *J Cataract Refract Surg*. 2008;34:153-158.
- Fazly Bazzaz BS, Jalalzadeh M, Sanati M, Zarei-Ghanavati S, Khameneh B. Biofilm Formation by *Staphylococcus epidermidis* on Foldable and Rigid Intraocular Lenses. *Jundishapur J Microbiol*. 2014;7:e10020.
- Vafidis GC, Marsh RJ, Stacey AR. Bacterial contamination of intraocular lens surgery. *Br J Ophthalmol*. 1984;68:520-523.
- Bausz M, Fodor E, Resch MD, Kristóf K. Bacterial contamination in the anterior chamber after povidone-iodine application and the effect of the lens implantation device. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32:1691-1695.
- Weston K, Nicholson R, Bunce C, Yang YE. An 8-year retrospective study of cataract surgery and postoperative endophthalmitis: injectable intraocular lenses may reduce the incidence of postoperative endophthalmitis. *Br J Ophthalmol*. 2015;99:1377-1380.
- Kivanç SA, Kivanç M, Bayramlar H. Microbiology of corneal wounds after cataract surgery: biofilm formation and antibiotic resistance patterns. *J Wound Care*. 2016;25:14-19.
- Nomura S, Lundberg F, Stollenwerk M, Nakamura K, Ljungh A. Adhesion of staphylococci to polymers with and without immobilized heparin in cerebrospinal fluid. *J Biomed Mater Res*. 1997;38:35-42.
- Çağvı F, Akalan N, Celik H, Gür D, Guçiz B. Effect of hydrophilic coating on microorganism colonization in silicone tubing. *Acta Neurochir (Wien)*. 2004;146:603-610.
- Huang XD, Yao K, Zhang H, Huang XJ, Xu ZK. Surface modification of silicone intraocular lens by 2-methacryloyloxyethyl phosphoryl-choline binding to reduce *Staphylococcus epidermidis* adherence. *Clin Exp Ophthalmol*. 2007;35:462-467.