

Sodyum Hyaluronatın *Staphylococcus Aureus* Tedavisinde Kullanılan Antibiyotiklerle Etkileşimi

C. Ateş Yanyalı (*), Sila Çetin (**), Haluk Talu (*), Birsen Mutlu (**), Haluk Vahaboğlu (***), Yusuf Çağlar (****)

ÖZET

Amaç: *Staphylococcus aureus* infeksiyonları tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin antibakteriyel etkinliğine, sodyum hyaluronatın olumlu ya da olumsuz katkısı araştırıldı.

Yöntem: "National Committee for Clinical Laboratory Standards"ın (NCCLS) "Microbroth Dilution" antibiyotik duyarlılık yöntemine uygun olarak mikropklarda ampisilin ve ofloksasin için dilüsyonlar hazırlandı. Dilüsyonlar, karşılaştırmak amacı ile Müller Hinton (MH) sıvı besiyeri ve MH sıvı besiyeri + %1'lik sodyum hyaluronat içeren solüsyonda hazırlandı. Deney suşu olarak ATCC No: 25923 *S. aureus* kullanıldı. Plaklar 18 saat 37(C'de etüvde inkübe edildikten sonra gözle görülür üreme açısından değerlendirildi. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük sulandırım minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirildi.

Bulgular: Ampisilin içeren dilüsyonların hiçbirinde üreme yokken, ofloksasin içeren dilüsyonların her ikisinde (hyaluronatlı ve hyaluronatsız) de 0.125 µg/ml dilüsyonda üreme saptandı. Böylelikle MİK'ler hem sıvı besiyerinde hem de sodyum hyaluronatta ampisilin için <0.06 µg/ml ve ofloksasin için 0.25 µg/ml olarak bulundu. Antibakteriyel etki açısından sıvı besiyeri ile sodyum hyaluronat arasında fark saptanmadı. Antibiyotiksiz kontrollerde ise her ikisinde de üreme vardı.

Sonuç: *S. aureus* infeksiyonları tedavisinde kullanılan antibiyotiklerden ampisilin ve ofloksasinin antibakteriyel etkinliğinde, sodyum hyaluronatın olumlu ya da olumsuz bir etkisi saptanmadı.

Anahtar Kelimeler: *S. aureus*, sodyum hyaluronat, antibiyotik

SUMMARY

Interaction of sodium hyaluronate with the antibiotics against *Staphylococcus aureus*

Purpose: To evaluate the interaction of sodium hyaluronate with the antibacterial activity of antibiotics against *Staphylococcus aureus*.

Methods: The dilutions were prepared for ampicillin and ofloxacin according to "National Committee for Clinical Laboratory Standards" (NCCLS) "Microbroth Dilution" method. The

- (*) Yrd. Doç. Dr., Kocaeli Üniversitesi Tıp Fak. Göz Hastalıkları Anabilim Dalı
(**) Yrd. Doç. Dr., Kocaeli Üniversitesi Tıp Fak. Klinik Bakteriyojoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı
(***) Doç. Dr., Kocaeli Üniversitesi Tıp Fak. Klinik Bakteriyojoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı
(****) Prof. Dr., Kocaeli Üniversitesi Tıp Fak. Göz Hastalıkları Anabilim Dalı
2-6 Ekim 1999 Tarihinde Türk Oftalmoloji Derneği XXXIII. Ulusal Kongresinde Poster olarak sunulmuştur.

Mecmuaya Geliş Tarihi: 10.11.1999
Kabul Tarihi: 26.11.1999

dilutions were compared in the solutions which contain either Muller-Hinton (MH) broth or MH broth+sodium hyaluronate 1%. Standard ATCC strains which were of *S. aureus* (ATCC 25923) were studied. Trays were incubated at 37°C for 18 hours before reading. The minimal inhibitory concentration (MIC) was defined as the lowest antibiotic concentration that inhibited the macroscopic growth of the bacteria.

Results: The bacteria exhibited growth at 0.125 µg/ml dilutions of ofloxacin in both MH broth and MH broth+sodium hyaluronate 1%, while there was no growth in the dilutions which contain ampicillin. The MICs were found to be <0.06 µg/ml for ampicillin and 0.25 µg/ml for ofloxacin in both MH broth and MH broth+sodium hyaluronate 1%. No difference was found between MH broth and MH broth+sodium hyaluronate 1% in terms of antibacterial activity. In the controls without antibiotics, bacteria exhibited growth in both groups.

Conclusion: Sodyum hyaluronate was found to have no effect on the antibacterial activity of ampicillin and ofloxacin against *S. aureus*.

Key Words: *S. aureus*, sodium hyaluronate, antibiotic

GİRİŞ

Sodyum hyaluronat intraoküler cerrahide sıklıkla kullanılan viskoelastik bir maddedir. Bu viskoelastik madde hücreleri mekanik travmadan korumak, doku açıklığını sağlamak ve sürdürmek, doku yüzeylerinin kaygan hale gelmesini ve ayrılmasını sağlamak için oftalmolojide kullanım alanı bulmuştur (1).

Endoftalmi intraoküler cerrahinin en korkulan komplikasyonlarından biridir. *S. aureus*, endoftalminin etyolojisinde sıkça karşılaştığımız bir bakteri olup etkin bir antibiyotik tedavisi gerektirmektedir. Bu yapılan antibiyotik tedavisinin, sodyum hyaluronat gibi o sırada ortamda bulunabilen çeşitli maddelerle etkileşim içersine girebileceğini düşündüğümüzden, *S. aureus* infeksiyonları tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin antibakteriyel etkinliğine, sodyum hyaluronatın olumlu ya da olumsuz katkısını araştırdık.

GEREÇ ve YÖNTEM

"National Committee for Clinical Laboratory Standards"ın (NCCLS) "Microbroth Dilution" M7-A4, M100-S9 antibiyotik duyarlılık yöntemine uygun olarak, mikropklarlarda ampisilin ve ofloksasin dilüsyonları yapıldı (2,3). Dilüsyonlar, karşılaştırmak amacı ile Müller Hinton (MH) sıvı besiyeri ve MH sıvı besiyeri + %1'lik sodyum hyaluronat (Healon®, Pharmacia) içeren solüsyonda hazırlandı. Deney suşu olarak ATCC No: 25923 *S. aureus* kullanıldı. Kuyucuktaki hacim 50 µl olacak şekilde ampisilin için 256 µg/ml'den, ofloksasin için 128 µg/ml'den başlayarak seri şekilde iki kat sulandırarak 12 dilüsyon hazırlandı. Kontrol için antibiyotiksiz bir sütun yapıldı. *S. aureus*'un taze pasajından 0.5 Mc Farland'a uygun olarak bakteri süspansiyonu hazırlandıktan sonra 1:5 oranında sulandırıldı. Bu bakteri süspansiyonundan 50 µl tüm antibiyotik dilüsyonlarına eklendi. Böylece

her kuyucukta son volüm 100 µl ve inokulum konsantrasyonu 5×10^5 CFU/ml oldu. Plaklar 18 saat 37°C'de etüvde inkübe edildikten sonra üreme açısından değerlendirildi. Minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) okumadan önce kontrol kuyucukları bakterinin canlılığı açısından subkültürleri yapılarak değerlendirildi. İnokulum miktarının doğruluğu için de koloni sayımı yapıldı. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük sulandırım MİK olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Tablo-1'de görüldüğü gibi ampisilin içeren dilüsyonların hiçbirinde üreme yokken, ofloksasin içeren dilüsyonların her ikisinde (hyaluronatlı ve hyaluronatsız) de 0.125 µg/ml dilüsyonda üreme saptandı. Böylelikle MİK'ler hem sıvı besiyerinde hem de sodyum hyaluronatta ampisilin için <0.06 µg/ml ve ofloksasin için 0.25 µg/ml olarak bulundu. Antibakteriyel etki açısından sıvı besiyeri ile sodyum hyaluronat arasında fark saptanmadı. Antibiyotiksiz kontrollerde ise her ikisinde de üreme vardı.

TARTIŞMA

Healon, prezervatif içermeyen fizyolojik tampon solüsyonda (0.146 N NaCl, 0.34 mM NaH₂PO₄, pH 7.2(0.2) çözünmüş %1 sodyum hyaluronattan oluşmuştur (4). Hyaluronik asit, β 1-4 glukozidik bağ ile disakkarid oluşturmak üzere birbirine bağlı N-asetil-glukozamin ve sodyum glukuronat alt ünitelerinden oluşmuş yüksek moleküler ağırlıklı bir polimerdir. Bu oluşan disakkarid β 1-3 glukosid bağlarla uzun ve dalsız bir zincir oluşturmak üzere birbirine bağlanmıştır.

Costaglia ve ark. çalışmalarında *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes* ve *S. viridans*'ın hyaluronik asidi

Tablo 1. Standard ATCC 25923 *S. aureus* kullanarak ampisilin ve ofloksasin için MİK'lerin sıvı besiyeri ve sodyum hyaluronatta karşılaştırılması

Ampisilin Dilüsyonları	Ampisilin+ Sıvı bsy	Ampisilin+ Na-Ht	Ofloksasin Dilüsyonları	Ofloksasin+ Sıvı bsy	Ofloksasin+ Na-Ht	Kontrol (Sıvı bsy)	Kontrol (Na-Ht)
256 µg/ml	-	-	128 µg/ml	-	-	+	+
128 µg/ml	-	-	64 µg/ml	-	-	+	+
64 µg/ml	-	-	32 µg/ml	-	-	+	+
32 µg/ml	-	-	16 µg/ml	-	-	+	+
16 µg/ml	-	-	8 µg/ml	-	-	+	+
8 µg/ml	-	-	4 µg/ml	-	-	+	+
4 µg/ml	-	-	2 µg/ml	-	-	+	+
2 µg/ml	-	-	1 µg/ml	-	-	+	+
1 µg/ml	-	-	0.5 µg/ml	-	-	+	+
0.5 µg/ml	-	-	0.25 µg/ml	-	-	+	+
0.25 µg/ml	-	-	0.125 µg/ml	+	+	+	+
0.125 µg/ml	-	-	0.06 µg/ml	+	+	+	+

MİK: minimal inhibitör konsantrasyon

bsy: MH sıvı besiyeri

Na-Ht: Sodyum Hyaluronat

-: üreme yok

+: üreme var

besin kaynağı olarak kullanıp ortamda çoğaldıklarını bildirmişlerdir (5). Bu yazarlara göre, bu bakteriler glukozidik bağ seviyesinde faaliyet gösteren hyaluronidaz enzimini sentezleyerek hyaluronik asidi oluşturan uzun ve dalsız zinciri kırarlar. Böylece ortamda N-asetil-glukozamin ve sodyum glukuronat gibi esansiyel monosakkarid elemanları ortaya çıkar ve bakteriler bunları besin kaynağı olarak kullanırlar.

S. aureus hyaluronik asidi besin kaynağı olarak kullanmasına karşın çalışmamızda sodyum hyaluronatın *S. aureus* infeksiyonları tedavisinde kullanılan antibiyotiklerden ampisilin ve ofloksasin ile etkileşim içersine girmediği görüldü.

Sonuç olarak, *S. aureus* infeksiyonları tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin antibakteryel etkinliğine, sodyum hyaluronatın olumlu ya da olumsuz bir etkisi saptanmadı.

KAYNAKLAR

1. Miller D, Stegman R. Healon: a guide to its use in ophthalmic surgery. John Wiley and Sons Inc., N.Y. 1983.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Ninth Informational Supplement NCCLS M7-A4-MIC Testing M100-S9, 1999;19:78-81.
3. Sahm DF, Washington II JA. Antibacterial susceptibility tests: dilution methods. In: Balows A ed. Manual of Clinical Microbiology 5th ed. American Society for Microbiology :Washington DC 1991;1105-16.
4. Balazs EA. Ultrapure hyaluronic acid and the use thereof. U.S. Patient 1972;141:979-84.
5. Costagliola C, Del Prete A, Winkler NR, Carpineto P, Ciancaglini M, Piccolomini R, Mastropasqua L. The ability of bacteria to use Na-hyaluronate as a nutrient. Acta Ophthalmol Scand 1996;74:566-8.