

Kuru Göz Hastalarında Konjonktiva Florasının Bakteri Yönünden Değerlendirilmesi♦

Güzin İskeleli (*), Hrisi Bahar (**), Müzeyyen Mamal Torun (***) , Bülent Buttanrı (****), Şehirbay Özkan (*)

ÖZET

Amaç: Kuru göz hastalarında konjonktiva florasının sağlıklı kişilerin konjonktiva florasıyla bakteri yönünden karşılaştırılmasıdır.

Yöntem: Yaş ortalaması 50.75 ± 9.78 olan 20 kuru göz hastasının 40 gözüne ve yaş ortalaması 46.95 ± 10.98 olan 20 sağlıklı kişinin 40 gözüne ait konjonktiva sürüntüleri mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Sürüntü örneklerinden aerop ve anaerop kültür için uygun besiyerlerine ekimler yapılmıştır.

Bulgular: Kuru gözlerde %77.5, sağlıklı gözlerde ise %67.5 oranında saptanan Gram pozitif bakterilerin diğer bakterilere göre baskın olduğu görülmüştür. Koagülaz negatif stafilkoklar, bu bakteriler içinde ilk sırayı almıştır. İkinci sırayı kuru gözlerde %15'lik oranla *Corynebacterium spp* (difteroid çomaklar), sağlıklı gözlerde ise aynı oranla *Staphylococcus aureus* almıştır. Sağlıklı gözlerde difteroid çomaklar %12.5'luk oranla üçüncü sırada yer almış, kuru gözlerde ise üçüncü sırayı %10'luk oranla *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus intermedius* almıştır. Alfa hemolitik streptokoklar ise her iki grupta da %7.5'luk oranda eşit olarak saptanmıştır. Gram negatif bakterilerde ise başta *Haemophilus influenzae* alt tipleri olmak üzere kuru gözlerde *Haemophilus türlerinin* baskın olduğu görülmüştür. Sağlıklı gözlerde ise yalnızca *Haemophilus parainfluenzae* saptanmıştır. Anaerop bakteriler açısından incelediğimizde, *Propionibacterium acnes'in* kuru gözlerde ve sağlıklı gözlerde görülmesine karşın *Prevotella spp* ve *Fusobacterium spp'nin* sadece kuru göz olgularında bulunduğu dikkati çekmiştir. Kuru göz olgularında saptanan bazı bakteri cinslerinin, %'de olarak sağlıklı gözlerle göre daha fazla saptanmasına rağmen, ki kare testi ile yapılan istatistiksel karşılaştırmada iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tartışma: Kuru göz olgularında Gram pozitif bakterilerin daha sık olduğu saptanmıştır. Aynı olgularda Gram negatif bakterilerden *Haemophilus influenzae* alt tiplerinin ve *Haemophilus spp'nin* varlığı dikkat çekicidir. Sağlıklı gözlerde görülmeyen bazı anaerop bakterilerin kuru göz olgularında az da olsa ürediği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kuru göz, konjonktiva bakteri florası

(*) Prof. Dr., İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

(**) Uz. Dr., İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

(***) Prof. Dr., İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

(****) Araş. Gör., İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

♦ TOD 37. Ulusal Kongre'de poster olarak sunulmuştur.

Yazışma adresi: Prof. Dr. Güzin İskeleli, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, 34303 Aksaray - İstanbul
E-mail: guziniskeleli@hotmail.com

Mecmuaya Geliş Tarihi: 06.01.2004
Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 07.07.2004
Kabul Tarihi: 30.07.2004

SUMMARY

Assessment of Conjunctival Bacterial Flora in Dry Eye Patients

Aim: To compare the conjunctival bacterial flora of dry eye patients with the flora of healthy control subjects.

Method: Conjunctival smear of 40 eyes of 20 dry eye patients (mean age 50.75 ± 9.75 years) and conjunctival smear of 40 eyes of 20 healthy control subjects (mean age 46.95 ± 10.98 years) were obtained and sent to the microbiology laboratory for aerobic and anaerobic culture.

Results: Dominancy of Gram (+) bacteria were detected in both dry eyes (77.5%) and healthy eyes (67.5%). Coagulase (-) staphylococci were the most frequent in both groups. *Corynebacterium spp* (diphtheroid rods) in dry eyes and *Staphylococcus aureus* in healthy eyes took the second place (15%). In the third place, diphtheroid rods were detected in healthy eyes (12.5%), *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus intermedius* were detected in dry eyes (10%). Alpha hemolytic streptococci in both groups were equally detected. (7.5%). When considering Gram (-) bacteria, *Haemophilus* species especially *Haemophilus influenzae* subtypes were the most frequent bacteria in dry eyes. In healthy eyes, only *Haemophilus parainfluenzae* was detected. It's noted that in the aspect of anaerobic bacteria *Propionibacterium acnes* was isolated from both dry eyes and healthy eyes, but *Prevotella spp* and *Fusobacterium spp* were only isolated in dry eyes. Although some bacteria species were isolated at higher percentages in dry eyes than the healthy eyes, these results are not statistically significant according to the Qui Square test.

Conclusion: In dry eye patients, Gram (+) bacteria were isolated more commonly. It's noted that in the same cases *Haemophilus influenzae* subtypes and *Haemophilus spp* were detected as Gram (-) bacteria. Some anaerobic bacteria that are not isolated in healthy eyes were rarely isolated in the dry eye patients.

Key Words: Dry eye, conjunctival bacterial flora

GİRİŞ

Kuru göz (keratokonjonktivitis sikka) gözyaşı aköz yapım yetersizliği veya aşırı buharlaşmasıyla meydana çıkan gözyaşı film tabakası bozukluğudur (1,2,3).

Gözyaşı aköz yetersizliği, ağız kuruluğu (kserostomi) ve bağ dokusu hastalığıyla birlikte gelişirse, Sjögren sendromu adını alır (2,3). 1933'de Henrik Sjögren tarafından tanımlanan bu sendromun iki klinik tipi vardır. Primer tipinde sadece sikka sendromu veya kserostomi vardır. Sekonder tipinde ise sikka sendromu (kserostomi veya her ikisi) ve bağ dokusu hastalıkları birlikte bulunur.

Hastalığın kadın/erkek görülme oranı 9/1'dir, 40-60 yaş arasındakiler daha çok etkilenirler (1,2).

Gözyaşı aköz tabakası, gözyaşı film tabakasının temel salgısıdır. İnsan gözyaşındaki proteinin %30'u albumin ve % 20'si lizozimden oluşur. Lizozim bakterisid etkisiyle Gram pozitif organizmaları temizler. Diğer vücut sıvılarına oranla konsantrasyonu daha yüksektir. Diğer önemli bir gözyaşı proteini olan ve %25 oranında bulunan laktoferrin, bakteriyostatik ve bakterisidal etki gösterir. Tüm gözyaşı proteinlerinin %25'ini globulinler

oluşturur (3,4). Böylece lizozim ve laktoferrin aracılığıyla konjonktiva florasının dengesi sağlanır.

Bu çalışmanın amacı, normal sağlıklı kişilerin konjonktiva florası ile primer Sjögren tanısı konulmuş kuru gözlü kişilerin konjonktiva florasını bakteriyolojik olarak karşılaştırmaktır.

YÖNTEM ve GEREÇ:

Yaş ortalaması 50.75 ± 9.78 (yaşları 32-67 arası) ve hepsi kadın olan 20 kuru gözlü hastanın 40 gözü ve yaş ortalaması 46.95 ± 10.98 (yaşları 33-70 arası) olan 8'i erkek, 12'si kadın 20 sağlıklı kişinin 40 gözü çalışma kapsamına alınmıştır (Tablo 1).

Hastaların primer Sjögren tanısı dahiliye kliniği romatoloji bölümünde, serolojik testler ve dudak-tükrük bezi biyopsisi ile konulmuştu. Kuru göz hastalarımızın Schirmer testi (anestezisiz) ortalaması 2.53 ± 1.85 mm, gözyaşı kırılma zamanı ortalaması; 3.37 ± 1.05 sn, Rose-Bengal boyama her hastada gerek konjonktiva bölgesinde, gerek kornea üzerinde Van Bijsterveld skorlamasıyla (+) idi.

Tablo 1. Çalışma grupları

	Kuru göz hasta grubu (n=20)	Sağlıklı kontrol grubu (n=20)	p
Göz sayısı	40	40	
Yaş ortalaması ± SD	50.75±9.78	46.95±10.98	0.253
Cinsiyet (kadın/erkek)	hepsi kadın	12/8	

Kuru göz hastalarının ve sağlıklı kişilerin her iki gözünden, konjonktiva sürüntüleri steril eküvyon çubukları ile alınarak Carry & Blair transport besiyeri içinde fakültemizin Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları'na gönderilmiştir (5).

Alınan örneklerden Gram preparasyonları hazırlanmış, aerobik bakterilerin izolasyonu için, koyun kanlı agar, çukulatamsı agar ve Mc Conkey agar besiyerlerine ekimler yapılmış, 37 C°'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (6). Anaerobik bakterilerin izolasyonu için Schaedler agar ile hazırlanan kanlı anaerop agar, fenil etil alkollü anaerop agar, kanamycin-vankomisinli anaerop agar ve safralı eskülinli anaerop agar besiyerlerine ekimler yapılmıştır.

Tablo 2. Kuru göz ve normal göz konjonktiva florasından üretilen bakterilerin sayıları, yüzde oranları ve istatistiksel olarak karşılaştırılmaları

Bakteri cinsleri	Kuru göz (n=40) Göz sayısı ve %	Sağlıklı göz (n=40) Göz sayısı ve %	χ^2	p
Gram pozitif bakteriler				
Koagülaz negatif stafilkokklar	14 (35)	11(17.5)	0.52	0.469*
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (10)	6 (15)	0.46	0.499*
Alfa hemolitik streptokoklar	3 (7.5)	3 (7.5)	0.00	0,999 *
<i>Streptococcus intermedius</i>	4 (10)	2 (5)	0.72	0.396 *
<i>Corynebacterium spp (difteroid çomak)</i>	6 (15)	5 (12.5)	0.11	0.745*
Gram negatif bakteriler				
<i>Haemophilus influenzae tip b,c,d.</i>	2 (5)	0 (-)		0.494
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1(2.5)	1(2.5)		0,999
<i>Haemophilus spp</i>	1(2.5)	0 (-)		0.999
Anaerop bakteriler				
<i>Propionibacterium acnes</i>	2 (5)	1 (2.5)		0.999
<i>Prevotella spp</i>	1(2.5)	0 (-)		0.999
<i>Fusobacterium spp</i>	1(2.5)	0 (-)		0.999

* Pearson ki kare , Fisher kesin ki kare testi

Besiyerleri Anaerop Jarlarda (oxid) en az 72 saat inkübe edildikten sonra bakterilerin ayırımına ve tanısına gidilmiştir (6,7,8). Aerobik bakterilerin tanısı standart klinik laboratuvar metodları ile yapılmış, sonuçlar API panelleri ile doğrulanmıştır. Anaerop bakteriler ise API 20 A (bioMerieux) paneli ile tanımlanmıştır (5). İstatistiksel karşılaştırmada Pearson ki kare testi ve frekansın küçük olduğu durumlarda Fisher tam doğrulama testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Kuru göz olgularında %77.5, sağlıklı gözlerde ise % 67.5 oranında saptanan Gram pozitif bakterilerin diğer bakterilere göre baskın olduğu görülmüştür. Koagülaz negatif stafilkokklar, bu bakteriler içinde ilk sırayı almıştır. İkinci sırayı kuru gözlerde %15'lik oranla difteroid çomaklar, sağlıklı gözlerde ise aynı oranla *Staphylococcus aureus* almıştır. Sağlıklı gözlerde difteroid çomaklar %12.5'lük oranla üçüncü sırada yer almış, kuru gözlerde ise üçüncü sırayı %10'luk oranla *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus intermedius* almıştır. Alfa hemolitik streptokoklar ise her iki grupta da %7.5'lük oranda eşit olarak saptanmıştır. Gram negatif bakterilerde ise başta *Haemophilus influenzae* alt tipleri olmak üzere kuru gözlerde diğer *Haemophilus* türleri tespit edilmiştir. Sağlıklı gözlerde ise sadece *Haemophilus parainfluenzae* saptanmıştır. Anaerop bakteriler yönünden incelendiğinde *Propionibacterium acnes*'in kuru gözlerde ve sağlıklı gözlerde görülmesine karşın *Prevotella spp* ve *Fusobacterium spp*'nin sadece kuru göz olgularında bulunduğu dikkati çekmiştir. Kuru göz olgularında saptanan bazı bakteri cinslerinin, %'de olarak sağlıklı gözlerle göre daha fazla saptanmasına rağmen, yapılan istatistiksel karşılaştırmada iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 2).

Gram pozitif, Gram negatif ve anaerop bakteri gruplarının toplu olarak her iki grupta istatistiksel olarak karşılaştırılmalarında, anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 3).

Tek veya iki cins bakteri saptanması her iki grupta birbiri-

Tablo 3. Üretilen bakteri gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

	Kuru göz (n=40) Göz sayısı ve %	Sağlıklı göz (n=40) Göz sayısı ve %	χ^2	p
Gram pozitif bakteriler	31(77.5)	27(67.5)	1.00	0.317*
Gram negatif bakteriler	4(10)	1(2.5)	-	0.359
Anaerop bakteriler	4(10)	1(2.5)	-	0.359

*Pearson ki kare, Fisher kesin ki kare testi

Tablo 4. Tek veya daha fazla cins bakteri izolasyon oranları ve istatistiksel olarak karşılaştırılmaları

Bakteri izolasyonu	Kuru göz (n=40) Göz sayısı ve %	Sağlıklı göz (n=40) Göz sayısı ve %	χ^2	p
Bir cins	16 (40)	15 (37.5)	0.05	0.818*
İki cins	12 (30)	12 (30)	0	0.999
Üç cins	2 (5)	0 (-)	-	0.494
Bakteri ürememesi	10 (25)	13 (32.5)	0.55	0.459*

*Pearson ki kare, Fisher kesin ki kare testi

ne benzer değerlerde olup, istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir. Üç cins bakteri ise sadece kuru göz olgularında saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bakteri üremeyen göz sayıları arasında da iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4).

TARTIŞMA

Gözyaşı filmi, mikropları, toksinleri ve alerjenleri seyrelterek ve akıtıp uzaklaştırarak fiziksel bir savunma sağlar. Ayrıca gözyaşı filmindeki pek çok çözülebilen büyük moleküller, antimikrobiyal özellikler gösterirler. Laktoferrin, bakteriyel metabolizmayla alakalı enzimlerin fonksiyonları için gerekli olan serbest demir iyonlarını bağlar. Lizozim, bakteri hücre duvarının mukopeptidlerini bozar ve bakteriyel plazma membranlarının bütünlüğünü engelleyen β -lizin ile uyum içinde çalışır. Gözyaşındaki immünoglobulinler (esas olarak Ig A) ve kompleman komponentleri antijene özel hümmoral immüniteye aracılık ederler. Epitel mikrovillillerinin hemen üzerindeki müsün tabakası, birçok pato-

jenin kornea epiteline yapışmasını engeller (9,10). Normal göz kapaklarının ve konjonktivanın mikrobiyal florası, cilt ve üst solunum yolunkilere benzer ve bu flora ile kolonizasyonu oküler yüzey savunmasına yardım eder. Doğuştan olan bakteriyel flora, yabancı patojen bakterilerin yerleşmesini, antibakteriyel maddeler salgılayarak, alan ve besin maddeleri için yarışarak inhibe eder. Kapak kenarları ve konjonktiva florasında hakim izolatlar *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium spp* (difteroid çomaklar) ve *Propionibacterium acnes*'dir. Az oranda diğer anaerop bakteriler dahil olmak üzere pek çok bakteri ve mantar türlerine de rastlanabilir (11). Yapılan bir çalışmada normal kişilerin konjonktiva florasında %92 oranında mikroorganizma görülmüş ve olguların %53'ünde *Staphylococcus epidermidis*, %31'inde *Staphylococcus epidermidis* ve *Corynebacterium spp.* ve %3'ünde *Staphylococcus aureus* ve da-

ha az olarak *Acinetobacter spp*, *Neisseria spp* ve nonhemolitik streptokoklar saptanmıştır (12). Koagülaz negatif stafilokoklar ve difteroid çomaklar, insanların dış oküler yüzeyinin normal baskılayıcılarıdır ve bu mikroorganizmalar, patojen bakteriler tarafından oluşturulacak enfeksiyon ve kolonizasyonu önlemede oküler anatominin savunma mekanizmasının bir bölümü olarak iş görürler (13). Kuru göz hastalarında gözyaşının azalmasına bağlı olarak laktoferrin, lizozim gibi antibakteriyel etkili elementlerin azalmasına bağlı olarak normal bakteri florasının da değişebileceği düşünülebilir. Yapılan bir çalışmada kuru göz hastalarında, konjonktiva ve göz kapaklarının yarıkantitatif bakteri kültürü yapılmış, stafilokoklar sayılmış ve biyotip olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'in herhangi bir biyotipi ile konjonktiva kolonizasyonu artışı olmuş ve kontrollerle aynı sayıda konjonktiva steril kalmıştır. Pnömonok veya *Haemophilus influenzae* gibi herhangi bir patojen izole edilmemiştir. Yazarlar, kronik olarak inflame damarlar yoluyla serum proteinlerinden derivate olan alternatif koruyucu bir antibakteriyel mekanizmayı düşünmüşlerdir (14).

Bizim çalışmamızda en çok görülen Gram pozitif bakterilerin toplam yüzdeleri karşılaştırıldığında, kuru göz olgularında ve normal gözlerde istatistiksel bir fark göstermemiştir. Burada koagülaz negatif stafilokoklar her iki grupta ilk sırayı almıştır. İkinci sırayı %15 oranla kuru göz olgularında difteroid çomaklar ve normal gözlerde *Staphylococcus aureus* almıştır. Üçüncü sırayı ise kuru göz olgularında *Staphylococcus aureus*'un ve *Streptococcus intermedius*'un, normal gözlerde ise difteroid çomakların aldığı görülmüştür. Alfa hemolitik streptokoklar her iki grupta da aynı oranda saptanmıştır. Bu bulgular genellikle normal flora bulgularına uymaktadır (11,14). Gram negatif bakterilerden *Haemophilus influenzae* tip b.c.d ve *Haemophilus spp* çok az olmakla birlikte, sadece kuru göz olgularında saptanmıştır. Anaerob bakterilerden *Propionibacterium acnes* her iki grupta çok az görülmesine rağmen *Prevotella spp* ve üst solunum yolları bakterilerinden olan *Fusobacterium spp* sadece kuru göz olgularında saptanmıştır.

Genel olarak bakıldığında normal konjonktiva florısından aşırı bir sapma her iki grupta da görülmemesine karşın, Gram negatif bakteriler ve anaerob bakteriler kuru göz olgularında çok az da olsa çeşitlilik olarak daha fazladır ve aynı gözde üç cins bakterinin birlikte bulunması sadece kuru göz olgularında görülmüştür.

Sonuç olarak kuru göz olgularında Gram pozitif bakterilerin daha fazla görülmesi ve aynı olgularda Gram negatif bakterilerden *Haemophilus influenzae* alt tiplerinin ve *Haemophilus spp*'nin varlığı ve anaerob bakterilerden *Prevotella spp* ve *Fusobacterium spp*'nin görülmesi dikkat çekicidir. Sağlıklı gözlerde görülmeyen bazı anaerob bakterilerin az da olsa kuru göz olgularında ürediği saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Kanski JJ: Disorders of the conjunctiva. Clinical Ophthalmology. A Systematic Approach. 4.baskı. Oxford, Butterworth-Heinemann. 1999; 79-81.
2. Weingeist TA, Liesegang TJ, Grand MG: External Disease and Cornea, Basic and Clinical Science Course. Section 8. San Francisco. American Academy of Ophthalmology 1998-1999; 79-80.
3. Murillo-Lopez F, Pflugfelder SC: Dry Eye In: Cornea, Cornea and External Disease: Clinical Diagnosis and Management, Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ eds. St.Louis. Mosby-Year Book, Inc.1997; 663-677
4. Özçetin H: Gözyaşı Sistemi Hastalıkları. Klinik Göz Hastalıkları. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2003; 19-30.
5. Morgan SE, Matheson MM, McLoughrin-Borlace K, et al: Use of a low nutrient culture medium for the identification of bacteria causing severe ocular infection. J Med Microbiol 1999;48:701-703.
6. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al: Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology 5th ed. Philadelphia, J.H. Lippincott. 1997; 98.
7. Sumannen P, Baron EJ, Citron DM, et al: Wardsworth Anaerobic Bacteriology Manual 5th.ed. Star Publishing, Belmont, Calif 1993; 118.
8. Citron DM: Rapid identification of anaerobes in the clinical laboratory. Anaerob 1999; 5: 109-113.
9. Mathers WD: Why the eye becomes dry: A cornea and lacrimal gland feedback model. The CLAO Journal. 2000; 26: 159-165.
10. Weingeist TA, Liesegang TJ, Grand MG: External Disease and Cornea, Basic and Clinical Science Course, Section 8. San Francisco. American Academy of Ophthalmology, 1998-1999;111-113.
11. Osato MS: Normal ocular flora. In:PePOSE JS, Holland GN, Wilhelmus KR, eds. Ocular Infection and Immunity. St Louis, Mosby. 1996; 191-199.
12. Manav G, Bilgin L, Gezer A: Normal populasyonda konjunktival flora T. Oft. Gaz 1992; 22:121-124.
13. Chandler JW, Gillette TE, Immunologic defence mechanisms of the ocular surface, Ophthalmology. 1983; 90: 585-591.
14. Seal DV, McGill JI, Mackie IA, Liakos GM, Jacobs P, Goulding NJ: Bacteriology and tear protein profiles of the dry eye. Br J Ophthalmol. 1986; 70: 122-125.