

ÖZET

Bu çalışmayı elektrik akımının idrardaki çeşitli bakteriler üzerine in vitro etkisini incelemek için yaptık.

Cam tüpler içerisindeki 10'ar ml idrarlara yoğunluğu 10^5 koloni/ml olacak şekilde *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* ekildi. 0, 4, 1, 2, 3, ve 4 mA düzeyindeki akımlar platin elektrotlarla enfekte idrarlara 24 saat süreyle verildi. Kültürler akım verilirken 6. ve 24. saatin sonunda ve akım kesildikten 6 saat sonra alındı. Her mikroorganizma ve her akım derecesi için testler üçer kez tekrarlandı.

Akım düzeyi 0.4 mA iken hiçbir mikroorganizmanın üremesi durmadı. Bir mA akım düzeyinde *E. coli*'de ekim sayısına göre artış olmazken, diğer mikroorganizmaların üremesini etkilemedi. *E. coli* 2, 3 ve 4 mA, *K. pneumoniae* 3 ve 4 mA ve *P. aeruginosa* 4 mA 6. ve 24. saatin sonunda hiç üremedi. *P. aeruginosa*'nın üremesi 2 ve 3mA düzeyinde 24. saat sonunda azalırken, akım kesildikten 6 saat sonra 3 mA düzeyinde hiç bir üreme olmadı, 2 mA'de ise 24. saati sonuna göre daha azaldı. *K. pneumoniae*'nin 2 mA düzeyinde 24. saatin sonunda üremesi azalırken akım kesildikten 6 saat sonra yoğunluğunda tekrar artış oldu.

İontoforetik yöntemle bakterileri yoketmek veya sayısını azaltmak mümkündür ve bu etki akım düzeyine bağlıdır. Geliştirilecek elektrikli kateter sistemleriyle bakteriüri ve ilgili komplikasyonların riski azaltılabilir.

ABSTRACT

We performed this study to evaluate the in vitro efficiency of electrical current on some bacteria in urine.

E. coli, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* were inoculated in 10 ml urines in glass tubes with the resultant concentrations of 10^5 cfu/ml. The chosen electrical current levels were 0.4, 1, 2, 3 and 4mA and were given to infected urines through platinum electrodes for 24 hours. The cultures were obtained at 6th and 24th hours and after 6 hours following cessation of the current. For each bacteria and current levels the tests were repeated three times.

At the 0.4 mA current level, all bacteria continued to survive in greater numbers than the inoculated concentrations. At the level of 1 mA, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* continued to survive in greater numbers than the first inoculation concentrations. However, the concentration of *E. coli* did not change as the current was applied. At 24th hour and 6 hours following cessation of the current, for 2, 3 and 4 mA *E. coli*, for 3 and 4 mA *K. pneumoniae* and for 4 mA *P. aeruginosa* did not survive. When compared with 24th hour results, *P. aeruginosa* had lower concentrations for 2 mA current level and did not survive for 3 mA current level at 6th hour following cessation of the current. *K. pneumoniae* was in higher concentrations for 2 mA current level at 6th hour following cessation of current when compared with 24th hour results.

It is possible to kill or reduce the concentrations of bacteria in urine with iontophoresis. This effect is related to the level of the current. With the new generation electrified catheters the risk of bacteriuria and related complications might be reduced.

ANAHTAR KELİMELER: İontoforez, Antibakteriyel etki, Elektrik akımı,

KEY WORDS: Iontophoresis, Antibacterial effect, Electrical current.

Dergiye geliş tarihi:

Yayına kabul tarihi:

* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı / KAYSERİ

** Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı / KAYSERİ

GİRİŞ

Elektrik akımının etkisiyle mikroorganizmaların eradike edilmesi amacıyla çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalar yapılmıştır. Üretral kateter konulan hastalarda bakteriürinin kısa bir süre sonra kaçınılmaz olarak ortaya çıkması ve bunun çeşitli komplikasyonlara yol açabilmesi, günümüzdeki kateter sistemlerine göre daha etkin bir sistem oluşturulması amacıyla araştırmaları çeşitli çalışmalara sevk etmiştir. Sentetik idrarla in vitro çalışmaların çoğu Davis ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiş olup oldukça çarpıcı sonuçlar elde edilmiştir^{1,2}. Biz de iontoforetik yöntemin idrardaki bakteriler üzerine in vitro etkinliğini gözlemek ve bazı projelerimizi bu yöntemle gerçekleştirip gerçekleştiremeyeceğimizi değerlendirmek amacıyla bir çalışma yaptık.

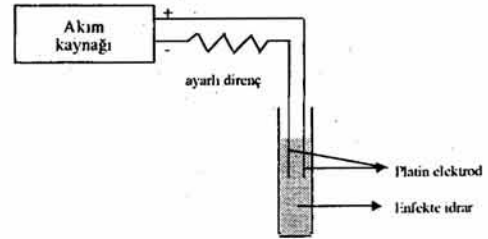
GEREÇ VE YÖNTEM

İlk olarak üniversitemiz elektronik mühendisliğinde pille çalışan ve sabit 400µa akım sağlayan, 2500 hertz frekanslı doğru akım vericisi yapıldı. 20µm kalınlığındaki saf platin ve gümüş elektrodlar kuyumcularda özel haddelerden çektilerle elde edildi. İki platin veya gümüş elektrod şeffaf nelaton kateter parçasının her iki dış yanına gelecek şekilde yerleştirildi. Elektrodlar akım kaynağından gelen tellere lehimle tutturuldu. Elektrodlu kateter parçasının iki cm'si idrarla temas edecek şekilde cam tüpler içerisine yerleştirildi. Her deney için hem kontrol hem de aktif olarak elektrik akımı verilen grup vardı ve kontrollerde de elektrodlu kateter mevcuttu.

Deney için idrardan izole edilen dirençli olmayan *Escherichia coli* (E. coli), çok dirençli *Pseudomonas aeruginosa* (P. aeruginosa) ve *Klebsiella pneumoniae* (K. pneumoniae) suşları kullanıldı. Mikroorganizmalar tripticase-soy-broth besiyerine ekilip 10^8 cfu/ml konsantrasyonda bakteri elde edildi. Deneyde kullanılan ve steril olduğu stikle test edilen idrar araştırmacı tarafından verilir verilmez, bakterilerin koloni sayısı mililitrede 10^5 olacak şekilde ayarlandıktan sonra 10^5 ar ml'si elektrodlu cam tüplere konuldu.

Çalışmanın birinci kısmında hem gümüş hem de platin elektrodlu kateterlerle çalışıldı.

Gümüş elektrodlar idrarla temas edildiği yerden kısa sürede kırıldığı için çalışmaya sadece platin elektrodlarla devam edildi. Bu aşamada sadece 400µa akım verildi. Mikroorganizma sayısını azaltmada etkisiz olduğu görüldüğünden çalışmanın diğer kısmına basit bir adaptör kullanılarak devam edildi. Adaptörün bir ucuna bağlanan ayarlı direç sayesinde 1, 2, 3 ve 4mA düzeylerindeki sabit akımlar kullanıldı. Düzenek şekil 1'de gösterildi.



Şekil 1: Çalışmada kullanılan düzenek şematik olarak gösterimi

Enfekte idrarlara istenen düzeylerdeki akım 24 saat süreyle verildi. Kültürler için 0.1 ml örnekler akım verilirken 6. saatin sonunda, akım kesilir kesilmez (24. saatin sonunda) ve akım kesildikten 6 saat sonra alındı (30. saatin sonunda). Her test her akım düzeyinde ve her bir mikroorganizma için üçer kez tekrarlandı. Her seferinde elektrodlu kontrol tüplerine enfekte idrarlar konuldu fakat elektrik verilmedi ve 6. 24. ve 30 saatte bunlardan da kültür için örnekler alındı. Deney süresince idrarlar 37°C sıcaklıktaki etüv içerisinde tutuldu.

İdrar örnekleri ekim yapıldıktan 24 saat sonra koloni sayısı açısından değerlendirildi. Koloni sayısı 10^5 /ml'nin çok üzerindeyse sayım yapılmadı.

SONUÇ

Çalışma 400µa akım düzeyinin mikroorganizmaları eradike edebileceği hipotezi üzerine kurulmuştu ve bu nedenle bu düzeyde sabit akım verebilen bir cihaz üretildi. Bu akım düzeyinde

hiç bir mikroorganizmanın üremesi engellenemedi. Üçer kez alınan kültürlerde her seferinde çalışılan mikroorganizmaların üreme düzeyi 10^5 koloni/ml üzerindeydi. Bu ön çalışmada hem platin hem de gümüş elektrodlar kullanılmıştı ancak gümüş elektrodlar akım verildikten bir kaç saat sonra kırıldığı için sadece platin elektrodlarla elde edilen sonuçlar değerlendirilmeye alındı.

Çalışanın ikinci aşamasında basit bir ayarlanabilir doğru elektrik akımı sağlayan sistem kuruldu. Bu ve önceki sistemle enfekte idrarlara verilen akımlar sonucunda üreme düzeyleri tablo 1'de gösterildi. Elektrod içeren ancak akım verilmeyen kontrol gruplarından alınan örneklerin hepsinde mikroorganizmaların konsantrasyonu 10^5 koloni/ml üzerindeydi.

TARTIŞMA

Önceleri iontoforetik yöntemle bakteri öldürme üzerine yapılan çalışmalarda elektrik akımı verildiğinde oluşan metal iyonlarıyla ortaya çıkan bileşiklerin bakteriler üzerine olumsuz etkisi olduğuna inanılmıştır.³ Grup VIIIb metal bileşiklerin 1-10 ppm'inin (mililitredeki parçacık sayısı) *E. coli*'nin bölünmesini durdurduğu gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada platin elektrod ve yüksek akım (2-3 amper) kullanılmıştır. Bu düzeydeki akımda platinin element olarak ayrışıp çeşitli toksik bileşikler yapması olasıdır ancak bizim kullandığımız düşük akımlar için yeterli sayıda platinin element halinde ayrışması söz konusu olamaz. Gümüş elektrod kullanıldığında ayrılan gümüşün ve oluşan bileşiklerin bakteriler üzerine olumsuz etkisi olabilir. Gümüş elektrod

kullanarak yaptığımız ön çalışmalarda elektrod idrara yukarıdan daldırıldığında, bir kaç saat içerisinde havayla temas ettiği yerden kırılıyordu. Bu nedenle biz de plastik kapların dibini delerek gümüş elektrodları alttan idrarla temas ettirdik ve hava-sıvı arası etkileşimi ortadan kaldırdık. Her denemede anoda (artı uca) bağlı gümüş elektrod 400µa akımda bile 24 saat dolmadan eriyordu. Gümüş kaplı kateterlere yapılan çalışmaların temelinde de gümüşün ayrışıp bakteriler üzerine bilinen öldürücü etkilerini kullanmak yatmaktadır.⁴ Iontoforez yöntemi kullanıldığında sadece metal iyonların veya bunlarla birlikte oluşan bileşiklerin değil elektrik akımı etkisiyle oluşan, özellikle klorlu bileşiklerin öldürücü etki yapabileceği Davis ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir.^{1,2} Çalışmalarında platin, gümüş gibi metal elektrodların yanısıra karbon elektrod kullanıldıklarında da çeşitli mikroorganizmalar üzerinde üremeyi yavaşlatıcı ya da yok edici etkisi olduğunu göstermişlerdir. Yanısıra klorlu bileşiklerin olmadığı sentetik idrarlarla yaptıkları çalışmalarda elektrik akımının pek fazla bir etkinliği olmadığını göstermişlerdir. Biz de ön çalışmalarımız sırasında idrara pile bağlı elektrodları direk olarak yerleştirdiğimizde 25-35 mA gibi yüksek akımlar ortaya çıktı ve bir süre sonra bildiğimiz çamaşır suyu (hipoklorid) kokusu duyuldu. Davis ve arkadaşları 400µa gibi çok düşük düzeylerdeki akımlarda 10^8 koloni/ml düzeyindeki mikroorganizmaları bile yokedebilmişlerdir. Kullandıkları idrarın sentetik olması bu etkiyi doğruluyor olabilir. Kendilerinin de belirttiği gibi doğal idrarda varolan albumin ve kreatinin çeşitli konsantrasyonları elektrik akımının etkisini azaltmaktadır.² Biz çalışmaları aynı sağlıklı insa-

		E. coli			K. pneumoniae			P. aeruginosa		
Akım		Süre(saat)			Süre(saat)			Süre(saat)		
(mA)		6	24	30	6	24	30	6	24	30
0.4		$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$
1		10^5	10^5	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$
2		10^5	0	0	10^5	5×10^3	5×10^4	10^5	4×10^3	2×10^3
3		10^5	0	0	10^5	0	0	10^5	10^3	0
4		10^4	0	0	10^4	0	0	4×10^3	0	0

Tablo 1. Mikroorganizmaların akım verililişinin 6. ve 24. saatindeki ve akım kesildikten sonraki 6. saatteki koloni sayıları.

nın farklı zamanlarda alınan idrarıyla yaptık. Her deneme üçer kez tekrarlanmasına rağmen bakterilerin üremesine olan etki her akım düzeyi için kendi içinde çok fazla farklılık göstermiyordu. Wong ve arkadaşlarının çalışmasında ise 10^5 koloni/ml altındaki konsatrasyonda çeşitli bakterilerde düşük akımların üremeyi durdurucu etkileri olduğunu göstermişler ancak akım kesildikten sonra hızla üreme olduğunu gözlemişlerdir.⁵ Çalışmalarında in vitro mesane modeli kullanmışlar ve kateterli bir insanın mesanesi gibi 10 ila 40 ml arasında rezidü kalan bir sistemde çalışmışlardır. Aynı çalışmada 10^5 cfu/ml üzerindeki konsantrasyonlarda bakteri varlığında 4 mA ve altındaki akım düzeylerinin etkisiz olduğunu görmüşlerdir. Diğer araştırmacıların az miktardaki ve sentetik ve durağan idrarlarda yaptıkları çalışmaların alt üriner sistemi taklit etmediği için iontoforetik bakteri öldürme yönteminin insan üzerindeki etkisine kuşkuyla bakılmaktadır. Ancak yine Davis ve arkadaşlarının koyunlar üzerindeki in vitro çalışmada mesane içine üretral yoldan yerleştirilen kateterler aracılığıyla verilen 0.4mA düzeyindeki doğru akımın, mesane idrarındaki bakteri sayısını akım verilmiş ve kateterli hayvanlarınkine göre belirgin şekilde düşürdüğü görülmüştür.⁶ Çalışmalarındaki diğer önemli bulgular böbrekten izole edilen bakteri sayılarının da kontrol grubuna göre belirgin şekilde azalması ve dokularda akıma bağlı bir hasarın olmamasıdır. Shafik'in insanlar üzerinde yaptığı çalışmada gümüş elektrodlar kullanılmış, kullanılan akım düzeyi belirtilmemiş ve kateterizasyon sırasında hastalara antibiyotik verildiği belirtilmiştir.⁷ Bahsedilen çalışmada da izole edilen bakteri sayısının akım verilen hastalarda azaldığı saptanmıştır. Ancak diğer araştırmacıların ve ön çalışmamızdaki gözlemlerimize göre gümüş elektrodların ömrü 0.4 mA düzeyinde bile 24 saati bulmamaktadır. Shafik'in çalışmasındaki düzenekte elektrodlar 9 voltluk pile direk olarak bağlanmış olarak gösterilmiştir. Bizim ön çalışmamızda böyle bir düzenek kullanıldığında idrarın içeriğine göre değişmekle birlikte çekilen akım 35 mA'e kadar çıkmakta ve gümüş elektrodlar bir saat bile geçmeden kırılmakta ya da erimektedir. Bu düzeydeki akımın mukozal hasar yapabileceği olasıdır.

Çalışmamızda ortaya çıkan diğer bir bulgu *P. aeruginosa* üzerine olan iontoforez sonrası etkidir. 2 ve 3 mA düzeyindeki akımların 24 saatin sonunda bakteri sayısını azalttığı, akım kesildikten altı saat sonra ise sayının daha da azaldığı ya da 3 mA düzeyinde üreme olmadığı gözlemlendi. İontoforez sonrası oluşan bazı bileşiklerin halen bakteriler üzerine etkilerinin devam edebileceği kanısına varıldı. Davis ve arkadaşlarının bir çalışmada steril sentetik idrara iontoforez uyguladıktan sonra ekim yapılan ve akım verilmeyen idrarlarda belli bir süre üremenin durması da bizim düşüncemizi desteklemektedir.²

Sonuç olarak, iontoforetik yöntemle bakterileri yoketmek veya sayısını azaltmak mümkündür ve bu etki akım düzeyine bağlıdır. Geliştirilecek elektrikli kateter sistemleriyle bakteriüri ve ilgili komplikasyonların riski azaltılabilir.

KAYNAKLAR

- 1- Davis CP, Wagel N, Anderson MD and Warren MM. Iontophoresis generates an antimicrobial effect that remains after iontophoresis ceases. *Antimicrob Agents Chemother.* 36: 2552-2555, 1992.
- 2- Davis CP, Wagel N, Anderson MD and Warren MM. Iontophoresis and chloride containing compounds: Parameters required for killing. *J Urol.* 150: 1172-1175, 1993.
- 3- Rosenberg B, Camp LV and Krigas T. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature* 205: 698-69, 1965.
- 4- Liedberg H and Lundberg T. Silver coating of urinary catheters prevents adherence and growth of *Pseudomonas aeruginosa*. *Urol Res.* 17: 357-358, 1989.
- 5- Wong HY, Riedl CR and Griffith DP. The effect of iontophoresis on bacterial growth in urine. *J. Urol.* 154: 1944-1947, 1995.
- 6- Davis CP, Shirliff ME, Scimeca JM, Hoskins SL and Warren MM. In vivo reduction of bacterial populations in the urinary tract of catheterized sheep by iontophoresis. *J. Urol.* 154: 1948-1953, 1995.
- 7- Shafik A. The electrified catheter. Role in sterilizing urine and decreasing bacteriuria. *World J Urol.* 11: 183-185, 1993.