

DAPTOMİSİN, HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ VE OZON TEDAVİSİNİN VASKÜLER GREFT ENFEKSİYONUNUN TEDAVİSİNDEKİ ETKİNLİĞİ

Ahmet Ekin¹, Ahmet Vural², Ali Ümit Yener³, Sedat Özcan³,
Tolga Kurt³, Ömer Çokkalender³, İsmail Ertuğrul Gedik⁴,
Suzan Saçar⁵, Ahmet Ünver², Mustafa Saçar³

¹Çanakkale Devlet Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği, Çanakkale

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Çanakkale

³Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi AD, Çanakkale

⁴Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi AD AD, Çanakkale

⁵Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Çanakkale

GİRİŞ

- ▶ Vasküler greft enfeksiyonları, özellikle sentetik greft kullanılan hastalarda cerrahi teknikten ve kullanılan malzemenin türünden bağımsız olarak yaklaşık %1–3 oranında görülmektedir.

Bandyk DF. Vascular surgical site infection: risk factors and preventive measures. Semin Vasc Surg. 2008;21: 119–23.

Etiyoloji

- ▶ Erken dönem greft enfeksiyonlarında genelde etken *Staphylococcus aureus* iken
- ▶ Geç dönemde görülen greft enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan etken *Staphylococcus epidermidis*'tir.

Baddour LM. Infections of prosthetic valves and other cardiovascular devices. In: LIVINGSTONE, EC., editor. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia, Pennsylvania. p. 1022-1044;2005.

OZON

- ▶ Dinamik olarak kararsız bir yapıda üç oksijen atomundan oluşan bir moleküldür.
- ▶ Ozon (O₃) antiseptik özelliğe sahip olan kuvvetli bir oksitleyici gazdır. Bakteriler, sporlar ve virüsleri etkili bir şekilde inaktive etmektedir.

Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. Haematologica. 75: 510-515.

Ozon

- ▶ Medikal ozon tedavisi; biyolojik sistemlere oksijen ve gaz ozon karışımı sunma tekniğidir.
- ▶ Ozon tedavisi, oksijen / ozon karışımının uygulanmasıdır.

Sagai M, Bocci V. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? Med Gas Res. 2011;1:29.

HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ

- ▶ Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi tamamen kapalı basınç odalarında, %100 oksijeni 1 absolut atmosfer (1ATA=1 Bar=780 mmHg)'den daha büyük basınç etkisiyle hastaların soluması olarak tanımlanabilir.

Jain KK. HBO Therapy in Infections. Textbook of Hyperbaric Medicine. Hogrefe & Huber Publishers. p. 133-146;2004.

HBO

- ▶ HBO serbest oksijen radikalleri ile bakterisit ve bakteriyostatik etki gösterir.
- ▶ Serbest oksijen radikalleri membran lipitlerinin ve proteinlerin oksidasyonuna, bakterilerin metabolik fonksiyon inhibisyonuna, DNA hasarlarına yol açarlar.
- ▶ HBO tedavisi lökositlerin antibakteriyel etkisini oksijene bağımlı antimikrobiyal fonksiyonu üzerinden gösterir.

AMAÇ

- ▶ Bu çalışmada ratlarda oluşturulan greft enfeksiyonu modelinde daptomisin, HBO ve ozon tedavisinin etkinliğinin karşılaştırılması amaçlandı.

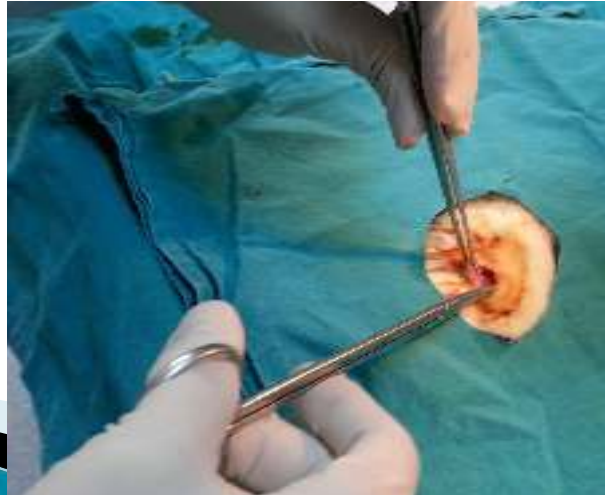


GEREÇ VE YÖNTEM

- ▶ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (13.02.2013 karar no: 2013/02-16) tarafından onaylandı.
- ▶ Çalışmada, tüm işlemler 20.02.2015-01.03.2015 tarihleri arasında, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Deneysel Araştırma Merkezindeki laboratuvar hayvanlarında gerçekleştirildi.
- ▶ Proje (proje no:2014-118) Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje uygulamaları tarafından desteklendi.

Gereç ve Yöntem

- ▶ Çalışmada 250–300 gram ağırlığında 49 adet Wistar cinsi ratlar kullanıldı.
- ▶ Ratların sırt bölgesi öncelikle tıraş edildi, sonrasında asepsi %10 povidon iyodin ile sağlandı. Ratların her birine, orta hattın sağ bölgesinde yer alacak şekilde yaklaşık 1,5 cm uzunluğunda cilt insizyonu yapıldı.



Gereç ve Yöntem

- ▶ Yapılan insizyonun ardından subkutan dokuda cep oluşumu sağlandı. Aseptik koşullarda bu hazırlanmış olan ceplere, 1 cm² boyutunda dakron greft (Gelseal, Sulzer Vascutek Ltd, UK) parçaları yerleştirildi.



Grup ve Tedavi Yöntemleri

- ▶ **Grup 1 (kontamine olmayan kontrol grubu, n=7)**
 - Ratların subkutanöz dokusuna greft yerleştirildi.
 - Mikroorganizma ile kontamine edilmedi, ayrıca herhangi tedavi de uygulanmadı.
- ▶ **Grup 2 (n=7) (kontamine kontrol grubu, n=7)**
 - Standart MRSA suşu ile greft enfeksiyonu oluşturmak üzere kontaminasyon sağlandı.
 - Fakat bu grupta herhangi bir tedavi verilmedi.
- ▶ **Grup 3 (daptomisin grubu, n=7)**
 - Standart MRSA suşu ile greft enfeksiyonu oluşturmak üzere kontaminasyon sağlandı.
 - İntraperitoneal enjeksiyon ile daptomisin (40 mg/kg/gün) 5 günlük süre boyunca uygulandı.

Grup ve Tedavi Yöntemleri



- ▶ **Grup 4 (ozon tedavisi grubu, n=7)**
 - Standart MRSA suşu ile greft enfeksiyonu oluşturmak üzere kontaminasyon sağlandı. Ozon tedavisi bu grupta bulunan ratlara şu şekilde uygulandı.
 - Turkozone blue marka, 0–70 mikrogram/ml ozon konsantrasyonu üreten, vakum pompa kapasitesi 8lt/dk ve cihaza 1–10 bar basınçta oksijen girişi sağlayabilen teknik özelliklere sahip medikal ozon jeneratörü ile çalışıldı.
 - Periton içine O_3/O_2 gaz karışımı 0,7 mg/kg dozda verildi. Ozon cihazı ile O_3 üretimi gerçekleştirildi. %97 oranında O_2 ile %3 oranında O_3 bulunduran gaz karışımına denk gelecek şekilde 60 mg/ml konsantrasyonunda O_3 akımı 3lt/dk hızında sabitlendi. İstenilen konsantrasyon düzeyinde, kesintisiz O_3 gazının muhafaza edilmesi ve uygulanabilmesi için tek kullanımlık silikon kaplı, polipropilen özeliği olan enjektör ve ayrıca tygon polimer tüpler kullanıldı.
 - Tedavi 5 günlük süre boyunca uygulandı.

Grup ve Tedavi Yöntemleri



- ▶ **Grup 5 (HBO grubu, n=7)**
 - Standart MRSA suşu ile greft enfeksiyonu oluşturmak üzere kontaminasyon sağlandı.
 - HBO tedavisi için Barotech marka, 100 lt hacim, 3 bar (4 ATA) test basıncı olan, iç çapı 30cm, uzunluğu 50cm'e sahip teknik özellikleri taşıyan deney basınç odasıyla hiperbarik uygulaması yapıldı.
 - Bu grupta bulunan ratlara HBO, 5 gün süre boyunca her gün 90 dakika şeklinde 2,8 atmosfer basınçta tedavi olarak uygulandı. Uygulamaların 3 bar aşmaması güvenli olarak kabul edilmektedir.

Grup ve Tedavi Yöntemleri

- ▶ **Grup 6 (ozon tedavisi + daptomisin grubu, n=7)**
 - MRSA suşu ile greft enfeksiyonu oluşturmak üzere kontaminasyon sağlandı.
 - Bu grupta 5 günlük süre boyunca ozon tedavisi ile birlikte, Grup 3 ve 4'teki protokole göre uygulandı.
- ▶ **Grup 7 (hiperbarik oksijen+daptomisin tedavisi grubu, n=7)**
 - MRSA suşu ile greft enfeksiyonu oluşturmak üzere kontaminasyon sağlandı.
 - Bu grupta 5 günlük süre boyunca daptomisin ve HBO tedavisi birlikte, grup 3 ve 5'teki protokole göre uygulandı.

Gereç ve Yöntem

- ▶ 48 saat sonrasında tedavi uygulamasına geçildi.
- ▶ Kontrol gruplarından kontamine ve kontamine olmayan grubunda bulunan ratlara, başlangıç mikrobiyal yükü greftlerde saptamak amacıyla tedavinin başlama döneminde sakrifiye işlemi uygulandı.
- ▶ Greftler, tedavi bitiminin 12 saat sonrası genel anestezi altında bütün diğer gruplarda çıkartılıp, mikrobiyolojik yönden incelendi.

Gereç ve Yöntem

- ▶ Çıkarılan greftler steril salin ile yıkanıp 10 mL'lik fosfat tampon solüsyonu içine konuldu.
- ▶ Bir dakika süreyle vortekslendikten sonra solüsyondan 0,1 mL alınarak standart kanlı agara ekildi.
- ▶ Besiyerleri 37 °C'de 48 saatlik inkübasyon sonrası her bir kültür plağında üreyen MRSA kolonisi KOB/mL cinsinden hesaplandı.

İstatistiksel İncelemeler

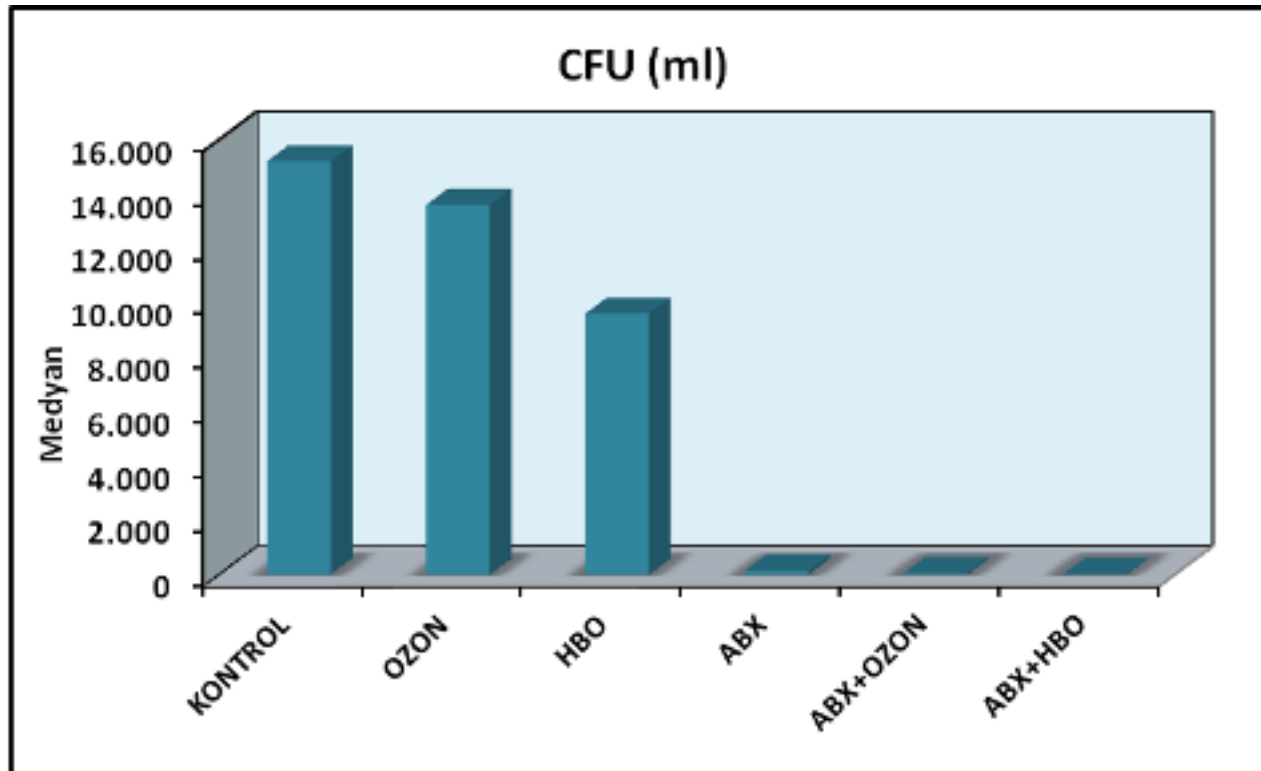
- ▶ İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS (Power Analysis and Sample Size) 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı.
- ▶ Veriler ortalama ve standart sapma şeklinde ifade edildi.
- ▶ Gruplar arası kıyaslama *Kruskal Wallis* testi ile yapıldı.
- ▶ Grup içi kıyaslamalar *Bonferroni* düzeltmeli *Mann Whitney U* testi ile yapıldı.
- ▶ p değerinin $<0,05$ olması istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.
- ▶

BULGULAR

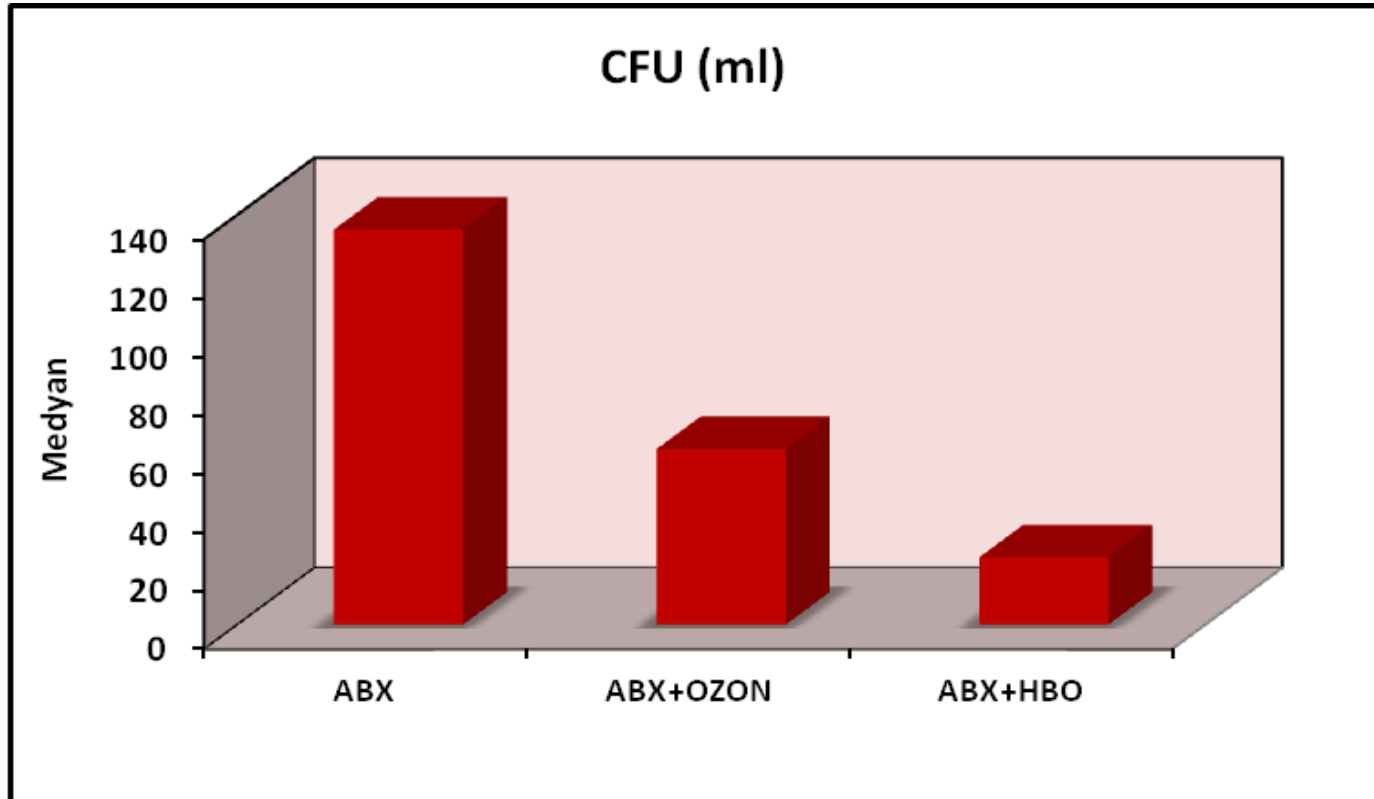
Çalışma grupları ve kantitatif kültür sonuçları (KOB/ mL)

Grup		n	Koloni oluşturan birim/ml (Ortalama±SD)		
Kontamine olmayan grup		7	-		
^a Kontamine grup		7	14914.29±1591,04		
^b Ozon grubu		7	12600.00±2918,90		
^c HBO grubu		7	9285.71±3234,93		
^d daptomisin grubu		7	137.57±29.34		
^e daptomisin+ozon grubu		7	58.86±7.22		
^f daptomisin+HBO grubu		7	29.71±11.62		
Çoklu kıyaslamalar	p	a-bp=0,141 a-cp=0,003** a-dp=0,002** a-ep=0,002** a-fp=0,002**	b-cp=0,085 b-dp=0,002** b-ep=0,002** b-fp=0,002** c-dp=0,002**	c-ep=0,002** c-fp=0,002** d-ep=0,002** d-fp=0,002** e-fp=0,002**	

Gruplara göre kantitatif kültür sonuçlarının (KOB/mL) dağılımı



Daptomisin, Daptomisin+Ozon ve Daptomisin+HBO gruplarının kantitatif kültür sonuçlarının (KOB/mL)



TARTIŞMA

- ▶ Medikal ozon ↔ HBO
- ▶ HBO tedavisine göre medikal ozon tedavisinin daha etkin olduğu; ödem, inflamasyon ve oksidatif stresin daha düşük değerlerde olduğu gösterilmiştir.

Altinel O, et al. Comparison of hyperbaric oxygen and medical ozone therapies in a rat model of experimental distal colitis. Scand J Clin Lab Invest 2011;71(3):185-92.

- ▶ Ratlarda deneysel sepsis modeli→
- ▶ sepsis+sefepim, sepsis+cefepime+HBO, sepsis+cefepime+ozon tedavisi
- ▶ HBO ve OT akciğerdeki enflamasyonu ve hasarı azaltmıştır; OT>HBO

▶ *Yamanel L, et al. Ozone therapy and hyperbaric oxygen treatment in lung injury in septic rats. Int J Med Sci 2011;8(1):48-55.*

Tartışma

- ▶ OT ve HBO benzer şekilde oksidatif paramerlerin ve enflamatuvar sitokinlerin düşüşüne neden olmuşlardır.

Oğuz E, et al. Evaluation and comparison of the effects of hyperbaric oxygen and ozonized oxygen as adjuvant treatments in an experimental osteomyelitis model. J Surg. Res 2011;171(1):e61-8.

- ▶ Linezolid, Linezolid+HBO, Linezolid + OT
 - Linezolid+HBO

Özkan MT, et al. Is hyperbaric oxygen or ozone effective in experimental endocarditis? J Surg Res. 2016;202(1):66-70.

SONUÇ

- ▶ Vasküler greft enfeksiyonlarının önlenmesinde daptomisin tedavisinin, hiperbarik oksijen tedavisi ve ozon tedavisine oranla daha etkin olduğu gözlemlendi.
- ▶ Bununla birlikte daptomisin tedavisi ile birlikte uygulanan HBO veya ozon tedavisi ile vasküler greft enfeksiyonlarında tedavi başarısı daha yüksektir.

