

Fibrin Glue-Rifampisin Süspansiyonu Uygulaması ile Vasküler PTFE Greftlerinin Erken Staphylococcus Aureus İnfeksiyonuna Karşı Direncinin Arttırılması (Deneysel Çalışma)

Gökhan İPEK*, Harun ARBATLI*, Ergun DEMİRİSOY*, Kenan MİDİLLİ**, Sahure KÖKSAL**, Arif GÜMÜŞ***, Ömer IŞIK*, Cevat YAKUT*

* Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi, ** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, *** Marmara Üniversitesi Deneysel Çalışma ve Hayvan Laboratuvarı

ÖZET

Bu çalışmada, Staphylococcus aureus ile oluşturulan deneysel invivo enfeksiyona karşı vasküler politetrafloroetilen (PTFE) greftlerin direncini arttırmada Fibrin Glue-Rifampisin (FG-R) süspansiyonu uygulamasının etkinliği araştırıldı. Üç ayrı grupta toplam 30 adet Wistar Albino türü erkek sıçan kullanıldı. Grup I'de (kontrol grubu) (n:10), 5x5 mm. boyutta PTFE greft parçaları sıçanların sırt bölgesine, cilt altına yerleştirildi. Grup II'de (n:10) greft parçaları yerleştirilmeden önce FG-R süspansiyonu ile kaplandı. Grup III'de (n:10) ise konağa bağlı faktörleri ortadan kaldırmak amacıyla hem FG-R ile muamele edilen, hem de muamele edilmeyen greft parçaları aynı sıçanın sırtında iki ayrı bölgede cilt altına yerleştirildi. 1 ml. serum fizyolojik içinde süspansiyon edilen 1×10^6 koloni oluşturan birim (KOB)/ml S. aureus ATCC 25923 suşu tüm gruptaki sıçanlara intraperitoneal olarak verildi. Greftler 72 saat sonra çıkarıldı. I. gruptaki tüm greftlerde kültür pozitif bulunurken, II. gruptaki greftlerin tümünde kültür negatif (p=0.00001). III. grupta ise, FG-R süspansiyonu ile muamele edilen greftlerin hepsinde kültür negatif ve herhangi bir işlemeye tabi tutulmayan greftlerin dokuzunda kültür pozitif (p=0.00006). Sonuç olarak FG-R süspansiyonu uygulaması, S. aureus ile oluşturulan deneysel erken greft enfeksiyonuna karşı PTFE greftlerin direncini anlamlı derecede arttırdı.

Anahtar kelimeler: PTFE greftler, Greft enfeksiyonu, Profilaksi

SUMMARY

IMPROVING THE RESISTANCE OF VASCULAR PTFE GRAFTS AGAINST EARLY STAPHYLOCOCCUS AUREUS INFECTION BY THE APPLICATION OF FIBRIN GLUE-RIFAMPICIN SUSPENSION

The effectivity of Fibrin Glue-Rifampicin (FG-R) suspension application on the resistance of vascular polytetrafluoroethylene (PTFE) grafts to experimental invivo infection with Staphylococcus aureus ATCC 25923 was investigated in this study. A total of 30 Wistar Albino rats were used in three different groups. In group I (control group, n:10) 5x5 mm. of sterilized PTFE graft pieces were implanted subcutaneously to the back of the rats. In group II (n:10), graft pieces were sealed with FG-R suspension before implantation. In group III (n:10), both the FG-R treated and untreated graft pieces were implanted subcutaneously in two different places on the back of the rats to eliminate the factors depending on the host. 1×10^6 colony forming units (CFU)/ml of S. aureus type ATCC 25923 suspended in 1 ml. of saline solution was given intraperitoneally in all groups of rats. Grafts were removed after 72 hours. All of the grafts in group I were culture positive while all were culture negative in group II (p=0.00001). In group III, the grafts treated with FG-R suspension were all culture negative and 9 of the grafts that no procedure carried out were culture positive (p=0.00006). As a result, the application of FG-R suspension was significantly improved the resistance of PTFE grafts to experimental early graft infection with S. aureus.

Key words: PTFE grafts, Graft infections, Prophylaxis

GİRİŞ

Vasküler rekonstrüktif cerrahide en korkulan komplikasyonlardan birisi greft enfeksiyonudur. Cerrahi teknikte ve antibiotik prosedürlerindeki ilerlemelere rağmen geniş retrospektif serilerde greft enfeksiyonu oranı %1-%5 arasında değişmektedir (1-6). Bu oran çok yüksek görünmese de sonrasında gelişen ekstremité kaybı ve mortalite oranları %40'a kadar ulaşmaktadır (7,8). Erken görülen greft enfeksiyonlarının en sık sebebinin operasyon sırasındaki kontaminasyona bağlı olduğu varsayılmaktadır (3). Günümüzde bazan vasküler prostetik rekonstrüksiyonların gastrointestinal veya jinekolojik cerrahi gibi non-septik operasyonlarla eş zamanlı yapılma gerekliliğinin doğması enfeksiyona dirençli vasküler protezlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalara ivme kazandırmıştır. Bu amaçla yapılan bazı çalışmalar prostetik materyallerin antibiotiklerle muamele edilerek enfeksiyona dirençli bir hale getirilebildiğini göstermiştir. Antibiotiklerin süperfaktanlarla, sentetik ya da biyolojik yapıştırıcılarla, kollajenle greft yüzeyine tesbit edilmesi ; gümüş içeren antibiotiklerle muamele edilmesi ; greftin "preclotting" işleminde antibiotik eklenmesi ve antibiotik ile termofiksasyon bu yöntemlerden bazılarıdır (5,9-13). Erken vasküler greft enfeksiyonlarında en sık rastlanan mikroorganizma *S. aureus*'tur (11). Bu çalışmanın amacı FG-R süspansiyonu ile muamele edilen PTFE greftlerin *S. aureus* enfeksiyonuna karşı dirençli hale getirilip getirilemediğini araştırmaktır.

YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu çalışma Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Deneysel Çalışma ve Hayvan Laboratuvarı ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Çalışma sırasında Helsinki Deklerasyonu'nun deney hayvanları ile ilgili maddeleri-

ne uyuldu. Deney Hayvanı olarak 180-220 g ağırlığında Wistar Albino türü erkek sıçanlar kullanıldı. Bakteriyel enfeksiyon etkeni olarak rifampisine duyarlı olan *S. aureus* ATCC 25923 standart suşu kullanıldı.

Anestezi

Deneklerde 30 mg/kg Ketamin HCl, 0.04 mg/kg Fentanyl kombinasyonu intraperitoneal yoldan verilerek anestezi sağlandı.

Cerrahi teknik

Sıçanların sırt bölgesi traş edildikten sonra eter ve povidon iyod ile silindi. Steril delikli kompres ile cerrahi alan çevreden izole edildi. Yaklaşık 1 cm. boyunda transvers insizyon yapıldı ve künt disseksiyon ile cilt altında bir cep oluşturuldu. İnsizyon 3/0 polipropilen tek matris sütür ile kapatıldı.

FG-R süspansiyonunun hazırlanması

Fibrin glue, prospektüs bilgilerine uygun olarak hazırlandı. Rifampisin 60 mg/ml konsantrasyonda karışımında kullanılan kalsiyum klorür solüsyonu içerisine karıştırıldı.

İşlem sırasında yavaş katılaşmayı sağlamak için 4 IU/ml trombin solüsyonu içeren ön karışım solüsyonu kullanıldı.

Bakteri süspansiyonunun hazırlanması

S. aureus ATCC suşunun triptik soya buyyonundaki 18-24 saatlik kültürleri +4 °C de serum fizyolojik ile üç kez yıkandı. Son yıkama işleminden sonra bakteri yoğunluğu McFarland tüplerine göre ayarlandı. Sıçanlara verilen bakteri yoğunluğu koloni sayımı yapılarak kontrol edildi.

İstatistiksel değerlendirme

Elde edilen sonuçlar Fisher's Exact testi ile değerlendirildi. 'p' değerinin 0.05'den küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak an-

lamlı kabul edildi.

Denekler üç gruba ayrıldı.

- I. *grup* (kontrol grubu) (n:10): Herhangi bir işleme tabi tutulmayan 5x5 mm.boyutta steril PTFE greft parçası hazırlanan cebe yerleştirildi.
- II. *grup* (n:10): Bu gruptaki sıçanlarda FG-R süspansiyonu ile muamele edilmiş PTFE greft daha önce hazırlanan cilt altı cebine yerleştirildi.
- III. *grup* (n: 10): Bu grup konağa bağlı faktörleri ortadan kaldırmak amacıyla oluşturuldu. Sıçanların sırt bölgesinde birbirinden yaklaşık 3 cm. uzaklıkta iki ayrı cep oluşturuldu. Bir tarafa FG-R süspansiyonu ile muamele edilen, diğer tarafa ise herhangi bir işleme tabi tutulmayan steril PTFE greft parçaları yerleştirildi.

Tüm gruplarda greftler yerleştirildikten sonra, 1×10^6 KOB /ml. *S.aureus* içeren 1 ml.'lik süspansiyon intraperitoneal yolla verildi.

Greftler 72 saat sonra steril koşullarda çıkarıldı ve triptik soya buyyonuna alındı. 24-48 saat 37°C de enkübe edildi. Üreyen mikroorganizmaların, konvansiyonel yöntemlerle *S. aureus* oldukları tanımlandıktan sonra, standart ATCC 25923 suşu oldukları, Müller-Hinton agar besiyerinde disk difüzyon yöntemiyle araştırılan antimikrobial duyarlılık kılıplarının aynı olması ile doğrulandı.

SONUÇLAR

Kontrol grubundaki (grup I) sıçanlardan çıkarılan tüm greftlerde mikrobiyolojik incelemede verilen *S.aureus* suşunun ürediği tesbit edildi. Buna karşın II. grupta greftlerin hiçbirinde üreme olmadı. I. grup ve II. grup arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark tesbit edildi ($p=0.00001$). III. grupta ise FG-R süspansiyonu ile muamele edilen taraftaki greftlerden hiçbirinde üreme görül-

medi. Diğer taraftaki herhangi bir işleme tabi tutulmayan greftlerden birinde üreme olmazken, diğer tüm greftlerde aynı suşun ürediği saptandı. Bu farklılığın istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu tesbit edildi ($p=0.00006$). (Tablo 1).

TARTIŞMA

Erken vasküler greft enfeksiyonunun çoğu kez peroperatif kontaminasyona ya da yakın bölgedeki lenfatik sistemde tutulmuş bakterilere bağlı olduğu düşünülmektedir (14). Vasküler cerrahide profilaktik parenteral antibiotik kullanımının greft enfeksiyonunu anlamlı derecede azalttığı bildirilmiştir (15). Fakat oluşan bir greft enfeksiyonunu günümüzde intravenöz antibiyotiklerle tedavi edebilmek hemen hiç mümkün değildir. Vasküler greft enfeksiyonu bakterilerin çoğu kez greftin dış duvarına yerleşmeleri sonucunda gelişir (16). Bu durum greft enfeksiyonunun tedavisinde intravenöz antibiyotiklerin etkisiz kalmasını açıklamaktadır. Ayrıca greftin oluşturduğu yabancı cisim reaksiyonu, bu bölgeyi parenteral antibiyotiklerin etki alanı dışında bırakmaktadır.

Greft enfeksiyonunu önlemede topikal antibiyotik kullanılmasının ne derece yararlı olduğu o bölgedeki antibiyotik konsantrasyonunun hızla düşmesi nedeniyle halen tartışmalıdır (17,18). Topikal kullanılan antibiyotiklerin o bölgedeki konsantrasyonunu daha uzun süre yüksek tutabilen bir işlem mutlaka daha etkili olacaktır. Bir çok araştırmacı uzun süreli antibakteriyel etki elde etmek için antibiyotik bağlanmış vasküler protezler geliştirme çabasıdadır. Bu araştırmacıların kullandıkları metodların büyük bir bölümünde antibiyotikler çeşitli ajanlar yardımıyla greftin sadece dış yüzeyine değil iç yüzeyine de bağlanmaya çalışılmıştır. Bu durum greftin dokuya uyum sağlamasını bozabileceği gibi tromboza eğilimini de arttırabilir. Ayrıca bu bağlayıcı ajanlar tarafından greftin poröz yapısının bozulması neointima gelişimini de

olumsuz etkileyebilir. Bu problemler göz önünde tutularak çalışmamızda PTFE greftin bakteriyel enfeksiyon gelişen dış yüzeyini ve greft çevresindeki dokuyu FG-R süspansiyonu ile muamele etmek yöntemi benimsendi. Sudaki çözünürlüğünün az olması sebebiyle antibiyotik olarak rifampisin seçildi.

Strachan ve arkadaşları, protein kaplı dakron greftleri rifampisin solüsyonuna batırarak klinik olarak yüksek enfeksiyon riski olan hastalarda oldukça iyi sonuç aldıklarını bildirmişlerdir (19). Ancak bu yöntemi PTFE greftlerde uygulamak olanağı yoktur. PTFE greftlerin dakron greftler gibi absorpsiyon özelliği bulunmamaktadır. Çalışmamızda rifampisin, PTFE greftlerin dış yüzüne tutunabilmesi ve erken dönemde konsantrasyonunun düşmemesi için fibrin glue içinde süspanse edilerek uygulandı. Böylece PTFE greft üzerinde bir tabaka oluşturmaları sağlandı.

Fibrin glue, ilk kez Ney ve arkadaşları tarafından tobramisin ile süspanse edilerek PTFE greftlerin enfeksiyona karşı dirençli kılınması amacıyla kullanıldı (20). Köpeklerde yapılan bu çalışmada ek olarak intravenöz sefonisid tedavisi de uygulandı. 3×10^8 S. aureus ve 3×10^8 Escherichia coli ile direk kontamine edilen PTFE greft segmenti ile infrarenal aortaya interpozisyon yapıldı. Kontrol grubu ve sadece fibrin glue kullanılan gruplardaki deneklerin tümünde psödoanevrizma ya da rüptür görüldü. Fibrin glue-tobramisin süspansiyonu ile muamele edilen 4 denekte de klinik olarak enfeksiyon bulgusu saptanmadı, ancak zayıf da olsa kültürlerin üçünde S. aureus, birinde ise E. coli ürediği bildirildi. Sonuç olarak psödoanevrizma oluşumunun azaltılabildiği, belki de daha yüksek dozda antibiyotik kullanılmasının daha yararlı olabileceği üzerinde duruldu.

Çalışmamızda, rutin operasyonlar sırasında direk olarak çok yoğun bir bakteriyel kontaminasyon ile karşılaşma olasılığının düşük olduğu düşüncesi ile, doğrudan bakteriyel inokülasyon yerine intraperitoneal yolla bak-

teriyemi oluşturma modeli tercih edildi. Kontrol grubundaki greftlerin tümünde aynı S. aureus suşunun üremesi bu enfeksiyon modelinin ne derece etkin olduğunu göstermektedir. FG-R süspansiyonunun homojen bir şekilde greft yüzeyine ve çevreye dağıtılması için, süspansiyonun hazırlanmasında yavaş katılaşmayı sağlayan düşük trombin içeren solüsyon (4 IU/ml) kullanıldı. FG-R süspansiyonu uygulanan greftlerin hiçbirinde üreme olmaması ve üçüncü gruptaki deneklerdeki hiçbir işleme tabi tutulmayan greftlerde aynı suşla %90 oranında enfeksiyon görülmesi, rifampisin enfeksiyonu önlemede sistemik değil lokal etkisinin rol oynadığını desteklemektedir. FG-R süspansiyonunun ne kadar süre boyunca etkisini sürdürebileceği, üzerinde ayrıca çalışılması gereken bir konudur.

Sonuç olarak bu çalışmada fibrin glue-rifampisin süspansiyonu uygulamasının pratik oluşu ve S. aureus enfeksiyonuna karşı korunmada etkin oluşu bakımından klinik olarak uygulanabilecek bir metod olduğu kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Szilagyi DE, Smith RF, Elliott JP, Vrandecic MP: Infection in Arterial Reconstruction with Syntetic Grafts. Ann Surg. 176: 321-33; 1972.
2. Goldstone J, Moore WS: Infection in Vascular Prostheses: Clinical Manifestations and Surgical Management. Am J Surg. 128: 225-33; 1974.
3. Liekweg WJ, Greenfield LJ: Vascular Prosthetic Infections: Collected Experience and Results of Treatment. Surgery. 81: 335-42; 1977.
4. Bunt TJ: Synhetic Vascular Graft Infections: Surgery. 93: 733-46; 1983.
5. Lorentzen JE, Nielsen OM, Arendrup H, et al: Vascular Graft Infection: An Analysis of Sixty-two Graft Infections in 2411 Consecutively Implanted Synthetic Vascular Grafts. Surgery. 98:81-6; 1985.
6. O'Hara PJ, Hertzer NR, Beven EG, Krajewski LP: Surgical Management of Infected Abdominal Aortic Grafts: Review of a 25-years Experience. J Vasc Surg. 725-3; 1986.
7. Fry WJ: Vascular Prosthetic Infections. Surg Clin

- North Am. 52: 1419-24; 1972.
8. Bouhoutsos J, Chavatzos D, Martin P, et al: Infected Synthetic Arterial Grafts. Br J Surg. 61: 108-11; 1974.
 9. Bandyk DF, Bergamini TM, Kinney EV, Seabrook GR, Towne JB. In Situ Replacement of Vascular Prostheses Infected by Bacterial Biofilms. J Vasc Surg. 13: 575-83; 1991.
 10. Robinson JA, Johansen K: Aortic Sepsis: Is There a Role for In Situ Graft Reconstruction? J Vasc Surg. 13: 677-84; 1991.
 11. Powell TW, Burnham SJ, Johnson G: A Passive System Using Rifampin to Create an Infection-Resistant Vascular Prosthesis. Surgery. 94: 765-9; 1983.
 12. Benvenisty AI, Tannenbaum G, Ahlborn TN, et al: Control of Prosthetic Bacterial infection: Evaluation of an Easily Incorporated Tightly Bound Silver Antibiotic PTFE Graft. J Surg Res. 44: 1-7; 1988.
 13. Henry R, Harvey RA, Greco RS. Antibiotic Bonding to Vascular Prosthesis. J Thorac Surg. 82: 7272-7; 1981.
 14. Bandyk DF, Bergamini TM: Prosthetic graft infections. Rutherford RB (ed) Vascular Surgery, Philadelphia WB Saunders Company; pp: 588-604; 1995.
 15. Pitt HA, Postier RG, MacGowan WL, et al: Prophylactic Antibiotics in Vascular Surgery. Ann. Surg. 192: 356-64; 1980.
 16. Bandyk DF: Diagnosis and Treatment of Biomaterial Associated Vascular Infections. Infect Dis Clin North Amer. 6:719-29; 1992.
 17. Moore WS, Chvapil M, Seifert G, Keown K: Development of an Infection-Resistant Vascular Prosthesis. Arch Surg. 116: 1403-7; 1981.
 18. McDougall EG, Burnham SJ, Johnson G: Rifampicin Protection Against Experimental Graft Sepsis. J Vasc Surg. 4: 5-7; 1986.
 19. Strachan CJL, Newsom SWB, Ashton TR: The Clinical Use of an Antibiotic-Bonded Graft. Eur J Vasc Surg. 5: 627-32; 1991.
 20. Ney AL, Kelly PH, Tsukayama DT, Buehrlich MP: Fibrin Glue-Antibiotic Suspension in the Prevention of Prosthetic Graft Infection. J Trauma. 30:1000-6; 1990.

YAZIŞMA ADRESİ

Dr. Gökhan İPEK
Koşuyolu Kalp ve
Araştırma Hastanesi
Koşuyolu-İstanbul