

TC
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**LEVOBUPİVAKAİNİN
STAFİLOCOCCUS AUREUS ÜZERİNE
ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DR. GÜLAY AKINCI
UZMANLIK TEZİ
İZMİR 2011

TC
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

LEVOBUPİVAKAİNİN
***STAFİLOCOCCUS AUREUS* ÜZERİNE**
ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. GÜLAY AKINCI

Danışman Öğretim Üyesi: Yard. Doç. Dr. Yüksel Erkin

<u>İÇİNDEKİLER</u>	<u>sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	i
TABLO LİSTESİ	ii
RESİM LİSTESİ	iii
KISALTMALAR	iv
ÖZET	v
SUMMARY	vii
GİRİŞ	1
AMAÇ	3
GENEL BİLGİLER	4
MATERYAL VE METOT	15
BULGULAR	18
TARTIŞMA	25
SONUÇ VE ÖNERİLER	31
KAYNAKLAR	32
Ek 1: ETİK KURUL İZİN BELGESİ	37

TEŞEKKÜR

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim dalında eğitim hayatıma başladığımdan beri benden desteklerini esirgemeyen, Anesteziyoloji ve Reanimasyon'un temel ilkelerini öğrendiğim hocalarım Sayın Prof. Dr. Zahide ELAR, Sayın Prof. Dr. Emel SAĞIROĞLU, Sayın Prof. Dr. Ali GÜNERLİ, Sayın Prof. Dr. Atalay ARKAN, Sayın Prof. Dr. Erol GÖKEL, Sayın Prof. Dr. Semih KÜÇÜKGÜÇLÜ, Sayın Prof. Dr. Sermin ÖZTEKİN, Sayın Prof. Dr. Necati GÖKMEN, Sayın Prof. Dr. Bahar KUVAKI BALKAN, Sayın Prof. Dr. Deniz ÖZZEYBEK'e

Tezimin planlanması ve yürütülmesi aşamasında deneyimlerinden yararlandığım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Yüksel ERKİN'e, yoğun çalışma dönemimin her aşamasında yardım ve desteklerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Aydın TAŞDÖĞEN'e, Dr. Mahir KUYUMCU'ya

Ayrıca bu tezin yapılmasında değerli bilgi birikimlerini benimle paylaşan ve D.E.Ü.T.F. Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Asistan Eğitim Laboratuvarının tüm imkanlarını bana sunan Sayın Prof. Dr. Zeynep GÜLAY ve Dr. Meral BİÇMEN'e

Tezimin elektron mikroskopik görüntülemelerinde fiksasyon aşamasında D.E.Ü.T.F. Biomekanik AD'da görevli Sayın Didem Venüs YILDIZ ve Sayın Diler ERDEMLİ'ye, görüntüleme aşamasında yardımlarını esirgemeyen İzmir İleri teknoloji Enstitüsü, Malzeme Araştırma Merkezi'nde çalışan tüm arkadaşlara

Tezimin deneysel aşamalarındaki sterilizasyon işlemleri için desteklerini esirgemeyen D.E.Ü.T.F. sterilizasyon bölümünde çalışan tüm arkadaşlarıma,

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalıştığım tüm öğretim üyelerime, uzmanlarıma ve asistan arkadaşlarıma, anestezi teknikerlerine, merkezi ameliyathane, gündüz hastanesi, poliklinik, yoğun bakım ünitesi, ağrı servisi ve diğer cerrahi bölümlerde görev alan çalışma arkadaşlarıma,

Tıp fakültesine girişimle başlayan bu zorlu süreçte ve hayatımın her aşamasında hep yanımda olup başımın dik durmasını sağlayan canım aileme,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Gülay AKINCI

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. Erişkinlerde epidural kateter uygulamalarında görülen komplikasyonların sıklığı	5
Tablo 2. Klinikte sık kullanılan filtreler ve özellikleri	6
Tablo 3. Hasta kontrolü epidural analjezide sık kullanılan ilaçlar ve dozları	13
Tablo 4. SEM'unun özellikleri	14
Tablo 5. Tüm gruplarda filtre giriş, çıkış ve şişelerden elde edilen koloni sayımları (ortalama±sd) ve <i>p</i> değerleri	18
Tablo 6. Grup 1 ile Grup 4 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan bakteri sayımları (ortalama±sd) ve <i>p</i> değeri	20
Tablo 7. Grup 2 ile Grup 4 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan bakteri sayımları (ortalama±sd) ve <i>p</i> değeri	20
Tablo 8. Grup 3 ile Grup 4 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan bakteri sayımları (ortalama±sd) ve <i>p</i> değeri	21
Tablo 9. Grup 1 ile Grup 2 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan koloni sayımları (ortalama±sd) ve <i>p</i> değeri	21
Tablo 10. Grup 1 ile Grup 3 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan koloni sayımları (ortalama±sd) ve <i>p</i> değeri	22
Tablo 11. Grup 1, Grup 2 ile Grup 3 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan bakteri sayımları (ortalama±sd), <i>p</i> değeri	22

RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1. Deney düzeneği	16
Resim 2. Filtrenin girişinden alınan örnekteki <i>Staphylococcus aureus</i> kolonileri	19
Resim 3. Filtrenin çıkışından ve şişe içerisinden alınan örneğin kanlı agardaki görüntüsü (üreme yok)	19
Resim 4. Grup 1 deki <i>Staphylococcus aureus</i> 'un filtre girişindeki SEM görüntüsü X 5.000 Büyütme	23
Resim 5. Grup 4 teki <i>Staphylococcus aureus</i> 'un filtre girişindeki SEM görüntüsü X 5.000 Büyütme	24
Resim 6. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un filtre çıkışındaki SEM görüntüsü X 5.000 Büyütme	24

KISALTMALAR

HKEA/A	Hasta Kontrollü Epidural Analjezi/Anestezi
EA/A	Epidural Anestezi / Analjezi
HKEA	Hasta Kontrollü Epidural Analjezi
KSEA/A	Kombine Spinal Epidural Analjezi/ Anestezi
SEM	<i>Scanning Electron Microscobe</i>
SIM	<i>Scanning Ion Microscope</i>
SAM	<i>Scanning Acoustical Microscope</i>
SLM	<i>Scanning Light Microscope</i>
McF	<i>Mc Farland</i>
Cfu	<i>Colony Forming Unit</i>
Kv	Kilovolt
E.Fecalis	<i>Enterekokus Fecalis</i>
S.Aureus	<i>Staphylococcus Aureus</i>
Strep. Epidermidis	<i>Streptococcus Epidermidis</i>
E. Coli	<i>Escherichia coli</i>
P. Aeruginosa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Strep. Pneumonia	<i>Streptococcus pneumonia</i>
Strep. pyogenes	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Strep. fecalis	<i>Streptococcus fecalis</i>
B. cereus	<i>Bacillus cereus</i>
C. albicans	<i>Candida albicans</i>
PPS	<i>Provider Pump Set</i>
SPSS	<i>Statistical Package for Social Scienses</i>

ÖZET

LEVOBUPİVAKAİNİN STAFİLOCOCCUS AUREUS ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Gülay Akıncı, DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, İzmir/Türkiye

Lokal anesteziklerin antibakteriyel etkisi katetere bağlı enfeksiyon oluşumunun önlenmesinde önemli bariyerlerden biridir.

Bu çalışmada; levobupivakainin hastanemizde postoperatif ağrı tedavisi (%0.125) ve ağrısız doğumda kullandığımız (%0.0625) konsantrasyonlarının hasta kontrollü epidural analjezi (HKEA) modelinde *Stafilococcus aureus* üzerine antibakteriyel etkinliğinin deneysel olarak araştırılması ve “*Scanning Electron Microscope* (SEM) görüntüleme Tekniği” ile kanıtlanması amaçlandı.

Çalışma solüsyonları 100 mL olacak şekilde hazırlandı. Grup 1 (n=10) : % 0,125 levobupivakain + 4 mL fentanil (200 mcg) Grup 2 (n=10): % 0,0625 levobupivakain + 4 mL fentanil (200 mcg), Grup 3 (n=10): 4 mL fentanil (200 mcg) , Grup 4 (n =10) : 99 mL serum fizyolojik içerecek şekilde hazırlanarak tüm gruplara 1 mL S. aureus 0.5 McF (1.5×10^8 cfu/mL) eklendi. Tüm gruplardaki örnekler Portex marka bakteri filtresinden (n=40) Hasta Kontrollü Analjezi (HKA) cihazı ile 24 saat boyunca 4 mL/sa infüzyon hızında geçirilerek steril şişelerde toplandı. Şişelerden (n=40), filtre giriş (n=40) ve çıkışlarından (n=40) alınan örnekler *Kanlı Agar*'a ekilerek bakteri koloni sayımları yapıldı. Sonuçlar *SPSS 15.0* programı kullanılarak gruplar arasındaki farkı anlamak için *Kruskal-Wallis*, iki grup arasındaki farkı anlamak için *Mann-Whitney-U* testi ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışmamızın sonuçlarına göre tüm gruplarda verilen *Staphylococcus aureus* koloni sayılarını anlamlı olarak azaldığı tespit edildi ($p < 0.05$). Levobupivacain konsantrasyonu arttıkça koloni sayısının belirgin olarak azaldığı gözlemlendi ($p < 0.05$). Bakteri filtresinin *Staphylococcus aureus*'u tutma kapasitesinin %100 olduğu saptandı. Bu bulgularımız SEM görüntüleme tekniği ile kanıtlandı.

Bu sonuçlar doğrultusunda, HKEA'de kullanılan levobupivacainin *Staphylococcus aureus* bakterisine antibakteriyel etkisinin olduğu; fentanilin bu etkiye

katkıda bulunduğu ve enfeksiyon riskini azaltan ek bir bariyer olarak düşünölebileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Levobupivakain, Antibakteriyel etki, Hasta Kontrollü Analjezi cihazı, *Staphylococcus aureus*, *Scanning Electron Microscope* (SEM)

SUMMARY

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL EFFECT OF LEVOBUPIVACAINE ON *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Dr. Gülay AKINCI, DUTF Anesthesiology and Reanimation, Izmir/Turkey

The antibacterial effect of local anesthetics is one of the important barriers on preventing catheter related infection occurrence.

In this study; it is aimed to experimentally investigate the antibacterial effect of levobupivacaine on *Staphylococcus aureus* in patient controlled analgesia model at concentrations used in postoperative pain treatment (0,125 %) and painless labour (0,0625 %) in our hospital and to evidence by “*Scanning Electron Microscope (SEM) imaging technique*”.

Study solutions prepared so as to 100 mL. After preparing groups as Group 1 (n=10): 0,125 % levobupivacaine + 4 mL fentanyl (200 mcg), Group 2 (n=10): 0,0625 % levobupivacaine + 4 mL fentanyl (200 mcg), Group 3 (n=10): 4 mL fentanyl (200 mcg) and Group 4 (n=10): 99 mL saline; 1 mL of *Staphylococcus aureus* 0,5 McF (1.5×10^8 cfu/mL) was added to all groups. Samples in all groups were infused at 4 mL/h infusion rate for 24 hours by Patient Controlled Analgesia (PCA) device through Portex brand bacterial filter (n=40) and collected in sterile bottles. Specimens collected from bottles (n=40), filter entrances (n=40) and filter exits (n=40) cultivated in *Blood Agar* and colonies were counted. Results were statistically compared using SPSS 15.0 program to determine the difference among groups with Kruskal-Wallis, the difference between two groups with Mann Whitney-U test and $p < 0.05$ was statistically significant.

According to results of our study all groups were significantly reduced *Staphylococcus aureus* colony counts ($p < 0.05$). It is observed that colony counts were decreased as much as levobupivacaine concentration was increased ($p < 0.05$). The bacterial withold capacity of *Staphylococcus aureus* was determined as 100 %. Our findings were evidenced by SEM imaging technique.

Towards these results, it is concluded that levobupivacaine used in PCEA has antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* bacteria, fentanyl contributes this effect and it can be considered as an extra barrier to reduce infection risk.

Keywords: Levobupivacaine, Antibacterial effect, PCA device, *Staphylococcus aureus*, *Scanning Electron Microscope* (SEM)

GİRİŞ

Rejyonal anestezi, ilk kez 1895’de Cathelin tarafından sakral bölgede, 1921’de de Pages tarafından lumbal bölgede yapılmıştır (1). Touhy’nin 1945 yılında spinal anestezi için geliştirdiği kateter tekniğinin Curbelo tarafından 1949 yılında epidural blok sırasında kullanılması epidural blokta önemli bir aşamadır (2). Günümüzde, epidural aralığa kateter yerleştirilmesi (3), kombine spinal epidural uygulamalarıyla akut, kronik ağrı sağaltımında ve anestezi uygulamalarında giderek yaygınlaşmıştır.

Epidural ve kombine spinal epidural girişimlerin bilinen yararları yanında birçok komplikasyonları da vardır (4-6). Bu komplikasyonlar arasında enfeksiyon görülme oranının % 0.5 - 5.4 arasında olduğu bildirilmiştir (3,7). Bakteriler arasında deri florası üyeleri olan gram pozitif koklar (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* vb) ve hastaneye yatan hastalarda geçici deri kolonizasyonu yapan *Pseudomonas aeruginosa* epidural katetere bağlı gelişen enfeksiyonlarda en sık izole edilen etkenlerdir (8,9). Enfeksiyonların önlenmesinde sterilizasyona, asepsi-antisepsi kurallarına dikkat edilmesi, uygulanan kateterlere filtre takılması önerilmiştir (10-12). Bu amaçla değişik tipte kateterler ve filtreler kullanıma girmiştir (13).

Klinikte Epidural Anestezi/Analjezi (EA/A) uygulamalarında genellikle bir opioid ile bir lokal anestetik kombine edilmektedir. Lokal anestetiklerin bilinen antibakteriyel etkisi de enfeksiyon oluşumunun önlenmesinde önemli bariyerlerden biridir (14).

Bupivacain, ropivacain, lidokain, mepivacain gibi lokal anestetiklerin antibakteriyel etkinliği konusundaki çalışmalarda; antibakteriyel etkilerinin olup olmadığı ve minimum antibakteriyel konsantrasyonları araştırılmıştır (15-18). Levobupivacainin antibakteriyel etkinliğini araştıran 3 çalışma vardır (14,19,20). Deneysel ortamda yapılan bu çalışmalarda bakteriler ile farklı konsantrasyonlardaki lokal anestetik karışımlarının besiyerlerine ekilmesi ile üreme olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır. Hodson ve ark. (14), levobupivacainin % 0.5 konsantrasyonunun *Enterococcus faecalis* (E. Faecalis), *Staphylococcus aureus* (S. Aureus), *Streptococcus epidermidis* (Strep. Epiderimidis) üzerine antibakteriyel etkinliğinin olduğunu bildirirken, Coghlan ve ark. (19), bu konsantrasyonun bu bakterilere etkisiz olduğunu,

sadece *Escherichia coli* (E. Coli) üzerine antibakteriyel etkinliğinin olduğunu bildirmiştir. Guillier ve ark. (20), sufentanil ile kombine ettikleri levobupivakanin farklı konsantrasyonlarının S. Aureus, Strep. Epidermidis ve E. Coli üzerine antibakteriyel etkisinin olduğunu ve levobupivakanin farklı konsantrasyonlarının 24 saat boyunca bakteri gelişme riski olmaksızın rejyonel anestezide kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Bu üç çalışma deneysel ortamda mikroorganizmaların levobupivakain ile 18-24 saat arasında enkübasyonu sonrası ekim yerinde üretilmesi ile yapılmıştır. Yaptığımız literatür taramalarında levobupivakanin klinik kullanımına uyarlanmış bir düzenek ile antibakteriyel etkinliğini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır.

AMAC

Levobupivakainin hastanemizde postoperatif ağrı tedavisi (%0.125) ve ağrısız doğumda kullandığımız (%0.0625) iki farklı konsantrasyonunun hasta kontrollü epidural analjezi modelinde *stafilococcus aureus* üzerine antibakteriyel etkinliğinin deneysel olarak karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

GENEL BİLGİLER

Epidural Anestezi/Analjezi (EA/A), spinal sinirlerin epidural aralıkta anestetize edilmesiyle oluşturulan anestezi/analjezi yöntemidir. EA/A hastanın gereksinimine uygun olarak epidural iğne aracılığıyla tek doz, epidural kateter yoluyla sürekli olarak uygulanabilir (21).

Epidural ve kombine spinal epidural girişimlerin bilinen yararları yanında birçok komplikasyonları da vardır (4-6).

EPİDURAL ANESTEZİNİN KOMPLİKASYONLARI (4-6)

1. Yanlışlıkla dura delinmesi ve total spinal blok
2. Hipotansiyon ve bradikardi
3. Masif subdural yayılım
4. Epidural venlere girilmesi
5. Epidural hematom
6. Anterior spinal arter sendromu (Adamkiewicz sendromu)
7. Epidural aralıkta kateterin kopması ya da düğümlenmesi
8. Epidural aralığa yanlış ilaç ya da nörolitik solusyonların verilmesi
9. Dura ponksiyonuna bağlı baş ağrısı
10. Sırt ve bel ağrısı
11. Mesane disfonksiyonu
12. Nörolojik sekeller
13. Epidural apse

Değişik kaynaklarda EA/A'de karşılaşılan enfeksiyon oranları ile ilgili çok farklı sonuçlar yayınlanmıştır (4,6,10,22-25). EA/A'de enfeksiyon oranının 1/10.000 altında olduğu bildirilmiştir (4). Epidural kateterin kalış süresi göz önüne alındığında; kısa süreli epidural analjezi uygulamalarında enfeksiyon insidansı 1/505000 (6,22), uzun süreli epidural kateterizasyonlarda ise 1/1000-1/2000 arasında değişmektedir (4). Doğum sonrası analjezide enfeksiyon oranı 10.000 hasta uygulaması başına 1.96 iken, kronik ağrı tedavisinde bu oran % 4.8-27 arasında değişmektedir (3,10,23). Erişkinlerde ve çocuklarda yapılan çalışmalarda kısa süreli (24-72 saat) uygulanan epidural infüzyonlarda

kontaminasyon ve ciddi enfeksiyon oranları değişkindir. Çocuklarda yüzeysel enfeksiyon % 41, kateter kolonizasyonu % 35 olarak bildirilmektedir (24,25).

EA/A girişimlerinin ve yandaş hastalıkların artması nedeniyle bakteriyel kontaminasyon oranı artmakta (% 4 - 53) ve buna bağlı olarak enfeksiyon oranlarının arttığı rapor edilmektedir (4,6,22,23,25). Madde kötüye kullanımı ve immün sistem baskılanmasının söz konusu olduğu kişilerde ise enfeksiyon insidansının 0.2-2/10.000 arasında değiştığı bildirilmiştir (6,22).

Epidural kateter uygulamalarında erişkinlerde görülen komplikasyonlar ve görülme sıklığı Tablo 1’de gösterilmiştir (4,6,22,23,25-28).

Tablo 1. Erişkinlerde epidural kateter uygulamalarında görülen komplikasyonların sıklığı

KOMPLİKASYON	GÖRÜLME SIKLIĞI
Epidural Hematom	1/3.100-1/150.000
Yüzeysel Enfeksiyon	% 4-14
Ciddi enfeksiyon; Menenjit, Abse	1/10.000
Kateter kolonizasyonu	%20-35
Kardiyotoksisite, Hipotansiyon, Motor blok	%5.7-7.4
Kateterin yer değiştirmesi (spinal bölgeye)	%0.07-0.15

Çeşitli yayınlarda farklı sonuçlar bildirilmesine rağmen epidural kateterlerde enfeksiyon görülme oranı ortalama %5.4’tür (5,29,30).

ENFEKSİYONU KOLAYLAŞTIRAN FAKTÖRLER (30-33);

A- Hastaya ait faktörler

- 1.Hastanın yaşı (>65 yaş; yaş <2 y)
- 2.Kronik hastalık varlığı
- 3.Uygulama bölgesinin anatomik durumu
- 4.Başka bir enfeksiyon odağının varlığı

B- Uygulayıcıya ait faktörler

- 1.Asepsi kurallarına uyulmaması
- 2.Uygulama yapılacak yerin cilt temizliğinin tam yapılmaması
- 3.Travmatik uygulama

C- Katetere ait faktörler

- 1.Bakteri filtresinin olmaması
- 2.Bakteri filtresinin özellikleri (membran yüzey alanı ve yapıldığı materyal)
- 3.Kateterin kalış süresi

D- Etken mikroorganizmaya ait faktörler

- 1.Bakteri filtresine tutunma kapasitesi
- 2.Dezenfektan ve antiseptiklere direnç durumu
- 3.Florada yer alıp almaması (kolonizasyonu)

Enfeksiyonların önlenmesinde, uygulanan katetere filtre takılması önerilmektedir (10-12). Bu amaçla değişik tipte filtreler kullanıma girmiştir. Klinikte sık kullanılan filtreler ve özellikleri Tablo 2’de verilmiştir (34).

Tablo 2. Klinikte sık kullanılan filtreler ve özellikleri

TİCARİ İSİM	YÜZEY ALANI	POR OLUŞTURAN MATERYEL	FİLTRE MATERYALİ
PORTEX®	4.91 cm ²	Yuvarlak	Polivinilklorid
EPİFİX	5.0 cm ²	Yuvarlak	Polivinilklorid
PERİFİX- BRAUN®	4.0 cm ²	Yuvarlak-lif	Polyamid
RÜSCH®	5.0 cm ²	Lif	Sellüloz asetat

Bakterilerin filtre yolu ile tutulabileceğini bildiren ilk yayın 1951 yılında Klieneberger (7) tarafından yapılmıştır. 1972 yılında intravenöz infüzyonlara bağlı cam partikül embolilerini önlemek için filtre kullanılması gerektiğini savunmuş ve filtrelerin rutin klinik pratiğe kazandırılmasını sağlamışlardır (35). Takip eden yıllarda filtreler cam partikül embolilerini önlemek amacıyla çok bakteriyel geçişi engellemek amacıyla kullanılmıştır (36).

İlk yıllarda en önemli fark por açıklıkları ve yüzey alanı iken günümüzde yapıldıkları materyel ve lateks içerip içermedikleri önem kazanmıştır (5,32). Günümüzdeki

epidural kateter filtreleri 0.2 µm' lik por açıklına sahip, 7 bar basınca dayanıklı ve toplam hacmi 0.45 ml olmalıdır (37).

Günümüzde kullanılan kateter tiplerine göre enfeksiyon ve kolonizasyon oranları arasında belirgin bir fark yoktur (5,32). EA/A' de kullanılan kateterlerin veya enjektörlerin kontaminasyon insidansı % 5, spinal ve epidural iğnelerin bakteriyel kolonizasyon insidansı ise % 18 dir (38,39). Epidural katetere bağlı oluşan enfeksiyonların morbiditesi % 25-75 arasında değişirken, mortalitesi hastanın eşlik eden risk faktörüne göre % 0.5 ile % 55 arasında değişkenlik göstermektedir (23,32,33).

Epidural kateter filtresi kullanımına rağmen enfeksiyon gelişmesi mümkün olabilmektedir. Enfeksiyon gelişimi iki farklı nedene bağlı olabilir (5,28):

1-Filtrelerin bakteri tutma kapasiteleri tahmin edilenin altındadır

2-Filtre değişiminde kateter kontaminasyonu olmaktadır

Bakteri filtrelerinin rutin kullanıma girişinden beri, filtrenin etkinliği, filtre kullanımının gerekliliği ve uzun süreli kateteri olan hastalarda filtrenin belirli aralıklarla değiştirilmesi tartışılan konulardandır (4,10-12,24,32,40,41).

Bakteri filtrelerinin geçirgenliğini in vitro olarak araştırılan çalışmalarda kateter filtrelerinin bakterileri tutmada etkin olduğunu saptanmıştır (5,10-12).

Uzun süreli epidural kateterizasyonda bakteri filtresinin değişim periyodu ile enfeksiyon gelişimi arasında ilişki olup olmadığına bakıldığında; filtre değişiminin kontaminasyonu arttırdığı, yoğun bakımda tedavi gören ve postoperatif analjezi için epidural kateter kullanılan hastalarda filtrelerin mutlak kullanılması gerektiği, ancak filtre değişiminin gerekli olmadığı bildirilmektedir. (5,40).

Kısa süreli işlemlerde, postoperatif analjezi amacıyla epidural kateter uygulanan çocuklarda filtreler enfeksiyon gelişimini önlemeye yönelik ek bir bariyer olarak kullanılabilir (24).

Kronik ağrı tedavisinde uzun süreli epidural infüzyon uygulamaları nedeniyle (terminal dönem kanser ve AIDS tanılılarıyla iki aydan uzun süre epidural kateter ile analjezi uygulanan) katetere bağlı ciddi komplikasyonlar bildirilmekte, asepsi antisepsiye uyulmasına rağmen bakteriyel kolonizasyon gelişmesi nedeniyle bu komplikasyonların arttığı ve bakteri filtrelerinin bu hasta gruplarında mutlaka kullanılması gerektiği savunulmaktadır (32,41).

LOKAL ANESTEZİKLER

Tüm sinir liflerinde nöronlarda ve diğer uyarılabilir dokularda depolarizasyon dalgasının oluşumunu ve yayılımını engelleyerek bu yapılarda geçici duyu, motor ve otonomik fonksiyon kaybına yol açan ilaçlara lokal anestezi denir.

Uyarılabilir hücre membranlarında Na^+ kanallarının açılmasını engelleyerek hücre içine yönelik hızlı Na^+ akımını doza bağlı bir şekilde azaltarak etkilerini oluştururlar (42).

Lokal Anesteziklerin Antibakteriyel Etkisi

Lokal anesteziklerin antibakteriyel etkili oldukları ilk olarak 1909 yılında rapor edilmiş, bu etkinin klinik önemi ancak 50 yıl sonra anlaşılabilmiştir (43). EA/A ile ilişkili enfeksiyonlar oldukça nadirdir. Lokal anesteziklerin antibakteriyel etkileri olmasının bunda rol oynadığı düşünülmektedir (14). Bu antibakteriyel etkiden; büyümenin inhibisyonu, yaşayan hücre sayısında azalma, protoplastların yıkımı, geçirgenlikte değişiklik, ultra yapısal değişiklikler ve membran bağımlı enzimatik aktivitenin inhibisyonu sorumlu tutulmaktadır (44).

Bu antibakteriyel etki birçok mekanizmayla açıklanmaya çalışılmıştır.

- Lokal anestezikler prokaryot ve ökaryot hücrelerde sitoplazmik membran ile etkileşerek membran fonksiyonlarını değiştirebilirler (45).
- Bazı lokal anestezikler, gram pozitif bakteri hücrelerindeki membran bağımlı enzimatik aktiviteleri inhibe ederek; membranlarda değişikliklere neden olabilirler (44).
- Antibakteriyel etki, lokal anestezinin hücre duvarı üzerine olan etkisinden kaynaklanabilmektedir. Lidokainin antibakteriyel etkisi, gram negatif bakterilerin dış membran geçirgenliğini etkilemesi, sitoplazmik membranda depolarizasyon yapmasıyla açıklanabilmektedir (46).
- Lokal anestezikler hücre yüzeyi makromoleküllerini ve sellüler membranları etkileyerek de antibakteriyel etki oluşturabilirler (47).
- Lokal anestezikler fagositoz ve lökosit metabolizmasını inhibe ederek antibakteriyel etki meydana getirebilirler (48).

Lokal anesteziğin antibakteriyel etkinliği ile ilgili çeşitli görüşler mevcuttur (14-20).

Lidokain %2, %1.5 ve %1 ve bupivakain %0.5, %0.25 ve %0.125 konsantrasyonlarda, *S. Aureus* bakterisinin üremesini belirgin olarak azaltmaktadır. Lidokain ve bupivakainin konsantrasyonu arttıkça agardaki *S. Aureus* koloni sayısının azalması; antibakteriyel etkinliğin konsantrasyonla ilişkili olduğunu kanıtlamaktadır (16).

Metisilin rezistans *S. Aureus* bakterisinin %0.125, %0.25, ve %0.5 bupivakain ve %2.0 mepivakain ile 37⁰C'de 24 saat agardaki kültürlerinde, %0.5 bupivakain bakteri koloni sayısını %99 azaltmaktadır. Antibakteriyel etkinlik %0.125 bupivakain ve %2.0 mepivakainde en az saptanmıştır (17).

Farklı konsantrasyonlardaki ropivakain, bupivakain, lidokain ve prilokainin *E. Coli*, *S. Aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. Aeruginosa*) ve *Candida albicans* (*C. Albicans*) üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin oda ısısında 0, 30, 60, 120, 240 dk maruz bırakılıp, kanlı agarda 35⁰C de 18-24 saat enkübasyon sonrası; ropivakainin test edilen hiçbir mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkisi olmadığı, bupivakainin zayıf etki gösterdiği, lidokain ve prilokainin diğer iki lokal anesteziğe oranla daha güçlü antibakteriyel etkinliğinin olduğunu saptanmıştır (18).

Levobupivacain ve bupivacainin % 0.125, % 0.25 ve % 0.5 konsantrasyonlarının *E.Fecalis*, *S.Aureus*, *Strep. Epidermidis* üzerine antibakteriyel etkinliğini 24 saat 37⁰C de enkübasyon sonrası, % 0.5 bupivakain ve levobupivacain konsantrasyonlarında bakteri üremesi gözlenmemektedir. % 0.25 levobupivacain konsantrasyonunda *S. Aureus* ve *Strep. Epidermidis* kolonilerinin sayısında anlamlı olarak azalma görülmesi nedeni ile antibakteriyel etkinlik oluşturduğu düşünülmektedir. Minimum antibakteriyel konsantrasyonun bupivakain için % 0.25, levobupivacain için ise % 0.5 olduğu belirtilmiştir (14).

Bupivacain % 0.06, %0.125, %0.2, %0.5 konsantrasyonlarda *S. Aureus*, *E. Fecalis* ve *E. Coli* için antibakteriyel aktivite gösterirken, *P. Aureginosa*nın üremesini inhibe edemez. Ropivakainin % 1 lik konsantrasyonu *E. Coli*nin üremesini inhibe ederken *S. Aureus*, *E. Fecalis* üzerine antibakteriyel etkinliği yoktur. Levobupivacain % 0.5 konsantrasyonu *E. Coli*nin üremesini inhibe ederken, *S. Aureus*, *E. Fecalis* bakterilerine karşı etkisizdir (19).

Rejyonal anestezi uygulamaları sonrası karşılaşılan enfeksiyonlar da en sık patojen olarak rastlanılan S. Aureus, Strep. Epidermidis ve E. Coli için aseptik koşullarda 1.4-5 mg/mL konsantrasyonlardaki levobupivakainin, 0.5 mcg/mL sufentanil ile kombine edilerek, doğum analjezisinde veya postoperatif rejyonal anesteziye, oda ısısında 24 saat kullanılmasının, bakteriyel üreme açısından risk oluşturmadığı belirtilmiştir (20).

Levobupivakain (Chirocaine ®)

Levobupivakain, bupivakain hidroklorid'in saf S (-) enantiomeri olan uzun etkili aminoamid yapıda bir lokal anesteziktir. Levobupivakain duyu-motor blok ayırımını iyi gösterir ve epinefrinle etkinin uzaltılmasına ihtiyaç göstermez.

Kimyasal adı S-1-butyl-N-(2-6 dimetilfenil) piperidin-2-karboksamid. Molekül formülü; C₁₈H₂₈N₂O (49).

Solüsyonun pH'sı 4.0-6.5, molekül ağırlığı 324.9'dur. Levobupivakain yüksek oranda plazma proteinlerine bağlanır (% 97). Dağılım volümü 66.9 L, ortalama yarılanma ömrü 1.423 saattir.

Levobupivakainin ana metaboliti olan 3-hidroksi levobupivakain, glukuronik asid ve sülfat ester konjugatlara çevrilir ve idrarla atılır. Böbrek yetmezliğinde levobupivakain plazmada birikmediği halde idrarla atılan metabolitleri birikebilir. Hepatik disfonksiyonlu hastalarda eliminasyon uzar (50).

Levobupivakain etki başlangıcı epidural yoldan verildiğinde 15 dk'dan kısa olan uzun etkili bir lokal anesteziktir. Etki süresi doz bağımlıdır ve anestezi tekniklerine göre farklılık gösterir (49,50)

Toksosite durumlarında kardiyak Na⁺ ve K⁺ kanallarının blokajı, depolarizasyon hızını maksimal düzeyde azaltır, atriyoventriküler iletimi ve QRS interval süresini uzatır. Bu etkisi göz önüne alındığında levobupivakaininin daha az toksik etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (50).

OPIOİDLER

Opioidler, yüzyıllardır anksiyeteyi yatıştırmak ve analjezi sağlamak amacıyla kullanılmışlardır. Spesifik opioid reseptörlerine bağlanarak opioid agonist etkiler gösteren ilaçlar opioid olarak tanımlanır (51).

Opioidlerin Antibakteriyel Etkisi

Opioidler; moleküler ağırlıkları, termodinamik aktiviteleri ve pH ları nedeniyle non spesifik antibakteriyel etkinlik göstermektedir (52,53).

Sufentanilin 0.5 mcg/mL konsantrasyonu 24 saat boyunca 37⁰C enkübasyon sonrası *S. Aureus* bakterisinin üremesini inhibe etmektedir (53).

Rejyonal anesteziden sonra sık raslanan *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Strep.epidermidis* bakteri enfeksiyonlarına karşı, 6.25, 12.5 ve 25 mg/mL konsantrasyonlardaki tramadol hidroklorürün antibakteriyel etkinliğinin olduğunu gözlenmiştir. Bu nedenle rejyonal anestezide bakteri kontaminasyon riskini azaltmak için kullanılabileceği düşünülmüştür (54).

Akut ve kronik ağrılar için sürekli kateter tekniğinin popülaritesinin giderek arttığını ve özellikle kanser hastalarının evde de tedavilerinin uygulanabilmesi nedeniyle epidural analjezi uygulamalarında en sık kullanılan morfinin *E. Coli*, *P. Aeroginosa*, *S. Aureus*, *Strep. pneumonia*, *Streptococcus pyogenes* (*Strep. Pyogenes*) , *Streptococcus fecalis* (*Strep. Fecalis*) , *Bacillus cereus* (*B. Cereus*) ve *C. Albicans* ile 18 saat boyunca 35⁰C de enkübasyonu sonrası antibakteriyel etkinliğinin olmadığı görülmüştür (55).

Fentanil

Fenilpiperidinin sentetik bir derivesi olan fentanilin kimyasal ismi N (1-fentanil-4-piperidil) propionanilid'dir.

Etkisi 30-60 saniye içinde başlar ve 30 dakika sürer. Maksimum analjezik etki düzeyi 3-6 dakika içinde sağlanır. Solunum depresyonu en fazla 5-15 dakika arasında görülür. (56).

Fentanil yağda çözünürlüğü oldukça yüksek bir ilaç olduğundan kan-beyin bariyerini hızla geçebilir, dolayısıyla etki başlama süresi kısadır. Ancak adipoz dokuda ve iskelet kası gibi inaktif dokularda büyük miktarlarda birikmesi yavaş salınım etkisi yapar. Bu durum fentanilin eliminasyon yarı ömrünün 2- 4 saat olmasına yol açar. Tekrarlayan ve uzun süreli uygulamalarda inaktif dokular doymuş olduğundan etki süresi uzar (57).

Fentanil esas olarak karaciğerde N-dealkilasyon ve hidroksilasyona uğrayarak metabolize olur. Primer metaboliti norfentanil'dir. (57).

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Çevrede çok yaygın bulunan, çeşitli infeksiyonlara yol açan önemli bir patojendir. Erişkinlerin %20-40'ının ön burun bölgelerinde, deri katlarında, üst solunum sistemi ve genital bölgelerinde kolonizasyon yapar (58).

Stafilokoklar toplum ve hastane kökenli enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan etkenlerden biri olup önemli morbidite ve mortaliteye neden olurlar (59).

S. Aureus, Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve 0,5-1,5 µm çapında yuvarlak morfolojiye sahip bir bakteridir. Lezyonlardan ve besi yerlerinden hazırlanan boyalı preparatlarda üzüm salkımı şeklinde kümeler halinde görünürler. Adi besi yerinde kolayca ürer ve 2-4 mm çapında düzgün koloniler oluştururlar. Önceleri renksiz görünümde olan koloniler ilk günden sonra pigment yaparak altın sarısı rengine dönüşür. S. Aureus % 7,5-10 NaCl içeren basit besiyerlerinde, 18-45 °C'de kolaylıkla ürerler. Laboratuvarda 10-42 °C'de üreyebilmelerine rağmen optimum üreme ısı 37 °C'dir. Sıvı besi yerlerinde bulanıklık ve çöküntü yaparak çoğalmaktadır. Sporsuz bakteriler içerisinde dış etkenlere ve dezenfektanlara karşı en fazla dayanabilen bakteridir. Kültürlerde +4 °C'de 2-3 ay, -20 °C 'de 3-6 ay canlı kalabilmektedir. Etken 60 °C'de yarım saatte, % 2'lik fenolde 15 dakikada inaktive olabilmekte, % 9'luk NaCl ve sakkarozaya tolerans gösterebilmektedir (60).

HASTA KONTROLLÜ EPİDURAL ANALJEZİ (HKEA)

Postoperatif ağrı kontrolünde HKEA güvenli ve efektif bir tekniktir. Epidural analjezi geleneksel yöntemlerde aralıklı bolus ve/veya devamlı infüzyon şeklinde uygulanmaktadır. HKA geliştirilmesi ile ağrı kontrolünde önemli bir aşama kaydedilmiştir. Hasta kontrollü analjezi cihazlarının kullanımı ilaç tüketiminin azalması, hasta memnuniyetinin artması, daha iyi ağrı kontrolü gibi birçok avantaj sağlamaktadır. Bu avantajlar nedeniyle cihazların kullanımı giderek artmaktadır (4,6,24).

Binden fazla hastanın verilerini içeren iki büyük gözlemsel çalışmanın verilerine göre HKEA ile hastaların %90'ından fazlasında yeterli analjezi sağlanmıştır. Bu çalışmalarda hastaların ortalama ağrı skoru 10 üzerinden istirahatte 1, aktivite ile 4 bulunmuştur. Yan etkiler ise devamlı infüzyon yapılan grupla kıyaslandığında daha düşük bulunmuştur(4,23).

HKEA’de en sık kullanılan ilaçlar ve uygulama protokolleri Tablo 3’te verilmiştir.

Tablo 3. HKEA’de sık kullanılan ilaçlar ve dozları (61)

İLAÇLAR	PROTOKOLLER
0.2-0.4 mg/ml Morfin 20-40 mg/100 ml SF* içinde	Yükleme: 2-4 mg İnfüzyon: 0.5-1 mg /saat Bolus: 0.5-1 mg Kilitli kalma: 15-30 dakika
2-4 mg/ml Tramadol 200-400 mg/100 ml SF içinde	Yükleme: 20-50 mg İnfüzyon: 10 mg/saat Bolus: 5-20 mg Kilitli kalma: 20-30 dakika
5 µg/ml Fentanil 500 µg/100 ml SF içinde	Yükleme: 15-20 ml İnfüzyon: 6-15 ml /saat Bolus: 2-4 ml Kilitli kalma: 10-15 dakika
2 µg/ml Fentanil + %0.125 Bupivakain 400µg Fentanil + 40 ml %0.5 Bupivakain /200 ml SF içerisinde	Yükleme: 5-10 ml İnfüzyon: 5-10 ml/saat Bolus: 5-7 ml Kilitli kalma:20- 30 dakika
2 µg/ml Fentanil + %0.125 Levobupivacain 400µg Fentanil + 40 ml %0.5 Bupivakain /200 ml SF içerisinde	Yükleme: 5-10 ml İnfüzyon: 5-10 ml/saat Bolus: 5-7 ml Kilitli kalma:20- 30 dakika
0.1mg /ml Morfin + %0.5 Lidokain 10 mg Morfin + 20 ml %2 Lidokain/100 ml SF içerisinde	Yükleme: 5-10 ml İnfüzyon: 1-2 ml/saat Bolus: 5-7 ml Kilitli kalma: 30-60 dakika
*SF: serum fizyolojik	

ELEKTRON MİKROSKOBİSİ

İlk elektron mikroskobu prototipi 1931 yılında Alman mühendisler Ernst Ruska ve Max Knoll tarafından geliştirilmiştir. Reinhold Rudenberg 1931 yılında bu cihazın patentini *Siemens* adına almış ve pratikte kullanımı konusunda çalışmaları başlatmıştır (62).

Scanning Electron Microscope (SEM) ilk defa 1935 yılında elektron optiği alanında çalışan Alman bilim adamı M. Knoll'un tarafından geliştirilmiştir. 1953 yılında Amerikalı fizikçi Mc Mullan SEM ile üç boyutlu görüntülemeyi gösterdiğinde, SEM pek çok alanda üstünlüğünü ilan etmiştir. Aynı yıllarda Amerikalı Ken Smith, SEM'un optik sistemlerini, büyütme oranlarını ve elektron toplama sistemlerini geliştirerek canlı dokular için de görüntü kalitesini arttırmıştır. Günümüzde SEM en sık kullanılan elektron mikroskobu çeşididir (62).

SEM tipleri:

Scanning Electron Microscope (SEM): İşaretleme sonrası elektronun yüzeydeki enerji değişimleri ölçülür, 10 nm'ye kadar üç boyutlu görüntü elde edilir.

Scanning Ion Microscope (SIM): İşaretlemede iyonlar kullanılır, madde analizinde kullanım alanı vardır.

Scanning Acoustical Microscope (SAM): Ultrasonic dalgalar kullanılır, 2.5 µm'ye kadar görüntüleme yapabilir.

Scanning Light Microscope (SLM): Kalın dalga boyundaki ışık kullanılır, *Transmitting Light Microscope*'una kıyasla avantajı ise, renkli ve kaliteli görüntü elde edilebilmesidir (62).

Tablo 4. SEM'unun özellikleri

MİKROSKOP TİPİ	ÇALIŞMA PRENSİBİ	SINIRLAMALAR
SEM	İşaretleme yapılır İşaretlenen yüzeyde tarama yapılır Üç boyutlu görüntü elde edilir Lens sistemi yoktur	Sıvı, görüntü kalitesini bozar

SEM ile bakterilerin görüntülenmesi ilk olarak 1969 yılında Bulla ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (63). Bu tip görüntülemeler daha çok bakterilerin ultra strüktürel yapılarını göstermek amaçlı kullanılırken, günümüzde bakterilerin biofilm oluşturarak materyallere tutunmasının görüntülenmesi için kullanılmaktadır (64).

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, “Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel (İnvaziv) Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu Etik Kurulu” onayı alındıktan sonra Kasım 2010 Şubat 2011 tarihleri arasında D.E.Ü.T.F. Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Asistan Eğitim Laboratuvarı’nda in vitro ortamda prospektif olarak gerçekleştirildi.

HKEA sistemi ve gruplarda kullanılan çalışma solüsyonları klinik şartlarımıza benzer olarak 100 ml volüm içerecek şekilde hazırlandı.

Çalışma grupları ve kullanılan solüsyonların içeriği:

Grup 1 (% 0,125 levobupivakain) (n=10) :

Asepsi-antisepsi kurallarına uyarak, 100 mL serum fizyolojik içerisinde 30 mL boşaltıldıktan sonra içine 25 mL % 0.5 levobupivacaine + 4 mL fentanil (200 mcg) + 1 mL S. Aureus 0.5 McF (1.5×10^8 cfu/mL) eklendi.

Grup 2 (% 0,0625 levobupivakain) (n=10) :

Asepsi-antisepsi kurallarına uyarak, 100 mL serum fizyolojik içerisinde 17,5 mL boşaltıldıktan sonra içine 12,5 mL % 0.5 levobupivacaine + 4 mL fentanil (200 mcg) + 1 mL S. Aureus 0.5 McF (1.5×10^8 cfu/mL) eklendi.

Grup 3 (fentanil) (n=10) :

Asepsi-antisepsi kurallarına uyarak, 100 ml serum fizyolojik içerisinde 5 mL boşaltıldıktan sonra içine 4 mL fentanil (200 mcg) + 1 mL S. Aureus 0.5 McF (1.5×10^8 cfu/mL) eklendi.

Grup 4 (kontrol) (n =10) :

Asepsi-antisepsi kurallarına uyarak, 100 ml serum fizyolojik içerisinde 1 mL boşaltıldıktan sonra içerisine 1 mL S. Aureus 0.5 McF (1.5×10^8 cfu/mL) eklendi.

Deney düzeneğinin hazırlanması:

Deney düzeneği asepsi-antisepsi kurallarına uyularak hazırlandı. İçi boş 1000 mL’lik steril şişenin ağzı povidon iyotlu (*Povidone Iodine*) steril tampon ile iki kez silindi. 18 G *touhy* iğnesi şişenin kapağına takıldı. Kateter iğne içinden geçirilerek iğne çıkarıldı.

Rutin klinik uygulamada ortalama 5 cm'de epidural aralığa girildiği ve kateter 3-4 cm içeride bırakıldığı için klinik koşullarımıza benzer olarak kateter 9 cm'de şişeye tespit edildi. Kateterin ucuna 0.2 µm por açıklığına sahip *Portex® (Smiths- Medical, USA)* flat kateter filtresi bağlandı. Bir ucuna 100 mL'lik çalışma solüsyonu takılan *Provider Pump Set'in (PPS)* diğer ucu filtreye bağlanarak çalışma düzeneği oluşturuldu. PPS ve 100 mL'lik çalışma solüsyonu HKA cihazına (*Abbott APM Epidural PCA Pump, USA*) yerleştirildi (Resim 1).

Çalışma solüsyonları, oda ısısında HKA cihazı ile 4 mL/sa sürekli infüzyon modunda, 24 saat filtreden geçirilerek steril şişeler içinde toplandı.

1000 mL'lik şişede toplanan solüsyondan, filtrelerin giriş ve çıkış uçlarına yakın bölgelerinden alınan örnekler uygun besi yerlerine (*Staphylococcus aureus: Kanlı Agar*) ekildi. 37°C'de aerobik şartlarda 16-24 saat inkübasyondan sonra bakteri izolasyonu ve tiplendirmesi yapıldı.

Koloni sayım usulüne göre plaklardaki koloniler sayıldı.



Resim 1. Deney düzeneği

ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLEME :

Elektron mikroskopik görüntüleme için *SEM JEOL-JSM-6060* modeli kullanıldı. SEM görüntülemesi için Grup 1 ve Grup 4 deki bakteri filtreleri, asepsi-antisepsi kurallarına uyularak filtrenin korunduğu plastik materyal açılarak filtre giriş ve çıkışından örnekler alındı. Örnekler su içeriği tamamen buharlaşana kadar bekletilerek kurutulduktan sonra yüksek vakum yöntemi kullanılarak (120 saniye 10 mA akım uygulanarak) Altın-Paladyum ile kaplandı. Fotografik görüntüler 15-20 Kilovolt (Kv) aralığında 5.000 büyütmede kayıt edildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ :

0.5 McF konsantrasyondaki bakteri süspansiyonları, filtrelerdeki ve şişelere geçen bakteri koloni sayıları ortalama değerleri ve standart deviasyonları (sd) SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 programı kullanılarak hesaplandı. Gruplar arasındaki farkı anlamak için *Kruskal-Wallis* testi, iki grup arasındaki farkı anlamak için *Mann-Whitney-U* testi uygulandı ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Tüm gruptaki filtrelerin giriş tarafından alınan örneklerde üreme olduğu görüldü. Filtrelerin giriş tarafından alınan örneklerden elde edilen kültürlerden yapılan koloni sayımlarında sıralamanın Grup4> Grup3> Grup2> Grup1 olduğu saptandı. Gruplar arasındaki koloni sayısı farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.0001$) (Tablo 6)

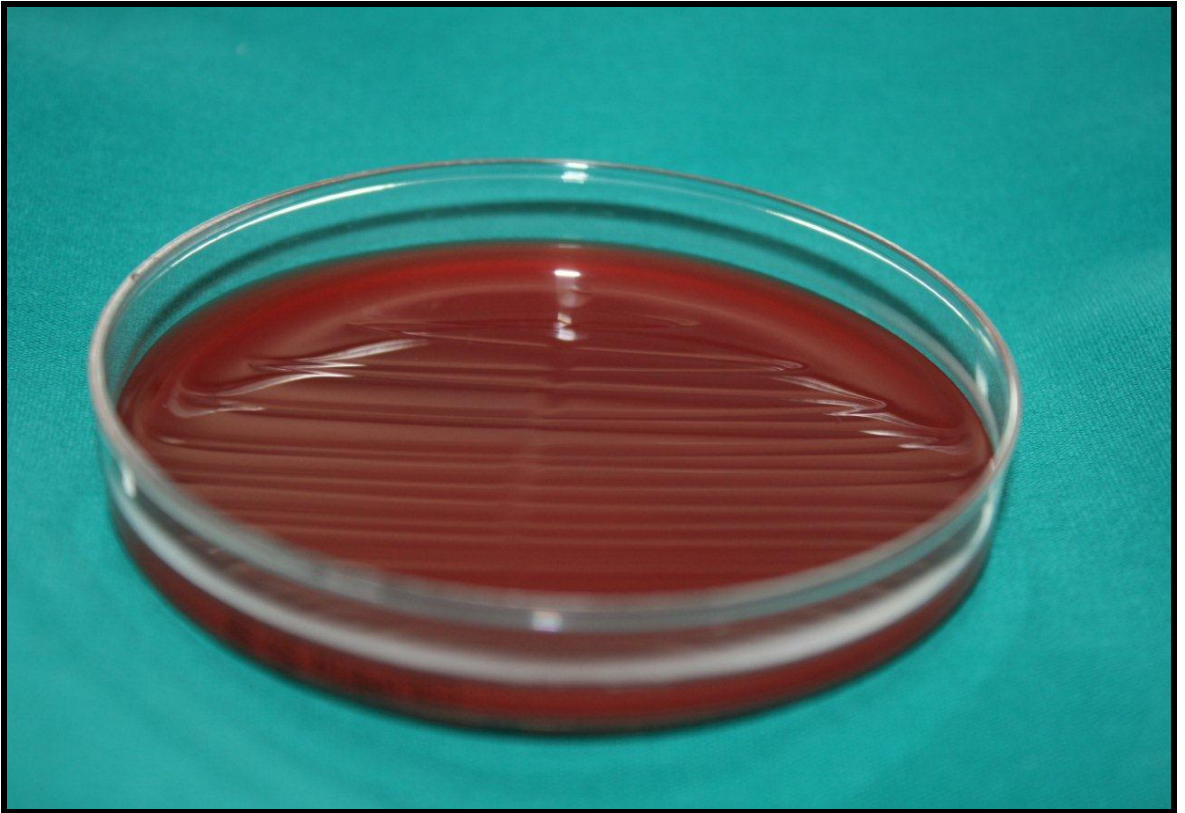
Tüm gruplarda filtrelerin giriş tarafından yapılan ekimlerde üreme görüldü (Resim 1) ve çıkış tarafından ve şişelerden yapılan ekimlerde üreme olmadı (Resim 2). Kültürlerde başka bir bakteri üremesi gözlenmedi.

Tablo 5. Tüm gruplarda filtre giriş, çıkış ve şişelerden elde edilen koloni sayımları (ortalama±sd) ve p değerleri

Gruplar	Verilen bakteri koloni sayısı (N)	Filtrenin giriş tarafındaki koloni sayısı(N)	Filtrenin çıkış tarafındaki koloni sayısı(N)	Şişedeki koloni sayısı(N)	p
Grup 1 (%0,125 levobupivakain+fentanil+SA*) (n=10)	1500000±00	9446±2173	0±00	0±00	0,0001
Grup 2 (%0,0625 levobupivakain+fentanil+SA*) (n=10)	1500000±00	12742±2240	0±00	0±00	
Grup 3 Fentanil+SA* (n=10)	1500000±00	15770± 2540	0±00	0±00	
Grup 4 (SF+SA*) (n=10)	1500000±00	21692± 2223	0±00	0±00	
*SA: <i>Staphylococcus aureus</i>					



Resim 2. Filtrenin girişinden alınan örnekteki *Staphylococcus aureus* kolonileri



Resim 3. Filtrenin çıkışından ve şişe içerisinde alınan örneğin kanlı agardaki görüntüsü (üreme yok)

Grup 1, Grup 2, Grup 3 deki filtrelerin girişinden yapılan ekimlerden elde edilen koloni sayılarının Grup 4 göre daha az olduğu görüldü. Grup 4 göre aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p=0.002$). (Tablo 6,7,8)

Tablo 6. Grup 1 ile Grup 4 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan bakteri sayımları (ortalama \pm sd) ve p değeri

Gruplar	Verilen koloni sayısı	Filtredeki koloni sayısı	Şişedeki koloni	P değeri
Grup 1 (%0,125 levobupivakain+fentanil+SA*) (n=10)	1500000 \pm 00	9446 \pm 2173	0 \pm 00	0,002
Grup 4 (SF+SA*) (n=10)	1500000 \pm 00	21692 \pm 2223	0 \pm 00	

*SA: *Staphylococcus aureus*

Tablo 7. Grup 2 ile Grup 4 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan bakteri sayımları (ortalama \pm sd) ve p değeri

Gruplar	Verilen koloni sayısı	Filtredeki koloni sayısı	Şişedeki koloni	P değeri
Grup 2 (%0,0625 levobupivakain+fentanil+SA*) (n=10)	1500000 \pm 00	12742 \pm 2240	0 \pm 00	0,002
Grup 4 (SF+SA*) (n=10)	1500000 \pm 00	21692 \pm 2223	0 \pm 00	

*SA: *Staphylococcus aureus*

Tablo 8. Grup 3 ile Grup 4 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan bakteri sayımları (ortalama±sd) ve *p* değeri

Gruplar	Verilen koloni sayısı	Flitredeki koloni sayısı	Şişedeki koloni	P değeri
Grup 3 Fentanil+SA* (n=10)	1500000±00	19520± 2540	0±00	0,002
Grup 4 (SF+SA*) (n=10)	1500000±00	21692± 2223	0±00	

*SA: *Staphylococcus aureus*

Tüm gruptaki filtrelerin girişinden yapılan ekimlerden elde edilen koloni sayıları karşılaştırıldığında; Grup 1 ile Grup 2 (*p*=0.019) (Tablo 9); Grup 1 ile Grup 3 (*p*=0.0001) (Tablo 10) ve Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 (*p*=0.013) (Tablo 11) arasındaki farkların anlamlı olduğu tespit edildi.

Tablo 9. Grup 1 ile Grup 2 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan koloni sayımları (ortalama±sd) ve *p* değeri

Gruplar	Verilen koloni sayısı	Flitredeki koloni sayısı	Şişedeki koloni	P değeri
Grup 1 (%0,125 levobupivakain+fentanil+SA*) (n=10)	1500000±00	9446±2173	0±00	0,019
Grup 2 (%0,0625 levobupivakain+fentanil+SA*) (n=10)	1500000±00	12742±2240	0±00	

*SA: *Staphylococcus aureus*

Tablo 10. Grup 1 ile Grup 3 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan koloni sayımları (ortalama±sd) ve *p* değeri

Gruplar	Verilen koloni sayısı	Filtredeki koloni sayısı	Şişedeki koloni	P değeri
Grup 1 (%0,125 levobupivakain+fentanil+SA*) (n=10)	1500000±00	9446±2173	0±00	0.0001
Grup 3 Fentanil+SA* (n=10)	1500000±00	19520± 2540	0±00	

*SA: *Staphylococcus aureus*

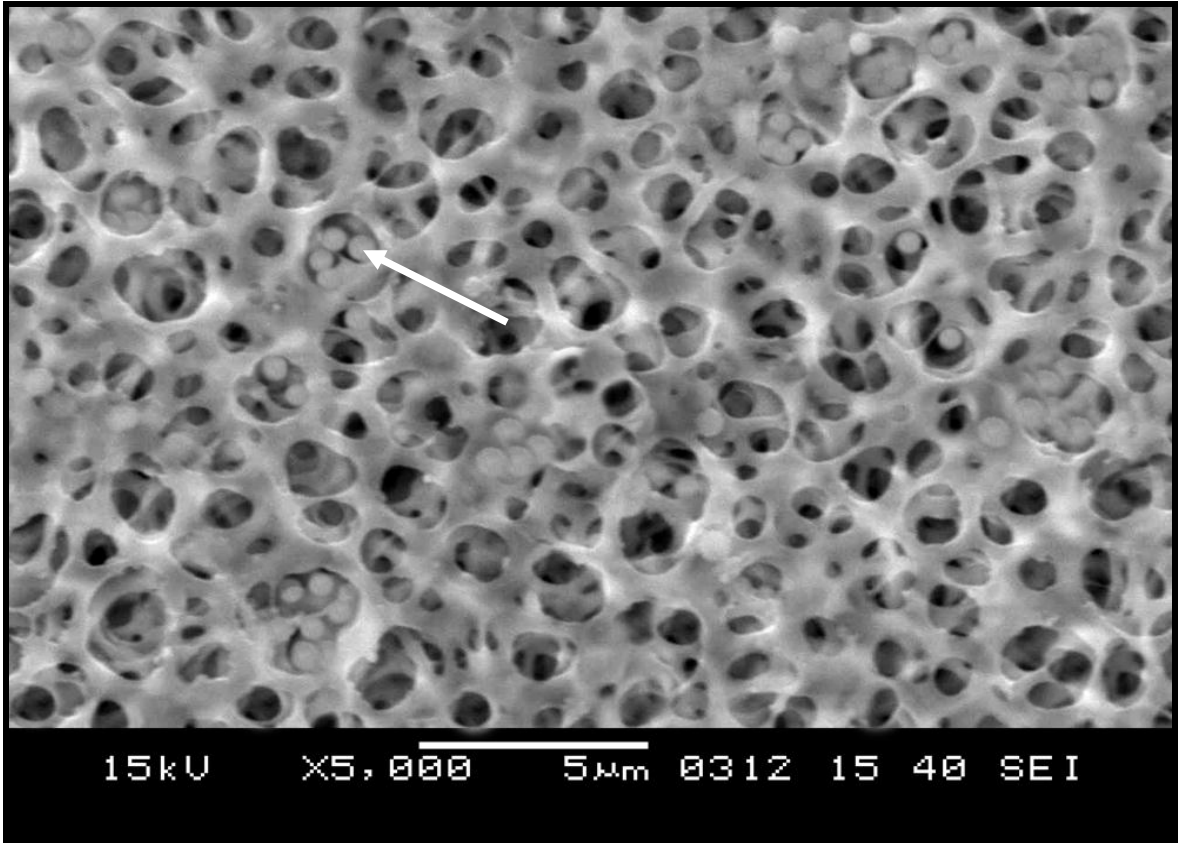
Tablo 11. Grup 1, Grup 2 ile Grup 3 deki filtrelerden ve şişelerden yapılan bakteri sayımları (ortalama±sd), *p* değeri

Gruplar	Verilen koloni sayısı	Filtredeki koloni sayısı	Şişedeki koloni	P değeri
Grup 1 (%0,125 levobupivakain+fentanil+SA*) (n=10)	1500000±00	9446±2173	0±00	0,013
Grup 2 (%0,0625 levobupivakain+fentanil+SA*) (n=10)	1500000±00	12742±2240	0±00	
Grup 3 Fentanil+SA (n=10)	1500000±00	19520± 2540	0±00	

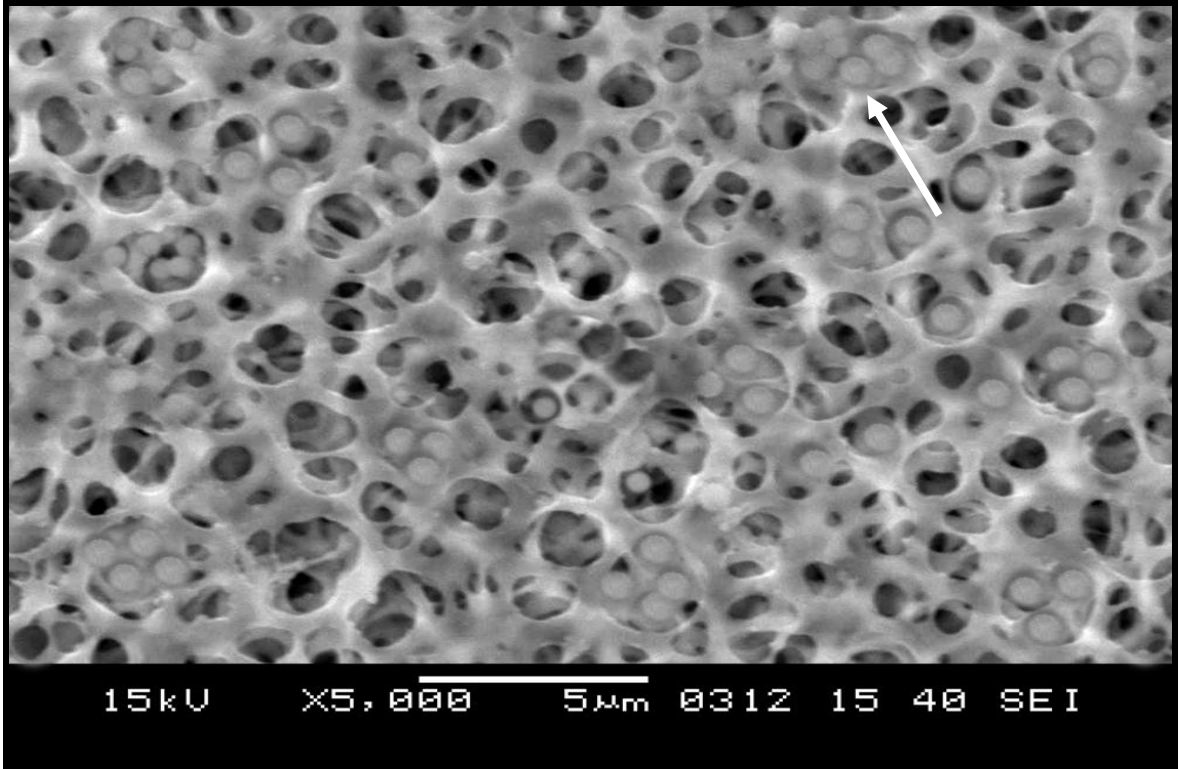
*SA: *Staphylococcus aureus*

Tüm gruplardaki filtrelerin giriş tarafından alınan örneklerde üreme olduğu görüldü, filtre çıkışlarında üreme saptanmadı. Bunun fiziksel kanıtı olarak Grup 1 ve Grup 4'den deneysel düzeneğimizdeki fitrenin giriş ve çıkış tarafından alınan örneklerin SEM görüntülemeleri yapıldı (Resim 3,4,5).

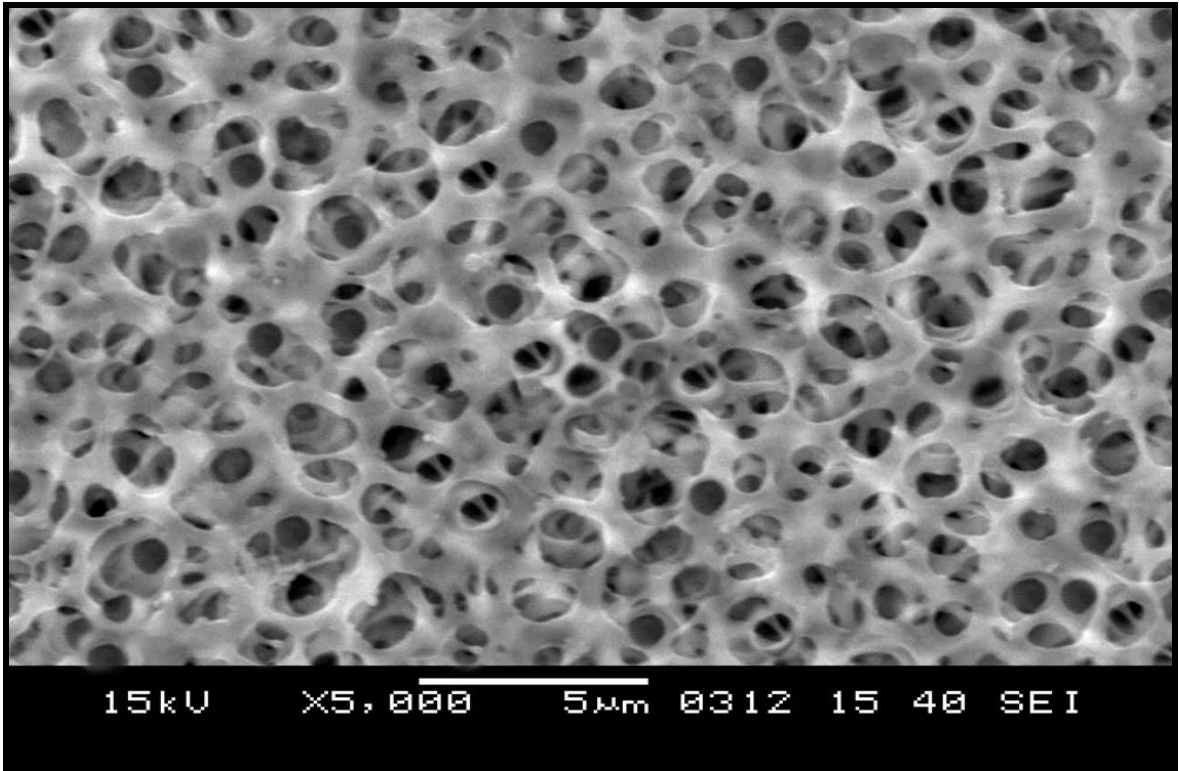
Deney düzeneğimizdeki Grup 1 ve Grup 4' deki filtrelerin giriş kısmındaki örneklere, SEM görüntüleme tekniği ile bakıldığında *S. Aureus*'un yoğunluğunun Grup 4 filtre üzerinde Grup 1'den daha fazla olduğu görülmektedir (Resim 4,5). Filtrelerin çıkış tarafında üreme olmamasına paralel olarak SEM görüntülemelerde *Staphylococcus aureus* görülmemiştir (Resim 6).



Resim 4. Grup 1 deki *Staphylococcus aureus* 'un filtre girişindeki SEM görüntüsü X 5.000 Büyütme



Resim 5. Grup 4 teki *Staphylococcus aureus*'un filtre girişindeki SEM görüntüsü X 5.000 Büyütme



Resim 6. *Staphylococcus aureus*'un filtre çıkışındaki SEM görüntüsü X 5.000 Büyütme

TARTIŞMA

Lokal anesteziğin antiseptik etkileri ilk olarak 1909 yılında saptanmasına rağmen, bu antibakteriyel etkinin klinik önemi 50 yıl sonra anlaşılmıştır (43).

Klinik ortamda rutin EA/A uygulamalarında bir opioid ile bir lokal anestezi ajanı kombine edilerek kullanılmaktadır. Bu kombinasyon ile her iki ajanın olumlu etkileri birleştirilirken, yan etkilerin azaltılması sağlanmaktadır. Bu olumlu etkilerin yanında kullanılan lokal anesteziğin bir diğer avantajı antibakteriyel etkisinin olmasıdır (14).

Çalışmamızda postoperatif ağrı tedavisi (%0.125) ve ağrısız doğumda kullandığımız (%0.0625) iki farklı levobupivacain konsantrasyonunun hasta kontrollü epidural analjezi modelinde *S. Aureus* üzerine antibakteriyel etkinliğini araştırdık. Biz her iki levobupivacain konsantrasyonu + fentanilin, tek başına fentanilin ve %0.9 NaCl içindeki kontrol grubunun verilen bakterileri anlamlı düzeyde azalttığını saptadık. Filtreye gelen bakteri koloni sayısının azalmasında; levobupivacainin ve opioidlerin antibakteriyel etkinliğinin (47,48), *S. Aureus*'un üremesi için uygun olmayan % 0,9 NaCl solüsyonu içinde 24 saat infüzyonunun rol oynayabileceğini düşündük.

Deney modelimiz literatürdeki modellerden (5,12) bazı farklılıklar içermektedir.

Çalışmamızda, klinik uygulamalarımıza benzer olarak infüzyon amacıyla HKA cihazını kullandık. Bizim çalışmamızdaki gibi infüzyon modeli uygulayan De Cicco (5) ve Kaushal'ın (12) yaptıkları deney düzeneğinde enjektörle infüzyon uygulamışlardır. Ancak, bu eski yöntemin yerini günümüzde klinik uygulamalarda HKA uygulamaları almıştır. Ayrıca De Cicco ve ark.'ı (5) çalışmalarında *Streptococcus millier* bakterisini kullanırken, biz çalışmamızda bakteri kolonizasyonlarından en çok sorumlu ve hastane enfeksiyonu etkenleri içinde en sık saptanan bakteri olan *S. Aureus*'u kullandık (8,9).

Çalışmamızda klinik uygulamalarımızla benzer olarak HKEA modelimizde bakteri filtresi kullandık. Literatür taramamızda filtre kullanımı ve değişiminin önemini araştırdığımız birçok çalışmaya rastladık (4,11,22,30,37,38). Bu çalışmalardan De Cicco ve ark.'ı (5) uzun süreli epidural kateterizasyonda bakteri filtresinin değişim periyodu ile enfeksiyon gelişimi arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında filtre değişiminin kontaminasyonu arttırdığını bildirmişlerdir. Low ve ark.'ı (40) ise yoğun bakımda tedavi gören ve postoperatif analjezi için epidural kateter kullanılan hastalarda filtrelerin mutlak kullanılması gerektiğini savunmuşlar ve filtre değişiminin gerekli olmadığını

vurgulamışlardır. Wood ve ark.'ı (24) postoperatif analjezi amacıyla çocuklardaki epidural analjezi uygulamalarında kısa süreli işlemlerde bile filtrelerin enfeksiyon gelişimini önlemeye yönelik ek bir bariyer olarak kullanılabilceğini savunmuşlardır. Kronik ağrı tedavisinde uzun süreli epidural infüzyon uygulamaları nedeniyle yapılan araştırmalarda; Du pen ve ark.'ı (32), terminal dönem kanser ve AİDS tanılılarıyla iki aydan uzun süre epidural kateter ile analjezi uygulanan 350 hastalık serilerinde; % 4.7, Nitescu ve ark. (41) 89 hastalık (81'i maligniteye bağı kronik ağrı, 9'u kronik benign ağrı) serilerinde % 5.4 oranında menenjit, araknoidit, epidural abse, beyin absesi gibi ciddi komplikasyonlar bildirmişlerdir. Araştırmacılar asepsi antisepsiye uyulmasına rağmen %22 oranında bakteriyel kolonizasyon gelişmesi nedeniyle bu komplikasyonların arttığını ve bakteri filtrelerinin bu hasta gruplarında mutlaka kullanılması gerektiğini savunmuşlardır.

Kaushal ve ark.'ı (12) dekstrozu içeren sıvıya S. Aureus ve P. Aeruginosa bakterilerini ekleyerek, intravenöz 24 saatlik infüzyon ile bakteri filtresinin bu mikroorganizmalara etkin olup olmadığını araştırmışlar ve kateter filtrelerinin bu bakterileri tutmada % 100 etkin olduğunu saptamışlardır. Kaushal ve ark.'ı (12). infüzyon sıvısı olarak dekstrozu kullanırken; biz kliniğimizde HKEA modelinde rutin uygulamalarda kullandığımız serum fizyolojik sıvısıyla çalışma modelimizi oluşturduk.

Biz çalışmamızda kullandığımız filtrenin S. Aureus bakterisini tutma kapasitesinin %100 olduğunu saptayarak daha önceki çalışmalara benzer şekilde filtre kullanımının önemini gösterdik. S. Aureus'un hastane enfeksiyonu etkenleri içinde en sık saptanan bakteri olduğunu düşünürsek bakteri filtresinin önemi nedeniyle filtre değişimi sırasında ve filtreden sonra sterilizasyona ne kadar dikkat edilmesi gerektiği açıkça görülmektedir.

Çalışmamızda levobupivacain kullandığımız Grup 1 ve Grup 2'de bakteri koloni sayısında Grup 4'e göre anlamlı azalma saptadık ve bunun levobupivacainin antibakteriyel etkinliği ile ilişkili olabileceğini düşündük. Literatürde levobupivacainin antibakteriyel etkinliğini araştıran 3 çalışmaya rastladık (14,19,20). Bu çalışmalarda deneysel ortamda bakteriler ile lokal anestezi karışımlarının besiyerlerine ekilmesi ile üreme olup olmadığı araştırılmıştır. Bizim çalışmamızda bu çalışmalardan farklı olarak levobupivacainin klinik kullanıma uyarlanmış bir düzenek ile antibakteriyel etkinliği araştırılmıştır.

Bu çalışmalardan birincisinde; Hodson ve ark.'ı (14) levobupivacain ve bupivacainin % 0.125, % 0.25 ve % 0.5 konsantrasyonlarının E. Fecalis, S. Aureus, Strep.

Epidermidis üzerine antibakteriyel etkinliğini araştırmışlardır. % 0.5 bupivakain veya levobupivakain solüsyonu ile bakteri üremesi gözlenmemiş. % 0.25 levobupivakain de bakteri üremesini saptamalarına karşın bu bakterilerin kolonilerinin sayısında anlamlı olarak azalma gözledikleri için S. Aureus ve Strep. Epidermidis için antibakteriyel etkinlik oluşturduklarını savunmuşlardır. % 0.125 konsantrasyondaki bupivakain ve levobupivakainle ise her 3 bakteri koloni sayısında anlamlı artış saptamışlardır. Çalışmada kullandıkları 3 bakteri için minimum antibakteriyel etkili konsantrasyonun bupivakain için % 0.25, levobupivakain için ise % 0.5 olduğunu belirtmişlerdir. Hodson ve ark. 'nın (14) yapmış oldukları bu çalışmanın aksine, biz deney düzeneğimizde kullanmış olduğumuz % 0,0625 ve % 0,125 levobupivacain konsantrasyonlarında filtreye gelen bakteri sayısındaki azalmayı daha öncede bahsettiğimiz gibi levobupivacainin antibakteriyel etkinliğine, fentanilin olası antibakteriyel etkinliğine ve kullanmış olduğumuz % 0,9 NaCl gibi hipotonik bir solüsyonun bakterinin yaşamını sürdürebilmesi için uygun bir ortam olmamasına bağladık.

Diğer alışmada Coghlan ve ark.'ı (19), S.Aureus, E. Fecalis, E. Coli, P.Aureginosa ile yaptıkları çalışmalarında; bupivakain, levobupivakain ve ropivakain için % 0.06, 0.125, 0.2, 0.5 konsantrasyonların antibakteriyel etkinliğini araştırmışlardır. Agarda gözle görölür üreme olup olmasına göre antibakteriyel etkinliği yorumlamışlardır. Sadece E. Coli'ye karşı levobupivakanin minumum inhibitör konsantrasyon değerinin %0.5 olduğunu ve diğer bakterilere karşı etkisinin olmadığını saptamışlardır. Bupivacain S. Aureus, E. Fecalis ve E. Coli için antibakteriyel aktivite göstermiş ancak P. Aureginosa'nın üremesini inhibe etmemiştir. Ropivakainin % 1'lik konsantrasyonu E. Coli üremesini inhibe ederken diğer bakteriler üzerine etkinliği gösterilememiştir. Coghlan ve ark.'nın (19), aksine biz % 0,0625 ve % 0,125 levobupivakain konsantrasyonlarının antibakteriyel etkinliğini tanımlarken agardaki koloni sayısını azaltıp azaltmadığına göre karar verdik. Levobupivakainin konsantrasyonu arttıka bakteri koloni sayısının azalmasını antibakteriyel etkinliği var şeklinde yorumladık.

Bizim çalışmamızla ilaç konsantrasyonları yönünden en fazla benzerlik gösteren alışma Guillier ve ark'nın (20), yapmış oldukları çalışmadır. Guillier ve ark.'ı (20), sufentanil (%0.5, %075), sufentanil (%0.5) + levobupivakanin farklı konsantrasyonlarını (%0.14- %0.56) S. Aureus, Strep. Epidermidis ve E. Coli'nin standardize solüsyonları ile 1, 3, 6 ve 24 saat süresince 25°C'da enkübe etmişlerdir. Bakteriyel üremeyi vücut ısısı

yerine, oda ısısında değerlendirmeyi planlamışlardır. Bunun da nedeni olarak, rejyonel anestezi için kullanılan solüsyonların enfeksiyona; hazırlanmaları veya uygulanmaları sırasındaki kontaminasyonla veya oda ısısında saatlerce kalmaları sonucu neden olduğunu savunmaktadırlar. Levobupivakainin ve sufentanilin tüm konsantrasyonlarında bakteriyel üreme oldukça az gözlemlendiği için, aseptik koşullarda %0.14-%0.56 konsantrasyonlardaki levobupivakainin 0.5 mcg/mL sufentanil ile kombine olarak hazırlanarak, doğum analjezisinde veya postoperatif rejyonel anestezi de, oda ısısında 24 saat kullanılmasının, bakteriyel üreme açısından risk oluşturmadığını savunmuşlardır. Guillier ve ark.'nın (20) çalışmalarıyla uyumlu olarak bizde % 0,0625 ve % 0,125 levobupivakain konsantrasyonlarının 2 mcg/mL fentanil ile kombinasyonunun S. aureus bakterisine antibakteriyel etkisinin olduğunu saptadık.

Klinik uygulama koşullarına benzer şekilde HKA cihazı ile yaptığımız çalışmamızda sadece fentanil kullandığımız Grup 3'de kontrol grubu ile kıyaslandığında koloni sayısında azalma olmasını fetanilinde antibakteriyel etkinliği olabileceği şeklinde yorumladık. Yaptığımız literatür taramalarında fentanilin antibakteriyel etkinliğini araştıran çalışmaya rastlamadık. Fakat diğer opioidlerin antibakteriyel etkinliği araştıran 3 çalışma saptadık (53-55). Bu çalışmalarda deneysel ortamda bakteriler+opioide karışımının besiyerlerine ekilmesi ile üreme olup olmadığı araştırılmıştır.

Zohreh Tamanai-Shacoori ve ark.'nın (53) yapmış oldukları bir çalışmada E. Coli, S. Aureus ve E. Fecalis'in doğum analjezisinde kliniklerinde kullanmış oldukları düşük doz bupivakain ve ropivakainin antibakteriyel özelliğini sufentanilin ne kadar etkileyeceğini araştırmışlardır. Kliniklerinde sıklıkla kullanılmakta olan bupivakain 0.77 mg/mL, ropivakain 1.2 mg/mL, sufentanil (0.38 mcg/mL bupivakain ile 0.5 mcg/mL ropivakain ile) konsantrasyonlardır. Kültürler 37 ° C de 24 saat inkübe etmişler. Sufentanilin tek başına sadece S. Aureus üremesini inhibe edebildiğini, bu nedenle bupivakain ve ropivakainin antibakteriyel etkisine katkıda bulunduğunu savunmuşlardır.

Zohreh Tamanai-Shacoori ve ark.'nın (54) yapmış oldukları bir diğer çalışmada rejyonel anesteziden sonra saptanan S.aureus, P.aeruginosa, E. coli, Strep. Epidermidis bakterilerine karşı, 6.25, 12.5 ve 25 mg/mL konsantrasyonlarda hazırladıkları tramadol hidroklorürün antibakteriyel etkinliğini in vitro olarak araştırmışlar ve tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuyla kıyaslandığında bakterilerin koloni sayılarını anlamlı

olarak azalttığını belirtmişlerdir. Bu nedenle rejyonel anestezide bakteri kontaminasyon riskini azaltmak için kullanılabilceğini vurgulamışlardır.

Per H.Rosenberg ve ark. (55) akut ve kronik ağrılar için kontinü kateter tekniğinin popülaritesinin giderek arttığını ve özellikle kanser hastalarının evde de tedavilerinin uygulanabilmesi nedeniyle epidural analjezi ile en sık kullandıkları 2 ajanın antibakteriyel etkinliğini araştırmak için (bupivakain ve morfin) E. Coli, P. Aeroginosa ve S. Aureus, Strep. Pneumonia, Strep. Pyogenes, Strep. Fecalis, B. Cereus ve C. Albicans ile bu ajanları 18 saat boyunca enkübe etmişlerdir. Morfinin bu bakterilere tamamen etkisiz olduğunu ve morfinin bupivakainin antibakteriyel etkisine ek katkı göstermediğini bildirmişlerdir. Biz bu çalışmadan farklı olarak kontrol grubuna kıyasla sadece fentanil kullandığımız gruptaki bakteri koloni sayısında azalma saptamamız nedeniyle, fentanilin tek başına S. Aureus'a antibakteriyel etkisinin olduğunu ve levobupivacainin antibakteriyel etkisine katkıda bulunduğunu düşündük.

Çalışma düzeneğimizdeki tüm gruplarımızda *staphylococcus aureus* bakterisinin koloni sayısı anlamlı olarak azalmıştır. Bu anlamlı azalmaya rağmen tam bir antibakteriyel etkinlik oluşmamış, epidural aralığın karşılığı olan şişelerde bakteri görülmemesi filtrelerce sağlanmıştır.

HKA, postoperatif ağrı tedavisi yanında, yanık, orak hücreli anemi ve kanser ağrılarının kontrolünde ve yoğun bakım ünitesinde başarı ile kullanılabilir. Cerrahi sonrası hücrel ve humoral immün fonksiyon inhibe olmakta ve bu etki özellikle immunsupresif hastada uzun sürebilmektedir (65). Tüm bu hasta gruplarında epidural kateterizasyon sırasında enfeksiyonların önlenmesinde sterilizasyona, asepsi-antisepsi kurallarına dikkat edilmesi, uygulanan kateterlere filtre takılması önerilmektedir. Bu koruyucu önlemlerin yanında bu hasta gruplarında, çalışmamızın sonuçlarından da yola çıkarak, kullandığımız levobupivakain + fentanil kombinasyonları ve tek başına fentanilin saptadığımız antibakteriyel etkinliği nedeni ile enfeksiyon gelişimi üzerine koruyucu bir bariyer oluşturacağı düşünülebilir.

Biz çalışmamızda lokal anesteziklerin antibakteriyel etkilerini araştıran diğer araştırmalardan farklı olarak sonuçlarımızı SEM görüntülemeleriyle kanıtladık. *Staphylococcus aureus*'a karşı levobupivacain konsantrasyonu azaldıkça antibakteriyel etkinliğinin azalmasını Grup 1 deki bakteri yoğunluğunun Grup 4 den daha az olmasıyla

(Şekil 3,4), filtrenin bakteriyi tutma kapasitesinin %100 olduğunu filtre çıkışında *Staphylococcus aureus* 'un görülmemesi (Şekil 5) ile kanıtladık.

SONUÇ ve ÖNERİLER

In vitro olarak HKA cihazı ile 24 saatlik bakteri solüsyonu infüzyonunda kullandığımız levobupivakanin iki farklı konsantrasyonunun *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı antibakteriyel etkisinin olduğunu gösterdik.

Deney düzeneğimizde kullanmış olduğumuz Portex marka filtrenin *staphylococcus aureus* bakterisini tutma kapasitesinin %100 olduğu saptandık.

Bu sonuçlar doğrultusunda, HKEA'de kullanılan levobupivacainin *staphylococcus aureus* bakterisine antibakteriyel etkisinin olduğu; fenatilin tek başına *staphylococcus aureus* bakterisinin üremesini azaltması nedeniyle levobupivacainin antibakteriyel etkisine katkıda bulunabileceği ve levobupivakain + fentanil kombinasyonunun enfeksiyon riskini azaltan ek bir bariyer olarak düşünülebileceği kanaatine vardık.

KAYNAKLAR

1. Kayhan Z. Klinik Anestezi. 2. baskı. Logos yayıncılık tic. A.Ş. İstanbul 1997; 489-91-8
2. Meymaris M. Chemistry and physiology of local anaesthesia. British Journal of Anaesthesia 1975; 47: p: 164.
3. Kehlet H, Holte K. Effect of postoperative analgesia on surgical outcome. British Journal of Anaesthesia 2001; 87: 62-7
4. Wu CL. Acute postoperative pain In: Ronald D.Miller, eds. Miller's Anesthesia. 6th edition. Philadelphia: Elsevier; 2005. p. 2729-62
5. Cicco D, Matovic M, Castellani G. T. et al. Time-dependent efficacy of bacterial filters and infection risk in long-term epidural catheterization. Anesthesiology 1995; 82: 765-71
6. Horlocker TT. Complications of spinal and epidural anesthesia. Anesthesiology Clinics of North America 2000; 18: 461-85
7. Klieneberger N.E. Filtrable forms of bacteria. Bacteriol Rev 1951;15: 77-103
8. Mishra S, Bhatnagar S, Srikanti M. et al. Clinical implication of routine bacterial culture from epidural catheter tips in postoperative cancer patients: a prospective study. Anaesthesia 2006; 61: 878-82
9. Steffen P, Seeling W, Essig A. et al. Bacterial contamination of epidural catheters: Microbiological examination of 502 epidural catheters used for postoperative analgesia. Journal of Clinical Anesthesia 2004; 16: 92-7
10. Abouleish E, Amortegui AJ, Taylor FH. Are bacterial filters needed in continuous epidural analgesia for obstetrics. Anesthesiology 1977; 46: 351-4
11. Abouleish E, AmorteguiAJ. Correspondence: Millipore filters are not necessary for epidural block. Anesthesiology 1981; 55: 604
12. Kaushal M, Narayan S, Aggarwal R. et al. In vitro use of bacterial filters for prevention of infection. Indian Pediatrics 2004; 4: 1133-7
13. Miller RD :Spinal, epidural, and caudal anesthesia, In: Anesthesia 42, 2000; 1510
14. Hodson M, Gajraj R, Scott N.B Comparison of antibacterial activity of levobupivacaine vs. bupivacaine in vitro study with bacteria implicated in epidural infection. Anaesthesia 1999; 54: 683-702

15. Begeç Z, Gülhaş N, İlksen H. ve ark Alkalinize bupivakain ve ropivakainin antibakteriyel etkinliği, Türk Anestezi ve Reanimasyon Derneği Dergisi 2007; 35(1): 11-5
16. Feldman JM, Chapin-Robertson K, Turner J. Do agents used for epidural analgesia have antimicrobial properties? Reg Anesth. 1994: 43-7
17. Sakuragi T, Ishino H, Dan K. Bactericidal activity of clinically used local anesthetics on Staphylococcus aureus. Reg Anesth. 1996; 21(3): 239-42
18. Aydın ON, Eyigor M, Aydın N. Antimicrobial activity of ropivacaine and other local anaesthetics. European Journal of Anaesthesiology 2001; 18(10):687-94.
19. Coghlan MW, Davies MJ, Hoyt C et al. Antibacterial activity of epidural infusions. Anaesthesia and Intensive Care 2009; 37(1):66-9.
20. Guillier M, Boselli E, Bouvet L. et al. Levobupivacaine hydrochloride and sufentanil have noantimicrobial effect at 25⁰C in vitro. European Journal of Anaesthesiology 2007; 24: 634–9
21. Kayhan Z. Bölgesel anestezi yöntemleri. Klinik Anestezi. İstanbul.2004; 552-87
22. Grewal S, Hocking G, Wildsmith J.A.W. Review article: Epidural abcess. 2006; British Journal of Anaesthesia 96: 292-302
23. Wallace MS, Magnuson KS. Complications of pain therapy In: Jonathan L. Benumof and Jonathan J. Saidman, eds. Anesthesia and perioperative complications.1999. p. 90-111
24. Wood CE, Goresky GV, Klassen KA. et al. Complications of continous epidural infusions for postoperative analgesia in children. Can J Anaesth 1994; 41: 613-20
25. Kost- Byerly S, Tobin JR, Greenberg RS et al. Bacterial colonization and infection rate of continous epidural catheters in children. Anesthesia & Analgesia 1998; 86: 712-6
26. Richman JM, Wu CL Epidural analgesia for post operative pain. Anesthesiology Clinics of North America 2005; 23: 125-40
27. Hayek MS, Paige B, Girgis G, Kapural L et al. Tunneled epidural catheter infections in noncancer pain: Increased risk in patients with neuropathic pain/complex regional pain syndrome. Clinical Journal of Pain 2006; Vol 22: 82-9

28. Brull R, Mc Cartney CJL, Chan VWS, Harget MJ et al. Disclosure risks associated with regional anesthesia: A survey of academic regional anesthesiologists. *Reg Anesth and Pain Med.* 2007; 32: 7-11
29. Hebl JR, Neal JM. *Editorials* Infectious complications: A new practice advisory. *Reg Anesth and Pain Med* 2006; 31: 289-90
30. Byres K, Axelrod P, Michael S. et al. Infections complicating tunneled intraspinal catheter systems used to treat chronic pain. *Clinical Infectious Diseases* 1995; 21: 403-8
31. Rathmell JP, Lake T, Ramundo MB. Infectious risks of chronic pain treatments: injection therapy, surgical implants and intradiscal techniques. *Reg Anesth and Pain Med* 2006; 31: 346-52
32. Du Pen SL. Peterson DG, Williams A. et al. Infection during chronic epidural catheterization: Diagnosis and Treatment. *Anesthesiology* 1990; 73: 905-9
33. Phillips JM, Stedeford JC, Hartsilver E et al. Epidural abscess complicating insertion of epidural catheters. *British Journal of Anaesthesia* 2002; 89: 778-82
34. www.smiths.medical.com, www.egemen.com.tr, www.rusch.com, www.perifix.com, bbraunusa.com
35. Charlton GA, Lawes EG. The effect of micropore filters on the aspiration test in epidural analgesia. *Anaesthesia* 1991; 46: 573-5
36. Mishra S, Bhatnagar S, Srikanti M, Gupta D. Clinical implication of routine bacterial culture from epidural catheter tips in postoperative cancer patients: a prospective study. *Anaesthesia* 2006; 61: 878-82
37. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz ulusal bilgi bankası 2007
38. James FM, George RH, Naiem H, et al. Bacteriologic aspects of epidural analgesia. *Anesthesia Analgesia* 1976; 55: 187-90.
39. Raedler C, Lass-Florl C, Puhlinger F et al. Bacterial contamination of needles used for spinal and epidural anaesthesia. *British Journal of Anaesthesia* 1999; 83: 657-8.
40. Low SHJ. Survey of epidural analgesia management in general intensive care units in England. *Acta Anaesthesiol Scand* 2002; 46: 799-805
41. Nitescu P, Hultman E, Applengren L et al. Bacteriology, drug stability and exchange of percutaneous delivery systems and antibacterial filters in long term

- intrathecal infusion of opioid drugs and bupivacaine in 'refractory' pain. *Clinical Journal of Pain* 1992; 8: 324-37
42. Berde CB, Strichartz GR. Local Anesthetics. In: Miller RD. *Anesthesia*. 5th Ed. Volume I, Philadelphia, 2000; 491-521.
 43. Smitt PS, Tsafka A, Bent M et al: Spinal epidural abscess complicating chronic epidural analgesia in 11 cancer patients: Clinical findings and magnetic resonance imaging, *Neurology* 1999. 246: 815
 44. Silva MT, Sousa JCF, Polonia JJ. et al. Effects of local anesthetics on bacterial cells. *Journal of Bacteriology* 1979;137:461–8.
 45. Lazdunski C, Baty D, Pages JM. Procaine, a local anesthetic interacting with the cell membrane, inhibits the processing of precursor forms of periplasmic proteins in *Escherichia coli*. *European Journal of Biochemistry* 1979; 96: 49–57.
 46. Ohsuka S, Ohta M, Masuda K et al. Lidocaine hydrochloride and acetylsalicylate kill bacteria by disrupting the bacterial membrane potential in different ways. *Microbiology and Immunology* 1994;38: 429–34
 47. Fazly Bazas BS, Salt WG: Local anaesthetics as antimicrobial agents: structure action considerations. *Microbios* 1983 37: 45-64
 48. Cullen BF, Haschke RH: Local anesthetic inhibition of phagocytosis and metabolism of human leukocytes. *Anesthesiology* 1974, 40: 141-6
 49. Abbott Laboratories. Chirocaine 5 mg/ml: summary of product characteristics. Cambridge. UK, 1999
 50. McLeod GA, Burke D. Review Article: Levobupivacaine. *Anaesthesia*. 2001; 56: 331–41
 51. Bailey PL, Stanley TH. Pharmacology of intravenous narcotic anesthetics. In: *Anesthesia*, Miller RD, Churchill Livingstone, New York, 1986: 745-97
 52. Kampe S, Poetter C, Buzello S et al. Ropivacaine 0.1% with sufentanil 1 mg/mL inhibits in vitro growth of *Pseudomonas aeruginosa* and does not promote multiplication of *Staphylococcus aureus*. *Anesthesia & Analgesia* 2003; 97: 409–11.
 53. Tamanai-Shacoori Z, Shacoori V, Vo Van J.M. et al. Sufentanil modifies the antibacterial activity of bupivacaine and ropivacaine *Can J Anesth* 2004 / 51: 911–4

54. Tamanai-Shacoori Z, Shacoori V, Gougeon A. et al. Antibacterial activity of tramadol Anesthesia & Analgesia 2007 Vol. 105 524-7
55. Rosenberg P.H and Renkonen O.V. Antimicrobial activity of bupivacaine and morphine. Anesthesiology 1985; 62: 178-9
56. Collins VJ. Intravenoz Anesthesia; Narcotic and Neuroleptic Agents. Principles of Anesthesia; 3 th edition, Lea-Febriger, Philedelphia,1993; 701-4
57. Anesthesia, C.V.I. Narcotic and Neuroleptic Agents. Principles of Anesthesia 1993. 701-34.
58. Waldvogel FA: Staphylococcus aureus. In: Mandell G, Bennet JE, Dolin R. Principles and practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone; 2000: 2069-92
59. Boyce JM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals and long-term care facilities: microbiology, epidemiology, and preventive measures. Infection Control and Hospital Epidemiology 1992;13: 725-37
60. Bannerman TL. Staphylococcus, micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller, MA, Tenover FC, Tenover RH. eds. Manual of Clinical Microbiology, 2003:384-404.
61. Türk Anestezi ve Reanimasyon Derneği Dergisi Anestezi Uygulama Kılavuzları. Postoperatif Ağrı Tedavisi 2006
62. http://www.en.wikipedia.org/wiki/Scanning_electron_microscope
63. Afrikan EG, Julian GSt, Bulla LA. Scanning electron microscopy of bacterial colonies. Applied Microbiology 1973; 26: 924-37
64. Kodjikian L, Brullion C, Roques C et al. Bacterial adherence of staphylococcus epidermidis to ocular lenses: A Bioluminescence and scanning electron microscopy study. Investigative Ophthalmology and Visual Science 2003; 44: 4388-94
65. Ar M.C. Sürekli tıp eğitimleri etkinlikleri. Hastane enfeksiyonları: Koruma ve kontrol. 2008; 239-53

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel (Invaziv) Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu

Sayı: 271
Konu:

01.10.2010

Sayın Yrd.Doç.Dr.Yüksel ERKİN

Dr.Gülay AKINCI

Sorumlusu olduğunuz “Levobupivacainin Düşük ve Standart Konsantrasyonlarının Hasta Kontrollü Epidural Analjezi Modelinde Antibakteriyal Etkinliğinin Araştırılması” isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak in vitro deneysel çalışına olarak planlandığı anlaşılmıştır. “Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel (Invaziv) Olmayan Klinik Araştırmaları Değerlendirme Komisyonu” yönergesinde yer alan görev tanımında “insana bir hekimin doğrudan müdahalesini gerektirmeden yapılacak tüm araştırma konuları” olması ve in vitro çalışmaların Komisyonumuzun görev alanına girmemesi nedeniyle çalışmanızın değerlendirmeye alınamamıştır.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.



Prof.Dr.Ayşegül YILDIZ
Başkan

