



T.C.

MERSİN ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**RAT OSTEOMİYELİT MODELİNDE LOKAL
BİYOBOZUNUR ANTİBİYOTİK TAŞIYICI SİSTEMİN ETKİNLİĞİ**

Dr. Mehmet GÖZLÜGÖL

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Metin M. ESKANDARI

Mersin-2011



T.C.

MERSİN ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**RAT OSTEOMİYELİT MODELİNDE LOKAL
BİYOBOZUNUR ANTİBİYOTİK TAŞIYICI SİSTEMİN ETKİNLİĞİ**

Dr. Mehmet GÖZLÜGÖL

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Metin M. ESKANDARI

Bu tez, BAP-TF CTB (MG) 2011-4 TU kodlu proje olarak Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Mersin-2011

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresinde bilgi ve deneyimleriyle eğitimimde büyük emeği olan, hastalarına ve asistanlarına karşı olan iletişimi, insancıl davranışlarıyla örnek bir hekim olan, bilimsel konular haricinde insani ve mesleki etik kurallar konusunda her zaman örnek olan, tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum sayın hocam Doç. Dr. Metin ESKANDARİ'ye;

Eğitimimde bilgi ve deneyimleriyle beni aydınlatan, her konuda desteğini ve anlayışını esirgemeyen saygıdeğer hocalarım; Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Volkan Öztuna, yıllarca Anabilim Dalı Başkanlığı görevini üstlenen Prof. Dr. Fehmi KUYURTAR, Doç. Dr. Abtullah MİLCAN, Doç. Dr. Cengiz YILMAZ, Doç. Dr. İrfan AYAN ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇOLAK'a;

Yoğun çalışma temposuyla geçen asistanlık eğitimim sürecinde, onlara ayırmam gereken zamandan çalmış olmama rağmen benden desteğini esirgemeyen sevgili eşim Fazilet ve oğlum Çağan'a;

Asistanlık yıllarım boyunca yanımda olan, iyi kötü birçok şeyi birlikte yaşadığımız asistan arkadaşlarıma;

Tezimin oluşumunda yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. H. Gülçin ESKANDARİ'ye, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Gülden ERSÖZ ve uzman Dr. Mustafa UĞUZ, tezimin İstatistiksel değerlendirmesinde yardımlarından dolayı Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Şebnem ATICI ve Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nurgül Arıncı incel'e,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	6
ABSTRACT	7
1. GİRİŞ VE AMAÇ	8
2. GENEL BİLGİLER	10
2.1. Osteomyelitin Tanımı.....	10
2.2. Osteomyelitin Tarihçesi.....	10
2.3. Osteomyelitin Etyopatogenezi.....	11
2.4. Osteomyelitte Lokal İnflamasyon ve Kemik Hasarı.....	14
2.5. Osteomyelit Mikrobiyolojisi.....	15
2.6. Osteomyelitin Sınıflandırılması.....	17
2.7. Osteomyelitin Tanısı.....	20
2.7.1. Fizik Muayene.....	20
2.7.2. Laboratuar.....	21
2.7.3. Görüntüleme Yöntemleri.....	22
2.7.3.1. Direk Grafiler.....	22
2.7.3.2. Bilgisayarlı Tomografi(BT).....	23
2.7.3.3. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG).....	23
2.7.3.4. Kemik Sintigrafisi.....	24
2.7.3.5. Pozitron Emisyon Tomografisi (PET).....	25
2.7.4. Kültür.....	26
2.7.4.1. Kemik Biyopsisi/Kültürü.....	27
2.8. Osteomyelitin Tedavisi.....	28
2.8.1. Medikal Tedavi.....	29
2.8.2. Cerrahi Tedavi.....	31
2.8.2.1. Genel Prensipler.....	31
2.8.2.2. Debridman.....	32
2.8.2.3. Kemik Defektlerinin Rekonstrüksiyonu ve Ölü Boşluk Tedavisi.....	33
2.8.2.3.1. Açık Kemik Greftlemesi.....	33
2.8.2.3.2. Yumuşak Doku Transferleri.....	33
2.8.2.4. Polimetilmetakrilat Antibiyotikli Boncuk Zincirleri (PMMA).....	34
2.8.2.5. Biyobozunur Antibiyotik Taşıyıcı Sistemler.....	35
2.8.2.6. İlizarov Tekniği.....	35

2.8.2.7. Kapalı Emme Drenleri.....	36
2.8.2.8. Amputasyon.....	36
2.8.2.9. Hiperbarik Oksijen Tedavisi.....	37
2.9. Komplikasyonlar.....	37
2.10. Prognoz.....	37
2.11. Vankomisin.....	38
2.12. Siyanoakrilat.....	38
2.13. Jelatin Sünger.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Etik Kurul Onayı.....	40
3.2. Deney Hayvanları ve Deneyin Yapıldığı Ortam.....	40
3.3. Çalışma Gruplarının Planlanması.....	40
3.4. Osteomyelit Oluşturmak İçin Kontamine Yabancı Cisimlerinin Hazırlanması.....	41
3.5. Lokal Biyobozunur Vankomisin Taşıyıcı Sistemin Hazırlanması.....	42
3.6. Osteomyelit modeli oluşturma.....	44
3.7. Osteomyelit tayini ve tedaviye başlama.....	48
3.8. Antibiyotik Uygulama Süreçleri.....	50
3.9. Osteomyelit Oluşumunun Tayini.....	52
3.10. Deneklerin Sakrifikasyonu ve Örnek alma.....	52
3.11. Mikrobiyolojik Çalışma.....	53
3.12. Biyokimyasal Çalışma.....	54
3.13. İstatistiksel Çalışma.....	56
4. BULGULAR.....	57
4.1. Enfeksiyonun Belirleyicileri Açısından Bulgular.....	57
4.2. Doku Vankomisin seviyeleri Açısından Bulgular.....	64
4.3. Serum Kreatinin Seviyeleri Açısından Bulgular.....	65
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	75
7. KAYNAKLAR.....	76
8. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	85
9. ŞEKİLLER DİZİNİ.....	86
10. RESİMLER DİZİNİ.....	87
11. TABLOLAR DİZİNİ.....	88

ÖZET

Bu çalışmada kullanılan lokal antibiyotik taşıyıcısı, kliniğimizde 2006 yılında geliştirilen biyobozunur bir sistemdir. İlaç olarak vankomisin, ilaç tutma malzemesi olarak siyanoakrilat ve çatı iskeleti olarak jelatin sünger içerir. Daha önceki çalışmamızda, in vitro ve in vivo salınım özellikleri test edilmiş ve etkinliği gösterilmişti. Bu çalışmada rat osteomyelit modelinde tedavi edici etkisi, enfekte kemik dokusunda salınım profili ve yan etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Yetmiş beş Sprague-Dawley cinsi dişi ratın tibia proksimal metafizine, üzerlerinde metilsine rezistan stafilokokus aureus (MRSA) kolonize edilmiş Kirschner (K) telleri yerleştirilerek osteomyelit modeli (n=73) oluşturuldu. Denekler, sistemik vankomisin (SV grubu, n=23), sistemik artı lokal (SL grubu, n=25) ve sadece lokal vankomisin tedavi (LV grubu, n=25) ana gruplarına ayrıldı. Tedavi protokolleri, bütün ratlarda K telleri çıkartılıp tibiadaki proksimal metafizer alan drillendikten sonra uygulandı. Lokal uygulamada taşıyıcı sistem kemikte oluşturulan oluğa yerleştirildi. Toplam 5 rat çalışmanın değişik evrelerinde öldü. Her gruptaki ratların yarısı 18, diğer yarısı 28. gün sakrifiye edildi. Çalışmanın toplam 6 grubu uygulanan tedavi yöntemi ve sakrifikasyon günü temelinde adlandırıldı (ör. SV-18 grubu). Lokal apse oluşumu, kemikte kantitatif kültür, doku vankomisin düzeyi, kanda beyaz küre, serumda C reaktif protein (CRP), interlökin-6 (IL-6) ve kreatinin seviyeleri değerlendirilen bulgulardı. Elde edilen parametrik değerler One Way Anova ve non-parametrik değerler Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Klinik apse oluşumu SV-28 grubunda LV-28'e göre daha fazlaydı (p=0.018). C reaktif protein SV grubunda 28. günde 18. güne göre artış gösterdi (p=0.044). Aynı parametre SV-28 grubunda LV-28'e göre yüksek bulundu (p=0.015). Doku vankomisin düzeyi LV-28 grubunda SV-28'e göre yüksek bulundu (p=0.001). Diğer çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Geliştirdiğimiz taşıyıcı sistem, ameliyathane ve acil gereksinim koşullarında kolayca hazırlanabilen, enfekte kemik dokusunda etkin ve uzun süreli salınım yapan, enfeksiyonu sınırlayan ve nefrotoksik etki oluşturmayan bir tedavi seçeneğidir.

ABSTRACT

The local antibiotic carrier used in this study, is a biodegradable system developed in our clinic in 2006. It contains vancomycin as the drug, cyanoacrylate as the drug trapping material and gelatin sponge as the scaffold. Our previous study showed its effective drug delivery properties in vitro and in vivo. In this study, we aimed to investigate its therapeutic effect on rat osteomyelitis model, vancomycin release profile in infected bone tissue, and possible side effects.

Osteomyelitis model (n=73) was created by placing Kirschner (K) wires, which were colonized with methicillin resistant staphylococcus aureus (MRSA) into the proximal tibial metaphysis of seventy-five Sprague-Dawley rats. The subjects were divided into systemic vancomycin (SV group, n = 23), systemic and local (SL group, n = 25) and local vancomycin (LV group, n = 25) main treatment groups. Treatment protocols were performed in all rats after removing K wires and drilling the proximal tibial metaphysis. In local administration, carrier systems were placed into the hole created in the metaphyseal bone. At different stages of the study a total of 5 rats died. Half of the rats in each main group were sacrificed at the 18, and the remaining at the 28th days. The total 6 study groups were named due to the treatment method and sacrifice day (eg, SV-18 group). Local abscess formation, quantitative culture of bone, bone vancomycin level, white blood cell count, serum C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and creatinine levels were studied parameters. The results were compared statistically using One Way ANOVA for parametric and Mann-Whitney U test for non-parametric values.

There were more abscess formations in SV-28 than LV-28 group ($p = 0.018$). C reactive proteins were elevated at 28 in comparison of 18th day in SV group ($p = 0.044$). C reactive proteins were also higher in SV-28 than LV-28 group ($p = 0.015$). Tissue levels of vancomycin were higher in LV-28 than SV-28 group ($p = 0.001$). No statistically significant difference was found among other study groups.

Carrier system presented here can easily be prepared in the operating room and in emergent necessity conditions, provides effective and long-term drug release in infected bone tissue, and can effectively restrict bone infection with no nephrotoxic side effect.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik ve kemik iliğinin enfeksiyonu olan osteomyelit halen önemli kayıplara yol açabilen, tedavisi zor ve sık görülen bir hastalık olmaya devam etmektedir. Osteomyelit, semptomların süresine göre üçe (akut, subakut ve kronik) ve enfeksiyonun mekanizmasına göre iki (ekzojen ve hematojen) gruba ayrılır. Kronik osteomyelit, tedaviyi yönlendirici özelliği olan Cierny - Mader sınıflamasına göre anatomik ve fizyolojik olarak sınıflandırılır. Bu sınıflandırmaya göre osteomyelit anatomik olarak; medüller, yüzeysel, lokalize ve yaygın alt tiplerine ayrılır. Fizyolojik olarak konak; normal, ek sorunlu ve sistemik sorunlu alt başlıklarında sınıflandırılır. Erişkin osteomyelitlerin büyük çoğunluğu kemiğe cerrahi olarak yerleştirilen ortopedik implantlar zemininde gelişmektedir. Bu osteomyelitlerin çoğu Cierny - Mader sınıflamasına göre anatomik olarak medüller ve fizyolojik olarak lokal ek sorunlu şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Bu tip osteomyelitte güncel tedavi algoritması; tüm tespit materyali, ölü kemik ve enfekte yumuşak dokuların uzaklaştırılması, ortaya çıkan ölü boşlukların doldurulması ve lokal ve/veya sistemik antibiyotik tedavisi verilmesinden oluşmaktadır. Lokal antibiyotiğin salınımı için genellikle kemik çimentosuna antibiyotik yüklenmiş preparatlar kullanılmaktadır. Bu preparatlar kısa antibiyotik salınım süreleri ve ek ameliyat ile çıkarılma gereksinimleri nedeni ile ideal yöntem olmaktan uzaktırlar. Osteomyelit tedavisinde sistemik yoldan verilen antibiyotikler ölü kemik ve nekrotik içerikle dolu kavitelere iyi geçiş yapamadıklarından sınırlı etkiye sahiptirler. Bu antibiyotikler aynı nedenlerle çok yüksek doz ve uzun süre verilmeleri gerektiğinden, yan etkilerin ortaya çıkması, uzun hastanede kalış süreleri, yüksek maliyet ve ek cerrahi gereksinim dezavantajlarına sahiptirler¹.

Bu çalışma, daha önce kliniğimizde geliştirilen biyobozunur lokal vankomisin salınım sisteminin enfekte kemik ortamındaki etkinliğinin araştırılması amacıyla planlanmıştır. Daha önce yapılan ve yayımlanan çalışmamız, söz konusu sistemin in vitro ortamda 42 ve in vivo ortamda en az 14 gün MİK değerinin üzerinde vankomisin konsantrasyonu sağladığını, salınımın görece stabil ve lineer seyrettiğini, üretimin son derece kolay ve ucuz olduğunu göstermiştir². Bu çalışmada, söz konusu sistemin kontamine metal

implant ile oluşturulan rat tibia osteomyelit modelindeki etkinliği araştırılmıştır. Çalışmanın üç ana amacı, 1) sistemin mikrobiyolojik yönden osteomyelit modelindeki etkinliği ve geleneksel tedavi süreci ile karşılaştırılması, 2) enfekte kemik oluğu ortamında sağlanan vankomisin düzeyinin tayini ve 3) vankomisinin yan etkilerinden olan böbrek yetmezliği yönünden kreatinin seviyesinin araştırılması idi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Osteomyelitin Tanımı

Osteomyelit, kemik ve kemik iliğinin enfeksiyon nedeniyle oluşan enflamasyonudur. Kemik ve eklem enfeksiyonlarındaki tedavinin başarısı, anatomik ve patofizyolojik bazı özellikler nedeniyle, vücudun diğer bölgelerindeki enfeksiyonların tedavisinde elde edilen başarılarla kıyasla düşüktür.

Hastaların çoğu, defalarca ameliyat edilen, uzun süre değişik antibiyotik tedavileri alan, ama enfeksiyonu hala devam eden olgulardır. Osteomyelitin bu süregelen hali hastada, hem fiziksel olarak kısıtlama hem de ruhsal sekeller bırakabilen bir tablodur³.

2.2. Osteomyelitin Tarihçesi

Tarihte Mısır mumyalarında 4000 yıllık kronik osteomyelit lezyonları saptanmış olup tarihteki ilk osteomyelit kayıtlarına, MÖ 2500 yıllarındaki Hindu yazıtlarında rastlanmaktadır. Hipokrat (MÖ 400), travma ile ilişkili olarak gelişen kemik enfeksiyonlarını ve sekestrin spontan atılmasını tarif etmiştir. On yedinci yüzyılda Howship ve Havers kemik anatomisini ayrıntılı olarak tanımlamış ve Percival Pott sekestrektomiye tarif etmiştir. 1830'da Brodie, dokuz adet kronik kemik absesi olgusu yayınlamıştır. 1834'de Nelaton, osteomyelit terimini kullanmıştır⁴.

Yıllar önce osteomyeliti olan hastaların % 20'si ölürken günümüzdeki sterilite anlayışı, tedavi seçenekleri ve antibiyotiklerdeki ilerlemeler ile osteomyelite bağlı ölümler artık gözlenmeyip, hastalığın komplikasyonu sonucu görülen sekel oranının %5'lere kadar indiği öne sürülmektedir⁵. Başarılı bir tedavinin kuralı, kemik biopsisi ile tanı koyarak radikal bir şekilde ölü dokuların temizlenmesi ve uzun süreli etkin antibiyoterapidir³. Günümüzde iyileşme oranlarındaki bu artışa karşın, osteomyelit halen ortopedistleri ve enfeksiyon hastalıkları uzmanlarını uğraştıran bir konudur. Tedaviden 40 yıl sonra tekrar alevlenen osteomyelitli olgu sunumlarının varlığı, bu hastalıkta kürden söz etmenin ne kadar zor olduğunu göstermektedir⁶.

2.3. Osteomyelitin Etyopatogenezi

Osteomyelit insidansı yüksek değildir. Çünkü kemik, enfeksiyonlara yüksek derecede direnç gösterme özelliğine sahiptir. Osteomyelit için risk grubundaki hastalar şunlardır:

- ✓ Diyabet,
- ✓ Dekübit ülserleri,
- ✓ Cerrahi,
- ✓ Travma ve
- ✓ İntravenöz ilaç kullanımı.

Yüksek miktarda mikroorganizma inokülasyonu, kemik hasarına yol açabilen travmalar ya da yabancı cisimler, enfeksiyona yol açar. Açık kırıkları takiben osteomyelit insidansı, %2 - %16 arasında bildirilmiştir. Bu oranın travma derecesine ve uygulanan tedaviye göre değiştiği bildirilmiştir⁷. Waldvogel ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmaya göre, osteomyelitlerin %19'u hematogen, %47'si yumuşak dokudaki enfeksiyon odağına sekonder, %34'ü ise vasküler yetmezliklerle ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır⁸. Hematogen osteomyelitler genellikle çocuklarda görülür ve erkeklerde daha siktir. Epifiz plağının kapanmasının ardından kemikler, mikrobiyal ekimlere daha az eğilimli hale gelmektedir. Bu nedenle immün sistem sorunu olmayan erişkin hastalarda hematogen osteomyelit nadirdir⁷. Erkek çocuklarda risk görece artmış durumdadır. Bu risk adolesan dönemde pik yapar⁹.

Çocukluk dönemi osteomyelitleri sıklıkla akut seyirli ve sistemik dolaşıma yayılıp kemiğe gelen mikroorganizmalardan kaynaklanmaktadır. Bakteriyemi, çocukluk çağında neredeyse her gün gerçekleşen bir olaydır. Sadece dış fırçalamak ile dahi ağız florası mikroorganizmaları sistemik dolaşıma karışırlar¹. Yani lokal ya da sistemik olarak kemik dokunun direncini azaltan predispozan bir faktör devreye girmedikçe enfeksiyon gelişmez. Enfeksiyonun oluşmasında kemik dokudaki lokal nedenler (travma) ve hastanın sistemik defansının düşük olması (immün yetmezlik sendromları, diyabet, malnütrisyon, kronik hastalıklar, vb.) rol oynar^{10,11}. Kabak ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada, yeni

Zelanda tavşanlarından 3 grup oluşturdu. 1. grupta tibia proksimalinde lokal hasar, 2. gruba bakteriyemi ve 3. gruba her ikisi uygulandığında 1. ve 2. grupta birer hayvanda enfeksiyon saptanmasına rağmen 3. grubun tamamında sintigrafik tutulumu ve histolojik bulgular saptanmış. Bu çalışmayla lokal travmanın enfeksiyonu belirgin olarak arttırdığı gösterilmiştir¹². Tutulum, 2 yaşın altında ve 8 – 12 yaşlar arasında daha fazla görülür. Hastanın yaşına göre enfeksiyonun seyri de değişmektedir. Septik emboli ile kemiğin metafizine gelen organizmalar enflamasyonu başlatır. Metafizler bölgenin venöz yapısı sinüzoidal ve dar lümenli (8 µm) olduğu için akım buralarda yavaşlar ve mikroorganizmalar endotel duvarın arasındaki boşluklardan kemiğe kolayca geçebilir¹³. Ayrıca metafizer bölgedeki makrofajların aktivitesi, kemiğin diğer bölgelerine göre daha düşüktür. Deneysel çalışmalardan elde edilen bilgilere göre, enflamasyon sonrası ödem nedeniyle avasküler bir saha oluşmaya başlar ve 48 saat içinde apse formasyonu gelişir. Daha sonra kemik iliğinde lokal nekroz oluşur ve nekroz çevresindeki ödem büyüme kırıkdağının kalsifiye zonuna kadar yayılır. Apseler büyüdükçe kemik iliği basıncı artar ve daha fazla kemik segmenti avasküler kalır. İnokülasyon sonrası 96. saatte apse dokusu iyice yayılır ve olgunlaşır¹³. Intramedüller oksijen basıncı azalır ve ortam asidik hale gelir¹⁰. Sonunda pürülan materyal korteksi delip subperiostal sahaya ve çevre yumuşak dokulara yayılır ve ciltten fistülize olur. Eğer enfeksiyon akut dönemde iyi tedavi edilmezse sekestr oluşumu ve kronik osteomyelit kaçınılmazdır. Kronik olgularda enfekte ve nekroze kemiğin (sekestr) reaktif olarak gelişen kemik dokuyla (involutrum) çevrelenmesi söz konusudur. Bu bölge, kanlanması bozulmuş bir mikroorganizma yatağı halindedir. Bütün devitalize kemikler sekestr haline gelmez. Bir kısmı osteoklastlar tarafından rezorbe edilerek revaskülarize sahalar haline gelir. Sekestrdeki Haversian kanalları enfekte granülasyon dokusu ile tıkanmıştır. Bu bölgenin üzerindeki periost dokusu da kalınlaşmış ve skar halini almıştır^{3,4}.

Açık kırıklar ve cerrahi sonrası bulaşma ile oluşan osteomyelitler, ortopedistlerin en sık karşılaştıkları enfeksiyonlardır. Periostun sıyrıldığı ve çevre yumuşak dokuların hasar gördüğü yüksek enerjili travmaların yaptığı kırıklarda, enfeksiyon görülme olasılığı artar¹⁴. Açık kırıklarda hem Gram pozitif, hem Gram negatif, hem de anaerob organizmalar ile bulaş olabilir. Radikal

debridman ve geniş spektrumlu antibiyotik kombinasyonları ile enfeksiyonlar önlenmeye çalışılmalıdır³. Cerrahi girişimlerden önce profilaktik antibiyotik uygulanması ve sterilite prensiplerine gereken önemin verilmesi ile enfeksiyon oranları azaltılabilir. Operasyon sonrası gelişen enfeksiyonları engelleme konusunda 1941'de Mc Kisson tarafından bildirilen bir raporda, aseptik şartlara çok dikkat edildiğinde, ameliyathane içindeki personelin gereksiz hareketleri kısıtlandığında, yumuşak doku diseksiyonlarında hassas davranıldığında enfeksiyon oranının %15'ten %1,1'e düştüğü yayınlanmıştır¹⁵.

Ortopedi ameliyatlarının diğer disiplinlerden farklı olan yönleri, cerrahi işlemler sırasında kemik kanlanması kolayca bozulabilmesi (periostun sıyrılması, medüller kanalın oyulması vb.), mikroorganizmaların kemiğe yapışmasını kolaylaştıran ortamın meydana gelebilmesi ve bir implantın kullanılması sonucu biyofilm tabakasının oluşmasıdır^{1,10}. Tüm bu faktörler enfeksiyon oluşması sürecine katkıda bulunur.

Stafilokok aureus, osteomyelit hastalarında en sık izole edilen etkindir. *S aureus* (stafilokokus), kemik matriksinin birden çok komponentine yapışma özelliğine sahiptir. *S aureus* kemiğin fibrinojen, fibronektin, laminin, kollajen, sialo-glikoprotein ve clumping faktör A komponentlerine yapışma özelliğine sahiptir. Bu yapışma, bakteriyel yüzeydeki protein adezinleri, "mikrobiyal yüzey komponentlerini tanımlayan adeziv matriks molekülleri" tarafından yönetilir¹⁶. Kollajen-adezin'i pozitif olan *S aureus*, farelere enjekte edildiğinde; bu hayvanların %70'inden fazlasında enfeksiyon bulguları gelişirken; kollajen adezin-negatif *S aureus* enjekte edildiğinde ise %27'den az oranda enfeksiyon bulguları gelişmiştir¹⁷. Stafilokokal protein A, hücre duvarının bir komponentidir ve IgG'nin Fc-reaktif bölgesine bağlandığından güçlü anti-fagositik özelliğe sahiptir. Bu nedenle fagositik hücrelerle IgG'nin Fc bölgesine bağlanmak için yarışır¹⁸. *S aureus*'un yüzey proteinleri, katabolik faktörleri (Tümör nekrozis faktör—alfa (TNF), prostaglandinler ve IL-1) salgılamak üzere hücreleri indükler, bu faktörler salındıktan sonra osteolizis tablosu oluşur¹⁹. *S aureus*, *S epidermidis*, Grup A streptokoklar ve *P aeruginosa* için tanımlanmış olan biyofilm formasyonu, bu mikroorganizmaların eradike edilmesini zorlaştırmaktadır²⁰. Bu mikroorganizmalar biyofilm sayesinde uzun süre

yaşayabildikleri için, anti-mikrobiyal ilaçlara karşı direnç kazanabilmektedirler. Biyofilm formasyonu; antimikrobiyal ajanların mikroorganizmaya ulaşmasını engellemek üzere fagositik hücreler tarafından oluşturulan fiziksel bir bariyerdir. Bu bakterilerin metabolik aktiviteleri düşük olduğundan, birçok antibiyotığın biyofilm formasyonunu engelleyici etkisi çok zayıftır²¹. *S aureus*, enflamasyonu tetikleyerek hem Prostaglandin E2 üzerinden T lenfositlerinin çoğalmasını engeller²², hem de ortama gelen nötrofillerin ve monositlerin içine girerek yaşamına devam edebilir²³. Makrofajların içinde mikroorganizmaların yok edildiği fagolizozom yapılarına değil, korunaklı olan makropinozom yapılarının içine girer. Yani içinde yaşayabileceği konak hücrelerini, enflamasyon yaratıp önce kendi üzerine çeker daha sonra içlerine girerek vücudun savunma mekanizmalarından korunur. Böylece akut alevlenmeler ile karakterize kronik enfeksiyonların temeli atılmış olur²⁴.

2.4. Osteomyelitte Lokal İnflamasyon ve Kemik Hasarı

Osteomyelitte kemik dokusunun harabiyetinden üç mekanizma sorumlu tutulur²⁵;

1. Bakterinin salgıladığı endotoksinlerin yaptığı hasar (bakteriyel lipopolisakkarit).
2. Bakterinin osteoklastik aktiviteyi tetiklemesi.
3. Kemik matriks sentezinin engellenmesi.

Yakın geçmişte yapılan çalışmalar ile osteomyelitteki kemiksel hasarın enfeksiyondan çok hücrel ve moleküler düzeyde oluşan inflamatuvar yanıt nedeniyle oluştuğu gözlemlenmiştir. Daha önce osteomyelit zemininde gelişen kemik hasarında enfeksiyöz mekanizmaların daha etkin olduğu sanılıyordu. Fakat günümüzde mikroorganizmanın tetiklediği inflamatuvar yanıtın kemik hasarındaki rolü açıkça ortaya konmuştur. Bu mekanizmalarda, konağın bağışıklık sistemine ait makrofajlardan ve bakteriyel lipopolisakkarit ile stimüle edilmiş osteoblastlardan salınan IL-1, IL-6, IL-11, nitrik oksit ve TNF gibi sitokinler rol oynar^{26,27}. İnflamatuvar sürecin en iyi kanıtı, in vitro deneylerde kemik hasarının siklooksigenaz enzim inhibisyonu ve anti IL-1 serumu ile

engellenebilmiş olmasıdır²⁷. İnflamasyonun diğer bir kolu olan lökotrienlerin de osteoklastik aktiviteyi arttırdığı ve lökotrien yolağının 5-lipoksigenaz enzim inhibisyonu ile bloke edilmesi sonucunda kemik rezorbsiyonunda azalma olduğu gösterilmiştir²⁸. Bu yüzden klinik uygulamalarda antibiyotik ile kombine anti-inflamatuar ajanların verilmesi ile tedavi başarısının arttıracağı öne sürülmektedir.

Lipopolisakkarit ve gapstatin gibi bakteri kaynaklı moleküller, sadece kemik yıkımında değil, kemikteki kollajen yapımının engellenmesinde de rol oynar ve osteoblastların mitozla çoğalmasını bloke eder^{25,29}.

2.5. Osteomiyelit Mikrobiyolojisi

Osteomiyelit'e neden olan patojenler; hastanın yaşına ve enfeksiyonun şekline bağlıdır. Daha yaşlı insanlarda Gram-negatif enfeksiyonlar görülür³ (Tablo 1). Osteomiyelit'lerin herhangi bir tipi için en sık karşılaşılan enfeksiyon etkeni, *S aureus*'tur. Protetik materyaller gibi yabancı cisimlerle ilişkili osteomiyelitlerde en sık görülen etken Koagülaz-negatif stafilokoklardır. Nazokomiyal (hastanede gelişen) osteomiyelit'in en sık etkenleri, *P. aeruginosa* ya da diğer Enterobakterler gibi Gram-negatif mikroorganizmalardır³⁰. Salmonella enfeksiyonlarına sekonder olarak gelişen osteomiyelitler için orak hücre hastalığı risk faktörüdür. İnsan veya hayvanlarda görülen ısırık yaraları; streptokok, anaerobik bakteriler, *Pasteurella multocida* ve *Eikenella corrodens* etkenleri ile ilişkilidir. Diyabetik ayak lezyonları ve dekübitis ülserleri genellikle poli-mikrobiyaldır. Streptokok, stafilokok, Gram-negatif basiller ve anaerobik bakteriler, bu hastalarda sık karşılaşılan etkenlerdir⁵. İmmün yetmezliği olan hastalarda bunlara ek olarak *Bartonella henselae*, *Aspergillus*, *M. avium complex* ve *Candida albicans* gibi etkenler de izole edilebilmektedir^{32,33}. Fungal osteomiyelit, immün yetmezliği olan hastalar ya da İV ilaç bağımlılarında görülebilir. Bu tipin en sık etkenleri; blastomikozis, koksidioidomikozis ve sporotrikozis gibi dimorfik mantarlardır. Daha az görülen etkenler, *Kriptokok*, *Aspergillus*, *Candida*, *Psödoallescheria boydii*, *Scedosporium prolificans*, *Fusarium* ve *Mucor*'dur^{8,34,35}. Fungal osteomiyelit vakaların çok büyük bölümünde yayılım yolunun hematojen olduğu bildirilmiştir. Bunun sebepleri

kateter-ilişkili fungemi komplikasyonu, Candida türlerinin bulaşmış olduğu illegal ilaçların/uyuşturucuların kullanımı ya da uzamış nütropenidir³.

Osteomyelit'in Mikrobiyolojisi
Sık Rastlanan Etkenler (Vakaların %50'den fazlası) <i>S aureus</i> Koagülaz-negatif stafilokoklar
Daha Az Sıklıkta Rastlanan Etkenler (Vakaların %25'inden fazlası) Streptokoklar Enterokoklar Psödomanas türleri Enterobakter türleri Proteus türleri Escheriha Coli Serratia türleri Anaeroblar (Peptostreptokok türleri, Clostridium türleri, Bacteroides fragilis grubu)
Nadir Rastlanan Etkenler (Vakaların %5'den azı) M.tuberculosis M.avium complex Hızlı büyüyen mikobakteriler Dimorfik mantarlar Candida türleri Aspergillus türleri Mikoplazma türleri T.whipplei Brucella türleri Salmonella türleri Actinomyces

Tablo 1: Osteomyelite neden olan mikroorganizmalar ve görülme sıklıkları²¹

Osteomyelitte patojenin tipi coğrafik bölgelere göre de değişiklik gösterir. Bu nedenle hastalardan mutlaka seyahat öyküleri alınmalıdır. *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella*, *Coxiella burnetii* ve *Blastomyces dermatitidis* ile *Coccidioides immitis* gibi endemik mantar türlerine sekonder gelişen osteomyelit tabloları, bu mikroorganizmaların endemik olduğu bölgelerde ortaya çıkmaktadır³⁶. Irak ve Afganistan'daki askeri personel üzerinde yapılan bir çalışmada etkenlerin sıklıkla Gram-negatif türlerinde olduğu, vakaların %70'inde *Acinetobacter baumannii-calcoeticus* complex izole edilirken; sadece %13 vakada etken olarak *S aureus* tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada nüks osteomyeliti olan hastalardan %53'ünde etken *S aureus* olarak bulunurken, sadece %6 nüks vakasında etken *Acinetobacter baumannii-calcoeticus* complex olarak tespit edilmiştir³⁷.

2.6. Osteomyelitin sınıflandırılması

Osteomyelit birçok kritere göre sınıflandırılmıştır. Bu kriterler arasında hastalığın süresi, hastanın yaşı, altta yatan hazırlayıcı faktörün varlığı, konakçı faktörleri, etken mikroorganizma, enfeksiyonun oluş mekanizması ve konağın enfeksiyona cevabı sayılabilir^{38,39}.

1. Hastalığın Süresine Göre

- a) **Akut:** Sistemik hastalık var, kemik değişikliği yok,
- b) **Subakut:** Sistemik hastalık hafif, kemik değişikliği var, daha önce atak yok,
- c) **Kronik:** Sistemik hastalık var veya yok, kemik değişikliği var, hikâye eski, önceden enfeksiyon atağı veya atakları var.
 - i. Aktif kronik osteomyelit
 - ii. İnaktif kronik osteomyelit

2. Konakçı Cevabına Göre

a) Piyojenik osteomyelit

- i. Gram pozitif etkenlerle oluşan piyojenik osteomyelit

- ii. Gram negatif etkenlerle oluşan piyojenik osteomyelit
- iii. Anaerobik etkenlerle oluşan piyojenik osteomyelit

b) Piyojenik olmayan (granülamatöz) osteomyelit

- i. Aside dirençli bakterilerle oluşan osteomyelit
- ii. Spiroketlerle oluşan osteomyelit
- iii. Mantarlarla oluşan osteomyelit

3. Oluş Mekanizmasına Göre

a) Ekzojen osteomyelit

- i. Travmatik ekzojen osteomyelit
- ii. İatrojenik (cerrahi) ekzojen osteomyelit
- iii. Kontaminasyonla oluşan ekzojen osteomyelit

b) Endojen (Hematojen) osteomyelit

4. Tuttuğu Yere ve Konakçı Özelliğine Göre (Cierny – Mader Evreleme Sistemi)

Cierny ve Mader enfeksiyonun evresini belirlemek için fizyolojik ve anatomik kriterlere dayanan bir kronik osteomyelit sınıflaması geliştirmişlerdir.

a) Anatomik sınıflama

Tip 1: Enfeksiyon kemiğin medullasındadır. Hematojen osteomyelit ve intramedüller çivi enfeksiyonları bu gruba örnek gösterilebilir.

Tip 2: Enfeksiyon kemik yüzeyinde sınırlıdır. Genellikle direkt İnokülasyon ya da çevre enfeksiyondan bulaşma ile meydana gelir.

Tip 3: Enfeksiyon kemiğin hem korteks hem de medullasındadır. Bu tip lezyonlar kemiğin bütün çapı tutulmadığından tam debridman yapıldığında segmenter bir instabiliteye yol açmaz. Enfekte kaynamış kırıklar ve dirençli çivi yolu enfeksiyonları bu gruba örnektir.

Tip 4: Hastanın başvuru sırasında ya da tedavi sonrasında kemiksel instabilite sorunu yaratacak şekilde yaygın enfeksiyonu vardır.

b) Fizyolojik sınıflama

A. Normal konakçı

B. İmmüniteyi veya yara iyileşmesini bozan lokal(I) veya sistemik(s) faktörlerin olması,

B(s): Sistemik olarak riskli konakçı: İleri yaş, steroid tedavisi, malnütrisyon, böbrek veya karaciğer yetmezliği, diyabetes mellitus, malign hastalıklar gibi risk faktörleri olan hastalar bu gruba örnektir.

B(I): Lokal olarak riskli konakçı: Kronik olarak lenf ödem, venöz staz, arteritis, büyük ve küçük damar yetmezliği, lokal duyu kaybı, sigara alışkanlığı, radyasyon fibrozisi ve skara bağlı olumsuz faktörlerin varlığı gibi faktörler bu gruba örnektir.

C. Cerrahi girişimi engelleyici morbidite ve/veya kür için kötü prognozlu hastalar bu gruba girer. Bu gruba giren olgular tedaviye aday olmayan olgulardır. Potansiyel morbidite oranı tedaviyle elde edilebilecek yarardan daha fazla olduğundan radikal tedavi metotları tavsiye edilmez. Uygulanabiliyorsa palyatif tedavi yöntemlerinden yararlanır¹.

5. Waldvogel sınıflandırması

Waldvogel sınıflandırmasında hastalığın oluş şekli, süresi ve etkenin hangi yoldan bulaştığı önem kazanmaktadır. Hastalık 4 gruba ayrılarak incelenir.

- i.** Hematojen osteomyelit (sekonder veya indirek yoldan meydana gelen osteomyelit)
- ii.** Primer osteomyelit (direk yoldan meydana gelen osteomyelit)
- iii.** Vasküler hastalıklarla beraber olan osteomyelit

iv. Kronik osteomyelit

Fakat bu sınıflama cerrahi tedavi ve antibiyoterapi için yol göstermemektedir³⁹.

2.7. Osteomyelitin Tanısı

2.7.1. Fizik Muayene

Osteomyelitin değerlendirilmesine, tüm tıbbi sorunlarda olduğu gibi, anamnez ve fizik muayene ile başlanır. Sonrasında laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri ile desteklenir. İnflamasyon bulguları olan:

- Kızarıklık (Rubor)
- Hassasiyet (Dolor)
- Isı (Calor)
- Şişlik (Tumor)

görüldüğü zaman enfeksiyondan şüphelenilir fakat böyle bir durumda yumuşak doku enfeksiyonunu osteomyelit'ten ayırmak zordur⁷. Osteomyelitte, enfeksiyona özgü bulgular fiziksel muayenede sıklıkla gözden kaçabilmektedir. Diyabetli hastalarda enfeksiyonun klasik belirti ve bulguları görülmeyebilir ya da vasküler hastalık ve nöropati gibi komplikasyonlar dolayısıyla maskelenmiş olabilir. Nekrotik kemik, cerrahi işlem varlığı ya da drene olan fistül varlığında osteomyelit görülme riski artar. Belirti ve bulgular bebeklerde, yaşlılarda ve immün sistemi baskılanmış kişilerde minimal olabilir²¹. Hastalığın erken dönemlerinde ateş ve kırıklık olabilir; ancak ağrı ve lokal hassasiyet en sık rastlanan bulgulardır. Şişlik bazen çok belirgin olabilir hatta çocuklarda kompartman sendromuna yol açabildiği bildirilmiştir¹. Yenidoğan ve süt çocuklarında huzursuzluk, letarji ve irritabilite olabilir. Etkilenen ekstremitede aktif hareket eksikliği (pseudoparalizi) görülebilir⁴⁰. Eğer alt ekstremitede tutulum varsa yük vermekten kaçınma ve aksayarak yürüme olur. Etkilenen ekstremitede genellikle fleksiyonda tutulur ve çevre kas dokusunda genellikle spazm vardır⁴¹.

Subakut hematojen osteomyelitte bulgular akut hematojen osteomyelite göre daha sinsi başlar ve semptomlar şiddetli değildir. Sistemik semptom ve bulgular çok azdır. Ateş yoktur veya hafif yükselmiştir. Tanıyı destekleyen tek bulgu hafif-orta şiddette ağrıdır¹.

Kronik osteomyelitin teşhisi, fizik muayene, klinik, laboratuvar ve görüntüleme yöntemlerine dayanır. Altın standart enfekte kemik dokusundan alınan materyalin histolojik ve mikrobiyolojik olarak değerlendirilmesidir. Fizik muayenede; etkilenen ekstremitenin deri ve yumuşak doku bütünlüğü, kemik stabilitesi ve ekstremitenin nörovasküler durumu incelenmelidir¹. Fistül varlığı ve bu fistülden gelen akıntı iyi değerlendirilmelidir. Hastalar, genellikle kronik ağrı ve varsa fistül ağzından akıntı şikâyeti ile başvururlar. Ateş genellikle yoktur ya da subfebril olabilir. Eğer aktif bir sinüs ağzı daha önceden varsa ve yakın zamanda inaktif hale geldiyse hastalık lokalize apse oluşumu veya akut yumuşak doku enfeksiyonu ile kendini gösterebilir⁴⁰. Ayak ülseri olan diyabetik hastalarda yaygın olarak kullanılan testlerden biri "kemik temas testi" (probe-to-bone test)'dir. Bu test hasta yatakta yatarken, steril, keskin olmayan (kör) ve paslanmaz çelikten bir probe ile yapılır. Sert ve keçeleşmiş bir kemiğe probun temas etmesi, testin pozitif olduğunu gösterir^{42,43}.

2.7.2. Laboratuvar

Osteomyelitin tanısının konması ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde kullanılan parametreler beyaz küre sayısı, C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR, erythrocyte sedimentation rate), IL-6 ve prokalsitonindir. Kronik osteomyelit olgularında ESR ve CRP sıklıkla yüksek bulunurken, beyaz küre sayısı yükselmiş bulunabileceği gibi normal de çıkabilmektedir⁵. Tanı anında yüksek bulunan, CRP ve ESR takibi tedavinin etkinliğinin izlenmesi için de kullanılabilir. C-reaktif protein (CRP) enfeksiyon, enflamasyon, malignensi ve otoimmün hastalıklar gibi birçok durumda serum seviyesi yükselen, polimerik yapıda, plazma yarılanma ömrü 19 saat kadar olan bir akut faz proteindir. Karaciğerde IL-6'nın kontrolü altında sentezlenir ve normalde serumda çok düşük seviyelerde bulunur. Sağlıklı bireylerin %90 kadarında CRP düzeyleri 0,3 mg/dl'nin altındadır. Yetişkinlerdeki referans aralığı 0,068 ile 8,2 mg/L dir¹⁰⁵. Akut faz reaktanları arasında en hızlı

değişen prokalsitonin iken en yavaş değişen ESR'dir. Prokalsitonin, sağlıklı insanların serumunda çok düşük miktarda (<0,05 ng/ml) bulunur. Viral enfeksiyonlar ve inflamatuvar durumlarda 1,5 ng/ml düzeylerine çıkmaktadır. Öte yandan sistemik belirtilere yol açan ağır bakteriyel enfeksiyonlarda ve enflamasyonda prokalsitonin düzeyi 100 ng/ml'nin üzerine çıkabilmektedir. Deneysel çalışmalarda gösterildiği üzere enfeksiyonların akut seyri sırasında prokalsitonin, IL-6 ve TNF- α plazma değerleri arasında benzer bir korelasyon vardır. Eğer enflamasyon hızlı bir şekilde gerilerse Prokalsitonin değerleri, IL-6'daki azalmadan sonra ve CRP değerindeki azalmadan önce azalmaya başlar^{106,107}. IL-6, akut faz cevabın asıl oluşturucusudur. Bunu; CRP, kompleman bileşenleri, fibrinojen ve proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinlerini sentez eden hepatositleri aktive ederek sağlar¹⁰⁸. Akut faz reaktanlarının yanı sıra T ve B hücre fonksiyonlarının ayarlanması, Ig sekresyonu ve hematopoez gibi birçok biyolojik süreçte rol oynar. İnterlökin-1 ve TNF- α gibi, IL-6 da vücut savunmasında çok önemli yeri olan immuninflamatuvar yanıtı düzenleyen sitokin kaskadının bir molekülüdür^{109,110}. Kanserin kemik metastazları ve metabolik hastalıkların aksine osteomiyelitte kalsiyum, fosfor ve alkalın fosfataz seviyeleri normaldir³.

2.7.3. Görüntüleme yöntemleri

2.7.3.1. Direk grafiler

Klinisyenler tarafından genellikle istenen ilk tetkik, direk grafilerdir. Diyabetik ayak osteomiyelit'i olan hastalar üzerinde yakın zamanda yapılmış bir çalışmada, direk grafilerin osteomiyelit için duyarlılığı %54 ve özgüllüğü %68 olarak bulunmuştur⁴⁴. Osteomiyelit tanısında iki önemli nokta vardır. İlki; direk grafide değişikliklerin görülebilmesi için birkaç haftalık zamana gereksinim olduğudur. İkincisi ise, uzun süreli diyabeti olan ve nöro-osteopati ya da Charcot ayağı gelişmiş olan hastalarda, bu tabloyu osteomiyelit'ten ayırmanın oldukça zor olduğudur⁴⁵. Kronik osteomiyelitte sık görülen radyolojik bulgular trabeküler paternin fokal kaybı, periost reaksiyonu ve yumuşak doku şişliği ile birlikte seyreden kemik destrüksiyonudur. Akut hematojen osteomiyelitte direk grafiler tanıda değersizdir çünkü osteomiyelit'e ait değişiklikler akut evrede direk grafi filmine yansımaz. Yine de akut hematojen osteomiyelit vakalarında ayırıcı

tanı amaçlı fraktür ya da yabancı cisim varlığı gibi durumları ekarte etmek adına direk grafilerin istenmesi faydalı ve gereklidir²¹.

2.7.3.2. Bilgisayarlı Tomografi (BT)

Bilgisayarlı tomografi kortikal kemikteki destrüksiyonu, periost reaksiyonunu ve yumuşak doku değişikliklerini iyi gösterdiği gibi; medüller kanaldaki küçük gaz odaklarını, kortikal erozyon ya da yıkım bölgelerini, enfeksiyon odağı gibi davranan küçük yabancı cisimleri, sinüs traktını ve sekestrasyon formasyonunu en iyi gösteren tetkiktir^{46,47}. Bilgisayarlı tomografinin kullanımını kısıtlayan en önemli problem, artefaktlı görüntü vermesidir. Bilgisayarlı tomografinin özgüllüğü ve duyarlılığı net olarak ortaya konamamıştır. Manyetik rezonans görüntüleme(MRG) daha düşük özgüllüğe ve duyarlılığa sahip olduğu bilinmektedir. Osteomiyelit tanısı için rutinde BT önerilmemektedir fakat MRG'nin kullanılmadığı durumlarda ikinci seçenek olarak tercih edilmektedir⁴⁶.

2.7.3.3. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

Manyetik rezonans görüntüleme, kemik ile yumuşak doku arasında oluşan apse hattını ve anormal ile normal kemik iliğinin ayırımını iyi göstererek akut hematojen osteomiyelitin erken dönemde, ilk 3-5 gün içerisinde, tanınmasına olanak sağlar⁴⁶. Dinh ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, diyabetik ayak ülseri zemininde osteomiyeliti olan hastalarda farklı tanısal testlerin özgüllük ve duyarlılığını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmaya göre osteomiyelit açısından;

- ❖ Açıkta kalan kemik ya da kemik temas testinin özgüllüğü %91, duyarlılığı: %60,
- ❖ Direk grafinin özgüllüğü %68, duyarlılığı: %54,
- ❖ Manyetik Rezonans Görüntülemenin özgüllüğü %79, duyarlılığı %90,
- ❖ Kemik sintigrafisin özgüllüğü %28, duyarlılığı %81,
- ❖ İşaretli lökosit sintigrafisinin özgüllüğü %68, duyarlılığı %74 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre osteomiyelit tanısında en güvenilir ve tercih

edilmesi gereken tanısal araç MRG'dir^{44,45}. Manyetik rezonans görüntüleme vertebral osteomyelit vakalarında eğer varsa epidural apseleri, flegmon'u ve spinal kord basılarını da gösterebilmektedir^{7,46}. MRG'nin kontrendike olduğu durumlarda önerilen görüntüleme yöntemi BT'dir.

2.7.3.4. Kemik Sintigrafisi

Radyonüklid sintigrafik çalışmalar (üç fazlı kemik taraması, galyumlu tarama ve işaretlenmiş beyaz küre taraması) klinisyenler tarafından osteomyelit tanısında sık kullanılmaktadır.

1) Üç fazlı kemik taraması yönteminde kemik turnover alanları ve artmış osteoblastik aktivite, radyonüklid bir işaretleyici (99m-Tc-difosfonat) ile tespit edilmeye çalışılır. Adından da anlaşılacağı üzere testin üç aşaması vardır:

- Nükleer anjiyogram ya da kan akımı fazı (enjeksiyondan hemen sonraki faz),
- Kan toplanması fazı (enjeksiyondan sonraki 5 dakika)
- Kemik fazı (enjeksiyondan sonraki 3 saatlik süre)⁴⁸

Kan akımı ve kan toplanması fazlarında yüksek tutulum, fakat kemik fazında tutulumun normal olması, selülit varlığı lehine yorumlanmaktadır. Çalışmanın bütün fazlarında artan tutulumun görülmesi osteomyelit olarak değerlendirilir⁴⁹. Direk grafi sonucu normal çıkan erişkin hastalarda 3-fazlı kemik taramasının duyarlılığı %94, özgüllüğü %95 olarak belirlenmiştir⁴⁸. Tekrarlayan cerrahi işlemler ve ortopedik implantlara sekonder olarak direk grafi değişikliklerinin olduğu durumda, 3-fazlı kemik taramasının özgüllüğü anlamlı şekilde (%10'dan daha fazla) azalmaktadır^{7,48}.

2) Galyum taraması galyum-sitrat'ın akut faz reaktanlarına (transferrin ve laktoferrin gibi) bağlanması ve bunlarla birlikte kan akımı yoluyla enfeksiyon bölgesine taşınması esasına dayanır^{7,48}. Bu yöntemde görüntüleme, enjeksiyondan 24 saat sonra yapılır. Duyarlılık oranları %25-80, özgüllük ise %67 olarak bildirilmiştir⁴⁶. Nöropatik değişiklikler, kırık ve neoplaziler de artmış tutulumu neden olur.

3) İşaretli beyaz küre taramasının orijinal tekniğinde işaretleyici olarak İndium111 kullanılırken,yakın zamanda 99m-Tc-heksametilpropilenamin oksim de kullanılmaya başlanmıştır⁴⁶. Testte hastanın 50 mL kadar kanı alınır ve daha sonra beyaz küre komponenti radyolojik olarak işaretlenir. Bu yöntemin temeli, işaretlenmiş eritrositlerin enflamasyon alanında toplanmasına dayanmaktadır. Kemik sintigrafisine oranla bu yöntem, %80-90 daha iyi sonuç vermektedir⁴⁶. Yapılan bir gözlem ve meta-analiz çalışmasında, bu yöntemin ekstra-aksiyel kronik osteomyelitler için duyarlılığı %84 iken, aksiyel iskeletteki kronik osteomyelitlerdeki duyarlılığı sadece %21 olarak ölçülmüştür⁵⁰. Bazı araştırmacılar, şüpheli vertebral osteomyeliti olan hastaları değerlendirmede galyum sintigrafisi'nin rolü olabileceğine inanmaktadır⁷.

Nükleer çalışmaların bir dezavantajı, uzaysal çözünürlüklerinin sınırlı olması ve ayak ya da ayak bileği gibi anatomisi kompleks olan bölgelerde daha kötü sonuçlar vermesidir⁴⁶. Bir diğer dezavantaj, yakın zamanda geçirilmiş travma, cerrahi, dejeneratif eklem hastalığı, malignensi varlığı, Paget hastalığı ya da kemiği tutan diğer non-enfeksiyöz inflamatuvar hastalıklar nedeniyle bu çalışmaların yanlış pozitif sonuçlar verebilmesidir⁴⁸. Vasküler yetmezliği olan hastalarda radyolojik işaretleyici madde istenen yere uygun şekilde ulaşamayacağı için bu tür hastalarda yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir ki bu da istenmeyen bir durumdur.

Nükleer çalışmaların avantajı ise, prostetik implant varlığında bile artefaktların sınırlı olması ve klostrifobik (kapalı yerde kalma korkusu olan) hastalarda sedasyon ihtiyacı yaratmamasıdır⁴⁶.

2.7.3.5. Pozitron Emisyon Tomografisi (PET)

Pozitron emisyon tomografisi taramasının osteomyelit tanısında kullanılması ile ilgili birkaç çalışma mevcuttur^{51,52}. Bu yöntemin temeli, enfeksiyon ve enflamasyon durumlarında artan hücre içi glikoz metabolizmasının bir göstergesi olan 18-fluorodeoksiglukoz (18-FDG)'un seviyesinin tayinine dayanmaktadır⁴⁶. Guhlmann ve arkadaşları tarafından 51 hastada yapılan prospektif bir çalışma ile PET'in duyarlılığı %100 ve özgüllüğü %97 olarak bulunmuştur⁵¹. Yirmi iki hastayı kapsayan başka bir çalışmada,

kronik osteomyelit değerlendirilmesinde PET'in duyarlılığı yine %100 olarak bulunmuştur ancak iki olguda yanlış pozitif sonuca ulaşılmıştır. Bu iki olgudan biri tibia kırığı zemininde kaynamama diğeri de osteotomi yapılan bir olgu iken, her iki olgunun PET sonuçları osteomyelit olarak yorumlanmıştır⁵³. PET'in kullanımı, bu yanlış pozitiflikler nedeniyle sınırlıdır. Pozitron emisyon tomografisi için yanlış pozitiflik veren durumlar cerrahi sonrası ve travmatik yara iyileşmeleri, eklem protezleri ve tümörlerdir. Pozitron emisyon tomografisinin kullanımını sınırlayan bir diğeri de testin sadece bazı hastalarda kullanılabilir olmasıdır⁵⁴. Pozitron emisyon tomografisi bir nükleer tıp yöntemi olduğu için diğeri nükleer tıp çalışmaları gibi PET'in de uzaysal rezolüsyonu sınırlıdır. Yapılan küçük ölçekli çalışmalarda PET'in güvenilir ve kullanılabilir bir yöntem olduğu ortaya konmasına rağmen günümüzde PET'in osteomyelit için kesin olarak tanımlanmış bir rolü mevcut değildir⁴⁶.

2.7.4. Kültür

Kültürler, özellikle de cerrahi örnek kültürleri, osteomyelit etken mikroorganizmasının tayininde ve doğru antibiyotik seçiminde değerli katkı sağlamaktadır. Kan kültürleri, özellikle hematogen osteomyelitlerde pozitif saptanabilir. Vertebral osteomyelitlerde ise kan kültürü pozitiflik oranları %20-50 arasında bildirilmiştir⁵⁵. Antibiyotik tedavisine başlamak için genellikle sinüs traktı ya da ülser bölgesi üzerinden yüzeysel kültür alınmaktadır. Ancak sinüs traktında üreyen ve kültürde pozitif çıkan etken, genellikle osteomyelit gerçeği etkeni ile aynı olmamaktadır. Kırk kronik osteomyelit olgusunda yapılan bir çalışmada hastaların 35'inde, cerrahi spesimende tek patojen izole edilmiştir. Bu hastaların sinüs traktı kültürlerinde ise sadece %44 oranında aynı etkene rastlanmıştır. Olguların bu %44'lük diliminin yarısında kemik biyopsi kültürü ile aynı etkeni barındıran polimikrobiyal üreme varken, diğeri yarısında kemik biyopsisi ile uyumlu tek mikroorganizma üremesi saptanmıştır. Sonuç olarak bu çalışmaya göre sinüs traktından alınan kültürlerin sadece %22'si, osteomyelit'in gerçeği etkeni ile aynı sonucu vermektedir⁵⁶. Bir Fransız çalışmasında Senneville ve arkadaşları, kemik biyopsisi ile ayak ülserlerinden alınan örneklerin sadece %17,4'ünün (69 hastanın 12'si) uyumlu olduğunu bildirmişlerdir⁴³. Benzer bir oran da Zuluaga ve arkadaşları tarafından

bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada kemik kültürü (kemik biyopsisi, sekestrum, kemik iliği ve aspire edilmiş subperiostal sıvı) ile kemik-dışı kültür (yumuşak dokulardan aspire edilen sıvı, yumuşak dokular, cerrahi yara, ortopedik noktanın orijininin başka yerden drene olan sıvılar, sinüs traktından drene olan sıvılar) örneklerinde uyum oranı; *S aureus* için %38, diğer etkenler için %19 olarak bulunmuştur. Kemik dışı kültürlerde yanlış pozitiflik oranı %36, yanlış negatiflik oranı ise %36 olarak tespit edilmiştir⁵⁷. Her ne kadar yüzeysel kültürler, osteomyelit etkeni olan mikroorganizmayı göstermede yetersiz olsa da, uygun enfeksiyon kontrol ajanlarının seçilmesinde bu kültürlerin de faydası olabilmektedir. Özellikle vankomisin-rezistans enterokoklar, MRSA ya da beta laktamaz üreten stafilokoklar ya da Gram-negatif bakteriler izole edilmişse bu bakterilerin birçok ilaca direnç göstermesi nedeniyle bu kültürlerin alınması önem taşımaktadır⁵.

2.7.4.1. Kemik Biyopsisi/Kültürü

Uygun antibiyotik ajanının seçilebilmesi için enfeksiyon etkeni olan mikroorganizmanın belirlenmesi gereklidir. Steril teknikle alınan kemik örneğinde birden fazla patojen üremesi; histolojik incelemede kemik ölümü varlığında ve akut ya da kronik enflamasyon ve onarım hücrelerinin eşlik ettiği durumlarda görülebilir. Bu örneklerde patojen üremesi durumunda “kanıtlanmış osteomyelit” kavramı devreye girer. Osteomyelitin kanıtlanabilmesi için kemik biyopsisine ihtiyaç vardır. Kemik biyopsisi, rutinde her osteomyelit hastasına yapılabilen bir tetkik değildir. Kemik biyopsi kültürü alındığında, kontaminasyon nedeniyle yanlış pozitif sonuç, daha önceki antibiyotik kullanımı nedeniyle yanlış negatif sonuç, yanlış yerden örnek alınmış olması ya da alınan örneğin ilgili mikroorganizmayı üretmek için yeterli olmaması gibi durumlarla karşılaşılabilir⁵⁸. Subakut hematojen osteomyelitteki lezyonların primer kemik tümörlerinden ayrılması zor olabilmektedir. Sıklıkla açık biyopsi ve kültür ile tanı konmalıdır. Alınan biyopsi histopatolojik olarak da değerlendirilmelidir çünkü bazı durumlarda, özellikle de ülserlerin konvansiyonel tedavilere yanıt vermediği durumlarda kronik osteomyelit’in yassı hücreli karsinom ile komplike olmuş olma olasılığı vardır^{59,60}.

2.8. Osteomyelitin Tedavisi

Uygun tedavinin erken başlanması morbiditeyi belirgin olarak azaltır. Hastaların bir kısmında sadece ilaç tedavisi ile olumlu cevap alınırken; bazılarında da ilaç tedavisi ve cerrahi müdahale birbirlerini tamamlayıcı tedaviler olarak yapılmaktadır. Maliyeti ve toksisitesi az ancak bakterisidal etkisi fazla olan ilaçlar tercih edilmelidir. Apse oluşumu yoksa ilaç tedavisi başarılı olabilir. Apse varlığı veya intravenöz tedaviye cevap alınmadığı durumlarda cerrahi endikasyon doğar¹.

Akut Hematojen osteomyelit tedavisi için 5 ilke tanımlanmıştır:

- Apse oluşmadan uygun antibiyotik etkili olabilir.
- Antibiyotikler cerrahi debridman gerektiren avasküler doku ve apseleri sterilize edemezler.
 - Etkin cerrahi müdahale sonrası yaranın güvenli şekilde kapatılması ve etkin antibiyoterapi bakterilerin tekrar üremesini önler.
 - Cerrahi esnasında kemik ve yumuşak dokuların vasküler desteği zedelenmemelidir.
 - Cerrahiden sonra antibiyotiklerle tedaviye devam edilmelidir

Akut hematojen osteomyelit, IV sıvı tedavisi, uygun analjezikler ve ekstremitenin uygun pozisyonda tespiti gibi destek tedaviler uygulanmalıdır. Subperiostal veya kemik iliği aspirasyon materyalinin gram boyamasına göre antibiyoterapiye başlanır. Gram boyama negatifse olası etkene göre ampirik antibiyotik tedavisi, IV olarak, başlanır. Akut hematojen osteomyelitte drenaj gerektiren apse varlığında ve uygun antibiyotik tedavisine rağmen iyileşme sağlanamaması durumunda cerrahi tedavi endikasyonu vardır¹. Ross ve arkadaşları, metafizdeki basit apse görünümündeki lezyonlarda 48 saat intravenöz antibiyoterapi tedavisi ve 6 hafta oral antibiyoterapi ile %87 klinik başarı elde etmişlerdir. Hamdy ve arkadaşlarının 1996'da, subakut osteomyelitli 44 hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında konservatif ve cerrahi tedavi arasında, sonuçları açısından fark olmadığını bulmuşlardır. Bu çalışmaya göre küretaj, dirençli ya da agresif seyirli hastalarda önerilmektedir⁶¹.

Brodie Apsesi; Alt ekstremitelerin uzun kemiklerinde, özellikle genç erişkinlerde görülen lokalize subakut osteomyelittir. Fizisler kapanmadan önce en sık metafizer bölge, erişkinlerde ise epifizometafizer bileşke tutulur. Uzun süre devam eden lokalize ağrı en sık karşılaşılan yakınmadır. Radyografide etrafı sklerotik kemik dokusu ile sarılmış bir apse görünümü vardır. Radyolojik olarak kemik tümörleri ile karışabilmektedir. Hastaların yarısında etken *S aureus*'tur. Yüzde 20'sinde ise kültür negatif kalır. Tedavide biyopsi ve küretajla birlikte antibiyoterapi yeterlidir¹.

2.8.1. Medikal Tedavi

Osteomyelit sağaltımındaki en büyük sorun, enfeksiyon odağında bakterisit etki gösterecek antibiyotik konsantrasyonunun sağlanmasının güçlüğüdür. Sistemik antibiyotikler, yeterli zaman periyotlarında ve enfekte bölgede oldukça etkili konsantrasyonlara ulaşacak şekilde kullanılmalrı gerekmektedir⁶². Antibiyotik tedavisine başlamadan önce kemik örneğinin alınması ve mikroorganizmanın üretilmesi en uygun yaklaşımdır. Yapılan bir çalışmaya göre kemik kültürü baz alınarak yapılan antibiyotik tedavisinin, diyabetik hastalarda daha iyi sonuç verdiği, bu temelde tedavi verilen olguların %56'sının remisyona girdiği saptanmıştır. Bu çalışmada remisyona, antibiyotik tedavisi sona erdikten sonra 1 yıl boyunca başlangıçtaki enfeksiyon bölgesinde ya da yayılım yerlerinde herhangi bir enfeksiyon bulgusunun olmaması olarak tanımlanmıştır⁴³. Antibiyotikler, kemik dokuya diğer dokulara göre daha zor ve yetersiz geçiş yaptıkları için yüksek dozda verilmeliler. Saptanan mikroorganizmaya etkili antibiyotiğin hem oral hem de parenteral formu bulunduğu, enfekte dokunun cerrahi olarak temizlendiği durumlar dahil olmak üzere kısa etki sürelerine rağmen parenteral formun uygulanması önerilmektedir^{45,55} (Tablo 2). Ampirik tedavide MRSA'ya etki etmesi için vankomisin ve Gram-negatiflere etki etmesi için aminoglikozid ajanlardan biri kullanılabilir. Antibiyotik tedavisi izole edilen patojene yönelik olarak genellikle 4-6 hafta süreyle ve intravenöz olarak verilmektedir. Kinolon ya da klindamisin ajanlarından biri kullanıldığı zaman intravenöz tedavinin süresi azaltılabilir, çünkü bahsedilen ajanların biyo-yararlanımları ve kemiğe penetrasyonları çok iyidir. Kinolon kullanılacak hastaların kalsiyum, magnezyum ve alüminyum

kullanmamasına dikkat edilmeli, bu konuda hasta uyarılmalıdır. Çünkü söz konusu ajanların birlikte kullanılmaları, antibiyotiğin absorpsiyonunu azaltarak, klinik tedavide başarısızlığa neden olmaktadır. Bazı uzmanlar *S aureus* osteomyelitlerinde tedaviye rifampin eklenmesi gerektiği görüşündedir. Rifampin bakterisidal bir ajandır ve biyofilmlere penetre olma özelliğine sahiptir. Rifampin, bakterileri çoğalma dönemlerinin dışındaki statik evrede öldürmektedir⁶³. Stafilokok osteomyelitlerinde rifampinin bir B-laktam, kinolon ya da makrolid grubu antibiyotik ile ve ya vankomisin ile kombine verilmesi, kemiği sterilize etmekte daha başarılı sonuç verdiği dair birkaç hayvan modeli mevcuttur⁵. Küçük, randomize kontrollü bir çalışmada; stabil ortopedik implant-ilişkili metisiline direnç açısından şüpheli *S aureus* enfeksiyonu olan 29 hasta üzerinde çalışılmış ve bu çalışmada başlangıç debridmanı takiben siprofloksasin + rifampin tedavisinin; siprofloksasin + plasebo tedavisi ile karşılaştırıldığında daha iyi sonuç verdiği görülmüştür⁶⁴.

Enfeksiyonun tuttuğu bölge	İlacın Verilme Yolu	Tedavi Süresi
• Rezidüel enfekte doku kalmamışsa (örneğin, amputasyon sonrası)	Parenteral ya da oral	2-5 gün
• Rezidüel enfekte yumuşak doku kaldıysa (kemik yok)	Parenteral ya da oral	2-4 hafta
• Rezidüel enfekte (yaşayan) kemik doku kaldıysa	Başlangıçta parenteral, sonra orale geçiş	4-6 hafta
• Cerrahi yapılmamış, ya da post-op rezidüel ölü kemik kalmışsa	Başlangıçta parenteral, sonra orale geçiş	>3 ay

Tablo 2: Klinik durumların antibiyotik uygulama yolları ve önerilen tedavi Süreleri⁶⁵

Osteomyelit tedavisinde yüksek doz ve uzun süreli parenteral antibiyotik tedavisi gerektiği için, antibiyotiklerin komplikasyonları ve yan etkileri yakından izlenmelidir. Bu komplikasyonlar içerisinde uzun yatış ve uzun kateterizasyon komplikasyonları olan venöz tromboz ya da kateter-ilişkili enfeksiyonları saymak olasıdır. B-laktam antibiyotikler, 10 günden uzun süreli verildikleri takdirde geçici nötropeni tablosuna yol açabilmektedir. Özellikle piperasilin-tazobaktam, uzun süreli verildiğinde doz-ilişkili komplikasyonlar kümülatif (birikimli) şekilde hastaların 3'te birinde ortaya çıkmaktadır⁶⁶.

Oksazolidinon grubundan bir ilaç olan Linezolid, Gram-pozitif mikroorganizmalara (stafilokok, streptokok ve enterokok gibi) karşı etkinlik göstermektedir⁵. Linezolidin en büyük avantajlarından biri, oral kullanımda biyoyararlanımının çok yüksek olmasıdır. 22 hasta üzerinde yapılan retrospektif (geriye dönük) bir çalışmada, implant-ilişkili kronik osteomyelit'lerin tedavisinde cerrahi debridman ve implantın çıkarılmasının ardından Linezolid kullanmanın etkili olduğu bildirilmiştir⁶⁷. Bu avantajlarının yanı sıra bir takım dezavantajları vardır. Linezolidin anlamlı derecede kemik iliği toksisitesine ve özellikle uzun süreli kullanımlarda periferik nöropatlere yol açtığı belirlenmiştir. Bu nedenlerle linezolidin kullanımı; vankomisini tolere edemeyen hastalar ile vankomisin-rezistan enterokoklara sekonder gelişen osteomyelitli hastalarla sınırlıdır^{5,68}.

2.8.2. Cerrahi Tedavi

2.8.2.1. Genel prensipler

Kronik osteomyelitte tedavinin ana prensipleri radikal bir şekilde nekrotik dokuların temizlenmesi, ölü boşlukların doldurulması ve uzun süreli etkin antibiyoterapidir. Apse oluşmuş akut olgularda ve kronik osteomyelitlerde cerrahi esastır. Amaç sekestr, enfekte ve skar halindeki yumuşak dokuları debride etmek ve iyi bir vasküler yatak oluşturmaktır. Yetersiz debridman büyük bir olasılıkla nükse neden olur. Geniş rezeksiyon sonrası kemik ve yumuşak dokuda rekonstrüksiyon gerektiren defektler kalabilir. Ekipte enfeksiyon hastalıkları uzmanı ve serbest kas ya da kas-kemik flepleri gerektiğinde mikrovasküler girişim yapabilen cerrahın bulunması gerekir. Kemik defektinin

olduğu durumlarda serbest fibula grefti ve ilizarov prensipleri ile kemik transportu planlanabilir²⁴.

Sistemik uygulamalarda toksik etkileri ortaya çıkabilen antibiyotiklerin özellikle enfeksiyon sahasında yüksek konsantrasyonlara ulaşmasını sağlamak için lokal antibiyotik uygulamaları ve taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Bunlar kemik imentosu, kemik greftleri, alçı, polilaktat ve poliglikolat membranlar, kalsiyum sülfat, kalsiyum fosfat, hidroksiapatit, amiloz-nişasta implantları gibi taşıyıcılarıdır^{69,70}. Bir rat osteomyelit çalışması, sistemik teikoplanin tedavisine ek olarak fusidik asit içeren kemik imentosu uygulamasının, tek ajan kullanılmasına kıyasla enfeksiyonun daha fazla baskılandığını gstermiřtir⁷¹. Biyobozunur olan taşıyıcı sistemler daha sonra çıkarılmaları gerekmediği için daha avantajlıdırlar. Günümüzde antibiyotik salınımını kontrol eden biyobozunur taşıma sistemleri üzerinde çalışmalar sürmektedir.

Günümüzde kronik osteomyelitli hastalarında önerilen cerrahi işlemler; uygun drenaj ve tüm enfekte dokunun debride edilmesi, l boşluğun doldurulması, yaranın tam olarak kapatılması ve enfekte olmuş kırığın stabilize edilmesini iermektedir⁵.

2.8.2.2. Debridman

Debridman, kronik osteomyelitte ciddi ve sabırla yapılması gereken bir tedavidir. Yetersiz debridman hastalığın nüks etmesinin önemli nedenidir. Debridman yapılırken l kemik ve yumuşak doku tamamıyla debride edilmelidir⁷². Debridmanın amacı geride canlı ve sağlıklı doku kalana kadar tüm enfekte ve nekrotik dokuların ortamdandan uzaklaştırılmasıdır. Tüm implantlar, tüm eski sütur materyalleri ve tüm sinüs traktları çıkarılmalıdır. Kemik debridmanı noktasal kanama görülünceye kadar (Paprika işareti) yapılır. Diyafiz intramedüller olarak oyulur, metafiz için yüksek hızlı burr kullanılabilir. Bununla beraber, tüm nekrotik dokular yeteri kadar debride edildiği zaman bile, geride kalan doku yatağı hala kontamine olarak değerlendirilmelidir^{73,74}. Yapılan debridmanın sınırlarını kısıtlayan anatomik yapılar; sağlıklı kemik, nörovasküler yapılar ve kemiğin stabilitesinin bozulmasıdır. Yapılan debridman aşırı korteks kaybına yol açıyorsa postoperatif atel kullanılmalıdır. Debridman sonrası

dokularda defekt oluşmuşsa kemik ve yumuşak dokuların uygun bir şekilde rekonstrüksiyonu gerekebilir⁷⁵.

2.8.2.3. Kemik Defektlerinin Rekonstrüksiyonu ve Ölü Boşluk Tedavisi

Yeterli debridman geride “ölü boşluk” olarak adlandırılan geniş bir kemik defekti bırakabilir. Bu boşluk kötü kanlandığı için, potansiyel bir problem ve osteomyelitin nüksü için yatkınlık yaratan bir durumdur. Debridman sonrası oluşan ölü boşluğun uygun tedavisi, kemiğin bütünlüğünün sürdürülmesi ve hastalığın sona erdirilmesi için gereksinimdir. Ölü boşluk tedavisinin amacı, ölü kemik ve skar dokusunun yerine canlı kanlanan dokuların konmasıdır. Örneğin serbest vaskülarize kemik grefti, ölü boşluğun doldurulması için iyi bir seçenektir. Bu greftler genellikle ilium veya fibuladan elde edilirler. Lokal doku flepleri veya serbest flepler de ölü boşluk doldurulması için kullanılabilirler^{74,76}.

2.8.2.3.1. Açık Kemik Greftlemesi

Kronik osteomyelit tedavisinde başka bir yöntem olan açık kemik greftleme tekniğini ilk kez Papineau ve arkadaşları 1991 yılında tanımladılar. Yeterli debridman sonrası kemiksel defekt bölgesine yerleştirilen otojen kansellöz kemik greftlerinin hızla vaskülarize olup enfeksiyona dirençli ortam oluşturdukları öne sürülmektedir. Bu tedavi protokolünde ayrıca uzun süre antibiyotik tedavisi yer almaktadır⁷⁷. Panda ve arkadaşları 1998’de, 41 kronik osteomyelitli hastanın tedavisinde Papineau tekniğini kullanarak %89 başarı bildirmişlerdir⁷⁸. Papineau ve arkadaşlarının tedavisine ek olarak son zamanlarda hem kemik hem de yumuşak doku iyileşmesine yardımcı olan kapalı vakum destekli tedavinin sonuçları başarıyı arttırmıştır⁷⁹.

2.8.2.3.2. Yumuşak Doku Transferleri

Kronik osteomyelitin tedavisinde debridman sonrası oluşan ölü boşluğu doldurmak için lokal kas flebinden, vaskülarize saplı mikrovasküler serbest dokuya kadar değişen yumuşak doku transferleri yapılabilir. Flebin yaşaması ve oluşan doku defektinin doldurulması açısından debridman çok iyi yapılmalıdır. Transfer edilen kas grubunun kanlanması iyi olması ve bu iskemik alanın

daha canlı bir doku ile doldurulması enfeksiyonu geriletir. Kan akımının artırılması, konağın savunma mekanizmaları için olduğu kadar; antibiyotiğin ulaşması ve kemik ile yumuşak dokuların iyileşmesine de katkı yapar. Bu tekniğin başarı oranları literatürde % 66-100 arasında bildirilmektedir¹.

Necmioğlu ve arkadaşları, kronik femur osteomyelitli 6 hastayı oluklaştırma ve vastus lateralis kas flebi yerleştirme yöntemiyle tedavi etmişler ve bu tedavide % 80-90 oranında başarı oranı elde ettiklerini bildirmişlerdir. Yazarlar, bu tekniğin başarılı olduğunu fakat geliştirilmesi gerektiğini önermişlerdir⁸⁰.

Mikrovasküler doku transferlerinde miyokütan, osseöz ve osteokütan flepler kullanılabilir. Başlangıçta debridman yeterli yapılırsa flep sağlıklı bir ortama yerleşir, bu da işlemin başarısına yardımcı olur. Tibiada segmental kemik kayıpları için serbest fibula grefti kullanılabilir. Eğer kronik osteomyelit hem tibia hem de fibulada segmental kemik kaybına yol açıyorsa serbest fibula grefti sonuçları iyi değildir. Bu durumda amputasyon veya ilizarov tekniği tavsiye edilir¹.

2.8.2.4. Polimetilmetakrilat Antibiyotikli Boncuk Zincirleri

Antibiyotik emdirilmiş akrilik boncuklar ölü boşluğun sterilizasyonu ve geçici olarak doldurulması için kullanılabilirler. Bu boncuklar genellikle 2-4 hafta içerisinde çıkarılıp, yerlerine kansellöz kemik greftleri konur. Bu boncuklarda en çok kullanılan antibiyotikler sefazolin, moksalaktam, sefotaksim, tobramisin, gentamisin, vankomisin, teikoplanin ve tikarsilindir^{76,81}. Bu tedavi yönteminin temeli, antibiyotiğin minimum inhibitör konsantrasyonun çok üzerinde lokal olarak salınımına dayanmaktadır. Bu yöntemin kullanılmasının önemli nedenleri; sistemik antibiyoterapinin yol açabileceği toksisiteden kaçınma ve kanlanması iyi olmayan kemiksel alanlarda lokal olarak çok yüksek antibiyotik konsantrasyonunun sağlanmasıdır¹. Bu uygulama ile lokal antibiyotik konsantrasyonunun sistemik uygulamaya göre 200 kat fazla olduğu gösterilmiştir. Kısa dönem (10 gün), uzun dönem (90 gün) ve kalıcı uygulama gibi değişik şekillerde uygulanabilir²⁴.

Polimetilmetakrilat boncuklarının üretimi esnasında ekzotermik reaksiyon nedeniyle ısıya dayanıksız antibiyotikler kullanılamazlar. Bu husus eklenebilecek antibiyotik sayısını kısıtlamaktadır. Örneğin aminoglikozidler, penisilinler ve sefalosporinler PMMA'a eklenebilir iken, florokinonlar, tetrasiklin, polimiksin-B eklenemezler¹. Polimetilmetakrilat gibi materyaller, antibiyotik yüklü olmalarına rağmen, glikokaliks üreten bakterilerin odağı olabilirler. Bu bakterilerin yapışması biofilm oluşumuna ve bakteriyel kolonizasyona neden olduğundan, PMMA boncuklarının çıkarılması şarttır⁸². Biyobozunur sistemlere yüklenen antibakteriyel ajanların tümü belirli bir periyotta açığa çıkarken, PMMA sistemlerde sadece %25 kadarı salınır.

2.8.2.5. Biyobozunur Antibiyotik Taşıyıcı Sistemler

Bu taşıyıcı sistemlerin kullanımı ile özellikle zayıf damarlı dokularda, yumuşak doku ve kemikte sistemik antibiyotik uygulamasına göre daha yüksek antibiyotik konsantrasyonu elde edilebilir. Ayrıca sistemik olarak verilen antibiyotiklerden daha az düzeyde serum konsantrasyonu oluşur ve bu da daha az toksisiteye yol açar⁸³.

Biyobozunur sistemler kullanıldığında ikinci bir materyal çıkarma operasyonuna gerek yoktur. Üstelik biyolojik olarak parçalanabilen maddelerin bazıları kalsiyum içerir, böylece yeni kemik oluşumuna da katkı yapabilir⁸⁴. Biyobozunur taşıyıcı sistemler içerisinde Kollajen yumağı en sık kullanılan antimikrobiyal taşıyıcı sistem olmasına rağmen en kısa antibiyotik salınım süresine sahiptir. Günümüzde karma taşıyıcıların geliştirilmesi yönünde çalışmalar yapılmaktadır. Bu taşıyıcıların lokal antibiyotik salınımının yanı sıra yeni kemik formasyonunu uyarma ve/veya iskeletal destek oluşturmaları arzu edilmektedir⁸⁵.

2.8.2.6. İlizarov Tekniği

Enfekte kaynamamış kırıklarda ve kronik osteomyelit tedavisinde ilizarov tekniği önemlidir. Bu teknik, osteomyelitli kemik dokusunun radikal rezeksiyonunu ve yerine yeni sağlıklı kemik dokusu oluşması temeline dayanır. Kemikte oluşan uzunluk kaybı için ilizarov sistemi üzerinden uzatma ya da

sağlıklı kemik segmentinin transferiyle defekt giderilmesi sağlanır. Hastalıklı alanın distal ya da proksimal ucundaki normal kemikte osteotomi yapılır. Kaynama sağlanana kadar kemik transportu gerçekleştirilir. Bu tekniğin dezavantajları solid kaynama sağlanana kadar zamana ihtiyaç duyulması ve teknikle ilişkili komplikasyonların sık olmasıdır⁸⁶.

2.8.2.7. Kapalı Emme Drenleri

Bu sistemde, enfeksiyon alanına yüksek volümde antibiyotikli sıvı verilerek enfekte kemiğin yıkanması temeline dayanır. Bu sistem anaerobik ve gram negatif enfeksiyon gelişme olasılığı ve sistemde tıkanmalara neden olması nedeniyle en fazla 3 hafta kullanılmalıdır. Antibiyotiğin girişine ve çıkısına izin veren kapalı emme sistemi, ortama hidrofilik gram negatif organizmalar gibi yeni bakteriler taşıyabilmektedir. Bu nedenle terk edilmeye başlanmış bir yöntemdir⁸⁷.

2.7.2.8. Amputasyon

Osteomyelit tedavisine cevapsız kalan enfeksiyonun ve gelişen bir sistemik komplikasyonun (Örneğin Amiloidoz) hayatı tehdit ettiği, genel durum bozukluğu olan hastalar veya aşırı yumuşak doku ya da kemik stok kaybı olan hastalarda amputasyon uygulanabilir^{88,89}. Gustilo'ya göre; 1) tibiada aktif akıntılı kronik osteomyelitle beraber, duyusu olmayan bir ayağın bulunması, 2) geniş bir alanda kemiğin açıkta olduğu, akıntılı kronik osteomyelitle beraber ayakta sertlik bulunan, arteriyel dolaşım yetersizliğinden dolayı lokal veya serbest flebin uygulanamaması, 3) çok sayıda başarısız cerrahi girişimin denendiği ve hastanın da amputasyon istediği durumlarda amputasyon endikasyonu vardır⁹⁰. Bazen osteomyelite malign bir lezyon eşlik etmekte veya fistüldeki epitelden malign dejenerasyon gelişebilmektedir. Bu tür olgularda tercih genellikle amputasyondur. Osteomyelite en sık eşlik eden malign tümör yassı epitel hücreli karsinomdur⁹¹. Retikulum hücreli sarkom ve fibrosarkom diğer sık rastlanan malign tümörlerdir. Arteriyel yetmezlik, majör sinir paralizileri, eklem kontraktürleri ve eklem sertliği gibi ekstremitenin fonksiyonel kullanım kapasitesinin çok azaldığı olgularda da amputasyon endikasyonu vardır¹.

2.8.2.9. Hiperbarik Oksijen Tedavisi

Hiperbarik oksijen (HBO₂) tedavisinin kronik osteomyelitteki etkinliği tam olarak kanıtlanmamıştır. Teorik olarak yüksek oksijen basıncı kanda ve dolayısıyla kemik dokusundaki oksijen konsantrasyonunu artırır ve osteoblastik ile osteoklastik aktivitenin optimizasyonu ile osteogenezin artışına yol açar. Hiperbarik oksijen tedavisi sadece geleneksel tedavi yöntemlerine yardımcı tedavi (adjuvan) olarak tavsiye edilebilir. Çözünmüş oksijenin; antihipoksik, antiödematöz, antitoksik ve antibakteriyel etkisi öne sürülmektedir⁹².

2.9. Komplikasyon

Osteomyelitin medikal ve cerrahi tedavi yöntemlerinin başarılı olmaması enfeksiyonun nüksüne yol açar. Tedavi gecikmişse osteomyelit yüzeysel olandan derin hastalığa ya da Cierny - Mader evre 1 ya da 2'den, evre 3 ya da 4'e ilerler ve böylece ortadan kaldırılması çok daha güç hal alabilir. Çocuklarda akut hematojen osteomyelit komşu eklemlere yayılabilir ve septik artrit oluşturabilir. Erişkinlerdeki vertebral osteomyelit tedavisiz bırakılırsa epidural boşluğa uzanım ya da kolumna vertebralis dengesinin bozulması ile paraliziyi de içeren nörolojik sekillere yol açabilir. Uzun süren osteomyelitin nadir komplikasyonları arasında amiloidoz, kronik fistül yerinde yassı hücreli karsinom ya da osteojenik sarkom gibi primer kemik maligniteleri yer alır. Osteomyelit zemininde malignans gelişme oranı %1'den az bildirilmektedir. Genellikle bunun habercisi fistül ağzında akıntı ve ağrının artmasıdır. Kanser kuşkusu durumunda sinüs yolunun derin kısmı dahil fistül kanalı tamamen çıkarılmalıdır⁹³.

2.10. Prognoz

Komplikasyonsuz akut hematojen osteomyelitli hastaların erken tedavi sonuçları iyidir. Bu hastalarda prognoz; etken organizma, tedaviden önceki belirtilerin süresi, hastanın yaşı ve antibiyotik tedavisinin süresi gibi faktörlerle ilişkilidir. Akut hematojen osteomyelit tedavisi gören hastalarda %10 ile %20 oranında nüks gözlenir⁹⁴. Nüks, erişkin hastalar, gereken süreden daha kısa süre tedavi alanlar ve Gram negatif organizmalara bağlı hematojen osteomyeliti olan hastalarda daha yüksektir⁹⁵. Tekrarlayan enfeksiyonu olan hastaların

sadece %50'si cerrahi debridman ve 4-6 haftalık intravenöz antibiyotik ile iyileştirilebilir. Akut hematojen osteomyelit, kronik enfeksiyon gelişmesini önlemek için etkin bir şekilde ve yeterli süre tedavi edilmelidir⁸.

Vertebral osteomyelitte erken tanı ile birlikte yeterli ve uygun tedavi verilirse prognoz genellikle iyidir. Bu hastalarda mortalite %5-7 ve kalıcı nörolojik hasar %7-12 oranında bildirilmiştir. Hastaların %80 ile %90'ının sadece antibiyotik tedavisi veya cerrahi eklenmesi ile sorunsuz olarak iyileşebilirler^{96,97}.

Uygun kemoterapiyle iskelet tüberkülozunun prognozu iyidir. Vertebra dışı tutulum olan olgularda deformite ve tutulan eklemlerde fonksiyonel bozukluk sonucu sekel gelişimi sıktır. Bu hastaların çoğunda kemoterapiye ek cerrahi gereksinimi yoktur⁹⁸. Omurganın tüberküloz enfeksiyonunun en ciddi komplikasyonları menenjit ve parapleji gibi merkezi sinir sistemi tutulumlarıdır.

2.11. Vankomisin

Bu çalışmada, biyobozunur sistemin salınacak antibiyotiği olarak seçilen vankomisin, 1958 yılında kullanıma giren trisiklik glikopeptid yapıda bir antibiyotiktir⁹⁹. Vankomisin, mide-barsak kanalından absorbe edilmez, sistemik enfeksiyonların tedavisi için sadece parenteral (intravenöz) kullanılır. Ağızdan sadece, Clostridium difficile veya stafilokoklara bağlı enterokolitlerde barsakta lokal etki oluşturmak için kullanılır. Bunun dışında, sistemik enfeksiyonların tedavisi için vankomisin oral formülasyonu yoktur^{100,101}. Vankomisin farmakokinetik özellikleri arasında, oral absorpsiyonun son derece düşük olması, presistemik metabolizmasının olmaması, plazma yarılanma ömrünün 5-11 saat arasında olması ve plazma proteinlerine bağlanma oranının %50 olması sayılabilmektedir⁹⁹. Vankomisin parenteral yoldan (i.v.) kullanım dozu, erişkinler için 6 saatte bir 500 mg veya 12 saatte bir 1 g iken, çocuklarda 6 saatte bir uygulanması gereken ilaç dozu 10 mg/kg'dır⁹⁹.

2.12. Siyanoakrilat

Bu çalışmada vankomisin partiküllerini tutan ve lokal yavaş salınımını sağlayan materyal olarak kullanılan N-butyl-2-siyanoakrilat (NBCA, N butyl

cyanoacrylate); biyobozunur, hemostatik, alerjen olmayan ve geniş klinik kullanım alanı olan bir doku yapıştırıcısıdır. Sık kullanım alanları, arteriyovenöz malfarmasyonlar, arteryal anevrizmalar, retinal rüptür, korneal perforasyon, cilt yaralanmaları ve cilt grefti alınan bölgelerdir. Aynı zamanda koloidal ilaç taşıyıcılarında ilaç nanopartiküllerinin etrafında ince bir duvar oluşturması için kullanılmaktadır. Siyanoakrilatın katılaşması hafif bir ekzotermik reaksiyonla gerçekleşir. Yaklaşık katılaşma süresi 1-5 dakika arasındadır. Bu süreyi etkileyen en önemli faktör ortam nemidir. Biyolojik olmayan ortamda siyanoasetat ve formaldehite hidrolize olur. Biyolojik ortamda CO₂ ve az miktarda siyanoasetata parçalanır. NBCA'nın son ürünleri ya idrarla ya da feçesle yaklaşık 1 yılda atılır. Siyanoakrilatın en önemli yan etkisi lokal inflamatuvar yanıt oluşturmasıdır. Bu etki siyanoakrilatın parçalanma miktarı ile doğru oranlıdır. N-butil-2-siyanoakrilat yeni bir formülasyon olup, siyanoakrilatın eski formlarına göre daha uzun alkil zinciri içerir. Buna bağlı olarak eski formlara göre daha uzun olan 2-4 aylık yarı ömrü vardır. Eski kısa alkil zincirli formlara göre daha az lokal inflamatuvar yanıt oluşturması avantajıdır. N-butil-2-siyanoakrilat ticari olarak 0,5 ml steril tüplerde satılmaktadır².

2.13. Jelatin Sünger

Bu çalışmada biyobozunur lokal ilaç salınım sisteminin çatı iskelesi olarak kullanılması planlanan spongostan doğal kaynaklardan elde edilen, jelatin sünger yapısında, lokal hemostatik ajan olarak geniş klinik kullanımı olan bir üründür. Bu materyalin İn vivo olarak iyi tolere edilebildiği ve yara iyileşmesini bozmadığı bildirilmektedir. Daha önceki çalışmalarda spongostan uygulanan olgularda üçüncü gün parçalanma ve lökosit infiltrasyonu olduğu saptanmış. İkinci haftada spongostanın parçalara ayrıldığı fark edilmiş. Dördüncü haftada küçük kalıntılar dışında spongostanın büyük kısmının bozunduğu ve altıncı haftada ise materyalin tamamen yok olduğu saptanmıştır^{102,103}.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Etik Kurul Onayı

Çalışma Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındıktan sonra (17.01.2011 tarih ve 2010/04 sayılı onay belgesi) Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinde yapılmıştır.

3.2. Deneysel Hayvanları ve Deneysel Yapıldığı Ortam

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde bulunan deneysel Tıp Araştırma merkezinden alınan 75 adet (200 – 240 mg ağırlığındaki 1 – 1,5 yaş arası) Sprague-Dawley albino cinsi dişi ratlar ile yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce tüm ratlar standart laboratuvar kafeslerinde 1 – 2 hafta standart laboratuvar diyeti ve su erişimi altında 12 saatlik gündüz/gece döngüsü, 22 – 25⁰ oda sıcaklığında tutulmuştur. Çalışma sürecinde ratlara uygun yem ve sınırsız su verilmiştir.

3.3. Çalışma gruplarının planlanması

Bu çalışmada rutin klinik uygulamalarda sık başvuru osteomyelit tedavi protokollerinin geliştirdiğimiz lokal biyobozunur vankomisin taşıyıcı sistem ile rat osteomyelit modelindeki etkilerinin karşılaştırılması planlandı. Bu amaçla 3 çalışma grubu düşünüldü. Her üç grupta rutin klinik uygulama algoritmasını taklit edecek şekilde tespit materyali çıkarılması ve enfekte alanın debridmanı planlandı. Üç gruptan ilkinde sistemik vankomisin uygulanması, ikincisinde hem sistemik vankomisin hem de lokal taşıyıcı sistemin uygulanması ve üçüncüsünde lokal taşıyıcı sistemin uygulanması uygun görüldü (Tablo 3). Rutin klinik uygulamalarda debridman artı parenteral antibiyotik uygulaması dışında sıkça başvuru diğer yöntem lokal PMMA taşıyıcı sistemlerin uygulanmasıdır. Bu yöntemde kullanılan taşıyıcı sistemin biyobozunur olmaması ve çıkarılma gereksinimi nedeniyle geliştirdiğimiz biyobozunur sistem ile yöntem açısından kıyaslanamayacağı düşünüldü ve bu yönden bir planlama yapılmadı. Planladığımız çalışma üç ana aşamayı kapsamaktaydı. Bu aşamalar; osteomyelit modeli oluşturma, osteomyelit oluşumunun tayini ile tedaviye başlama ve deneklerin sakrifikasyonu, örnek alma ve sonuçların

değerlendirilmesiydi. Her çalışma grubundaki deneklerin yarısının 18. gün diğer yarısının 28. günde sakrifiye edilmesi ve alınan kemik doku ile kan örneklerinde mikrobiyolojik yönden tedavi yöntemlerinin etkinliği, doku vankomisin düzeyi ve vankomisinin olası yan etkisi açısından serum kreatinin düzeylerinin araştırılması planlandı.

3.4. Osteomyelit Oluşturmak için Kontamine Yabancı Cisimlerinin Hazırlanması

Osteomyelit modeli oluşturmak için kullanılan *S aureus* suşu kan kültüründe MRSA üremesi olan enfektif endokardit hastasından elde edilmiştir. Kalp kapak replasmanı yapılan hastanın kalp kapağından da aynı MRSA suşunun üremiş ve bu suş enfektif kabul edilerek çalışmamız için ayrılmıştır. Suş yeniden canlandırma sonrası spektrofotometrede 2 Mcfarland'lık solüsyonlar şeklinde hazırlandı. Çalışmada kullanılan 1,5 mm'lik Kirschner (K) telleri, solüsyon hazırlanmadan bir gün önce her biri 1 cm uzunluğunda kesilerek uçları büküldü. Sterilize edilerek hazır hale getirilen K telleri (Resim 1) üzerinde biofilm oluşması için 18 saat süresince MRSA suş solüsyonu içerisinde bekletildi. Bu sürenin sonunda teller fosfat tamponuna alındı. Fosfat tamponunun temel amacı üzerinde biofilm oluşan yabancı cismin çevresindeki asit baz dengesini sağlamak ve ortamı fizyolojik sınırlarda tutarak, bakteriler için uygun üreme ortamının sürekliliğini sağlamaktı^{71,104}.



Resim 1: Yabancı cisim olarak kullanılan hazırlanmış K telinin görünümü

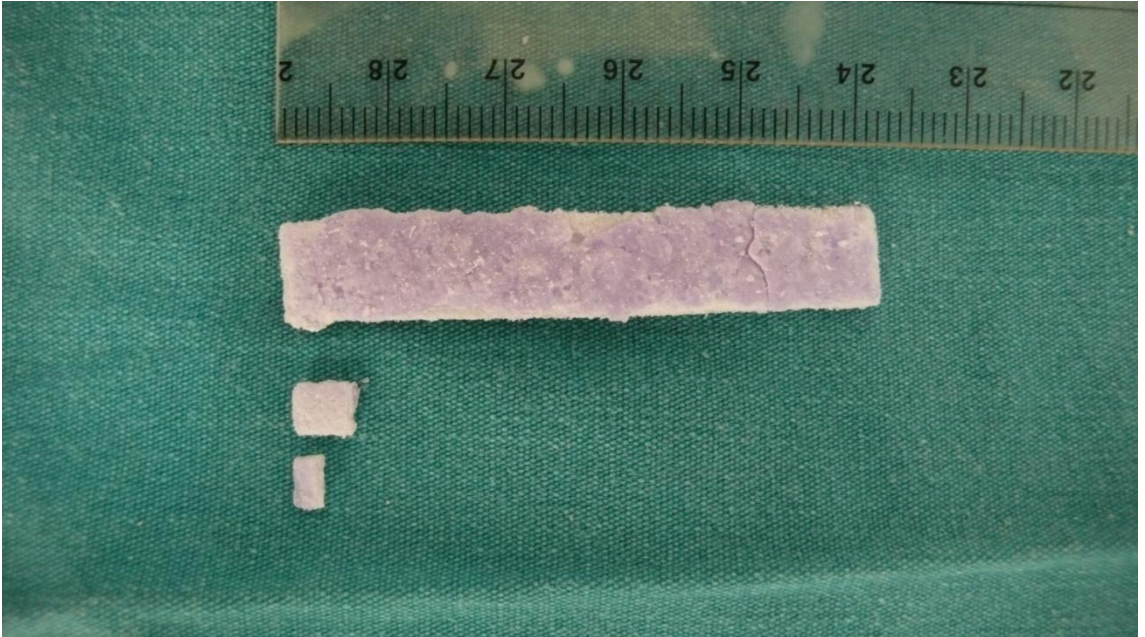
3.5. Lokal Biyobozunur Vankomisin Taşıyıcı Sistemin Hazırlanması

Deneyde kullanılacak olan lokal biyobozunur taşıyıcı sistem in vivo yerleştirme planlanan bir gün önce steril ortamda hazırlandı ve sterilite uygulama sonlanana kadar korundu. Üretilen sistem çatı iskelesi olan jelatin sünger (GelSpon-P, Eucare Pharmaceuticals, India) orijinal olarak 80x50x10 mm ölçülerindeydi. Bu sünger, bistüri ile kesilerek, 5 adet 50x10x2 mm ölçülerinde şeritler elde edildi. Hazırlanan her şeride yüklenecek olan 200 mg vankomisin (Vankomisin HCL, Orna, Germany) hassas terazide steril olarak ölçüldü. Steril petri kapları içerisinde 200 mg'lık vankomisin, 2 ml hacmindeki siyanoakrilat (Histoacryl, Aesculap, Tuttlingen, Germany) ile karıştırılıp, hamur kıvamına getirildi. Bu hamur, sünger şeridinin 50x10 mm'lik geniş olan her iki yüzeyine, mümkün olduğu ölçüde homojen konsantrasyonda yayılacak şekilde sürüldü (Resim 2). Bu şekilde salınım sisteminde kullanılan vankomisin ve siyanoakrilat miktarları daha önceki çalışmamızda kullanılan ve en uzun süre salınım sağladığı belirlenen gruptaki miktar düzeyinde ayarlandı². Hazırlanan taşıyıcı sistem şeritleri, 10 mm olan yanlarından ikiye bölünerek, iki adet 50x5x2 mm'lik eşit parça elde edildi. Bunlar da 50 mm olan yanlarından 5 eşit parçaya bölünerek 5'er adet 10x5x2 mm'lik şerit elde edildi. Bu şeritler de 4'er eşit parçaya bölündü ve sonuç olarak 200 adet 2.5X5X2 mm'lik küçük parça elde

edildi (Resim 3). Uygulama esnasında her denekte mümkün mertebe eşit düzeyde vankomisin ve siyanoakrilat miktarı yerleştirmek için bu parçalardan rastgele seçilen 4'er adedin yerleştirilmesi planlandı. Bu parçalar rat modelinde kullanılacak zamana kadar steril petri kaplarında saklandı.



Resim 2: 50x10x2 mm ölçülerde hazırlanmış spongostan ve üzerine homojen dağıtılmış olan siyanoakrilat



Resim 3: En küçük parçanın (2,5x5x2 mm) görünümü

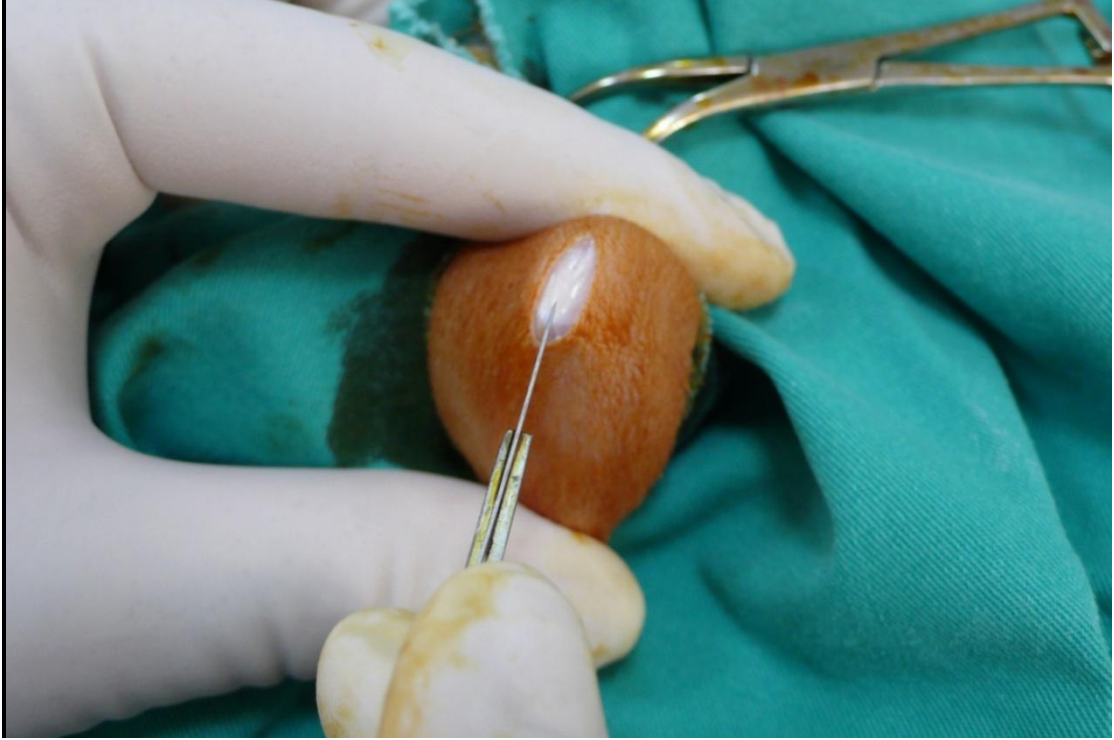
3.6. Osteomyelit modeli oluşturma

Ratlara, 10 mg/kg Ksilazin hidroklorur (Rompun®, Bayer, Türkiye) ve 90 mg/kg ketamin (Ketasol®, İnterhas, Türkiye) intraperitoneal verilerek, genel anestezi uygulandı. Uygulamadan 5 dakika sonra ilk ilaç verilen rattan başlanarak cerrahi aşamaya geçildi. Girişimler esnasında ratların solunumu yetmezliğe girme yönünden aralıklı olarak kontrol edildi. Ratlar 20 x 20 cm lik tahta zemin üzerine yatırılarak sadece sol ayağı serbest kalacak Şekilde diğer uzuvları bantlandı. Tıraş edilen sol bacakları povidon iyodin ile boyandı ve steril delikli örtü ile örtülerek cerrahi işleme geçildi (Resim 4).



Resim 4: Steril boyanıp örtülerek hazır hale getirilen ratın sol bacağının görünümü

Sol diz orta hat cilt kesisi yapıldı ve patellar tendon lateralinden girildi (Resim 5). Tibia proksimal metafizine (tuberistas tibia üzerinden) 2,2 mm matkap ucu ile girilerek, 10 mm derinliğine kadar oluk açıldı (Resim 6).



Resim 5: sol diz orta hat kesisi



Resim 6: Tibia proksimalinin drillenmesi

Daha önceden hazırlanmış olan K telleri açılan oluğa yerleştirildi (Resim 7 – Resim 8). Cilt 3.0 ipek ile dikilerek ameliyat sonlandırıldı (Resim 9). Birinci aşamanın ardından ilk gün iki rat eksitus oldu.



Resim 7: Önceden hazırlanan K tellerinin kemiksel oluğa yerleştirilmesi



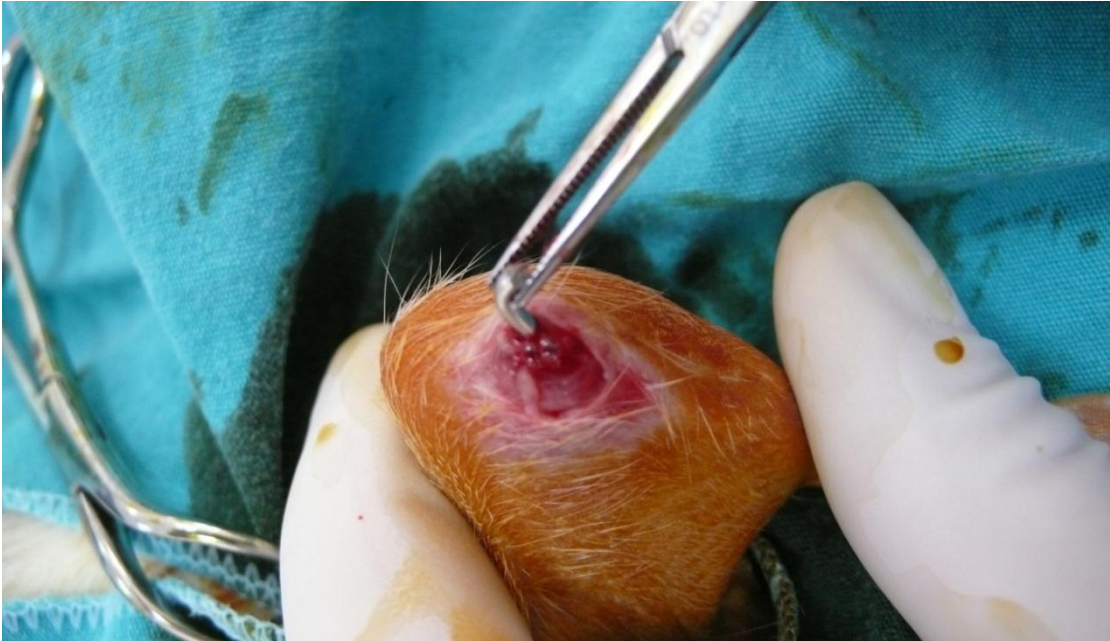
Resim 8: Kemiksel oluğa yerleştirilmiş yabancı cismin görünümü



Resim 9: Sutürasyon sonrası görüntü

3.7. Osteomyelit tayini ve tedaviye başlama

Deneklerde anestezi ve cerrahi stresi azaltmak amacıyla; osteomyelit oluşumunu tayin etmek için örnek alma, klinik uygulamaları taklit edecek şekilde tespit materyalini çıkarma, debridman ve lokal antibiyotik salınım sistemini yerleştirme işlemleri tek seansta yapıldı. İkinci aşama öncesi tüm hayvanlarda osteomyelit oluşup oluşmadığı bilinmediğinden denekler kafeslerden rastgele alınarak, çalışma gruplarına (Tablo 3) dahil edildi. Rastgele alınan ilk 23 rat sistemik vankomisin (SV), sonraki 25 rat sistemik+lokal vankomisin (SL) ve son 25 rat lokal vankomisin (LV) grubuna dahil edildi. Osteomyelit tayin işleminden sonra osteomyelit oluşmayan ratların çalışma dışı bırakılması planlanmıştır. Ancak tüm ratlarda osteomyelit oluşması üzerine hiç bir rat çalışma dışı bırakılmadı. Kafeslerden rastgele alınan ve numaralandırılan ratlara 10mg/kg Ksilazin hidroklorur (Rompun®, Bayer, Türkiye) ve 90 mg/kg ketamin (Ketasol®, İnterhas, Türkiye) intraperitoneal uygulanarak genel anestezi sağlandı. Deneklerin sol dizleri tıraşlandı, batikon ile boyandı ve steril delikli örtü ile örtüldü. Önceki kesisi kullanılarak, yerleştirilmiş olan K telleri, bulunduğu takdirde çıkartıldı (Resim 10). Osteomyelit varlığını belirlemek için çıkarılan K telleri ya da debridman materyali kültür çalışması için kanlı agara kondu (Resim 11).



Resim 10: 1. Aşamada konan K telinin çıkartılması



Resim 11: Kanlı agar görüntüsü

Osteomyelit tedavisinin temel ilkesindeki gibi enfekte ve ölü dokuların debridmanı amacıyla K tellerinin çıkartılması ve debridman amaçlı bu bölgenin 2.2 mm'lik matkap ucu ile drillenmesi planlandı. Olguların 11'inde K tellerinin çıkarılması mümkün olmadı. Bunun nedeni, açılmış olan oluk çapının K teli çapından büyük olması ve posterior tibial korteksi delinen ratlarda K telinin, ucu eğimli olmasına rağmen, derine ilerlemesi ve görünür halden çıkmış olması olarak düşünüldü. Kirschner teli çıkartılamayan ratlar buldukları gruptan çıkarılmadı ve planlanan tedavi protokolüne sadık kalarak haklarındaki işlemler sürdürüldü. Ancak sonuçların değerlendirme aşamasında mikrobiyolojik belirleyiciler yönünden çalışma dışı bırakılırken, doku vankomisin düzeyi ve kreatinin değerleri açısından gruplara dahil tutuldu. Bunun nedeni, K teli varlığının mikrobiyolojik yönden sonuçlar üzerinde etkili olabileceği, ancak doku vankomisin ve kreatinin düzeyi açısından etkili olmadığı düşünülmesi idi. Sonuç olarak SL-18 grubunda 3 rat, SL-28 grubunda 4 rat, SV-18 grubunda 2 rat ve SV-28 grubunda 2 rat olmak üzere K teli çıkarılamayan toplam 11 rat mikrobiyolojik çalışma dışı bırakıldı. Grupların tanımlayıcı detayları ve denek sayıları Tablo 3'te verilmektedir.

Planlanan ana gruplar ve denek sayıları	Çalışma gruplar (18 ve 28. Gün sakrifikasyonuna göre)	Mikrobiyolojik belirleyiciler için denek sayısı	Doku vankomisin ve serum kreatinin için denek sayısı	Eksitus
Sistemik vankomisin grubu (SV, n=23)	SV-18	9	11	
	SV-28	10	12	
Sistemik + lokal vankomisin grubu (SL, n=25)	SL-18	9	12	1
	SL-28	7	11	1
Lokal vankomisin grubu (LV, n=25)	LV-18	12	12	1
	LV-28	12	12	

Tablo 3: Çalışma gruplarının tanımları, adlarının kısaltmaları ve denek sayıları

3.8. Antibiyotik Uygulama Süreçleri

Sistemik vankomisin (SV) grubunda, K tellerinin çıkartılması ve kemiksel oluğun drillenmesinden (Resim 12) sonra cilt kapatılarak, sakrifiye edilecekleri güne kadar 20 mg/kg/gün olacak şekilde intraperitoneal vankomisin verildi. Sistemik+lokal vankomisin (SL) grubunda daha önceden hazırlanan 2.5X5X2 mm'lik taşıyıcı sistem parçalarından 4'er adet rastgele seçilerek, kemiksel oluğa yerleştirildi ve cilt kapatıldı. Bu grupta da sakrifiye edilecekleri güne kadar 20 mg/kg/gün intraperitoneal sistemik vankomisin tedavisi uygulandı. Lokal vankomisin (LV) grubunda daha önceden hazırlanan 2.5X5X2 mm'lik taşıyıcı sistem parçalarından 4'er adet rastgele seçilerek, kemiksel oluğa yerleştirildi (Resim 13) ve cilt kapatıldı.



Resim 12: Yabancı cisim çıkartıldıktan sonra enfekte alanın drillenmesi



Resim 13: Antibiyotik taşıyıcı sistemin kemik oluğa yerleştirilmesi

Tüm gruplar için tedavi seçenekleri uygulanmasının ardından birinci gün SL-18 ve LV-18 gruplarından birer rat olmak üzere iki rat eksitus oldu. Takipler sırasında tedavi sürecinin 8. gününde SL-28 grubundan bir rat daha eksitus

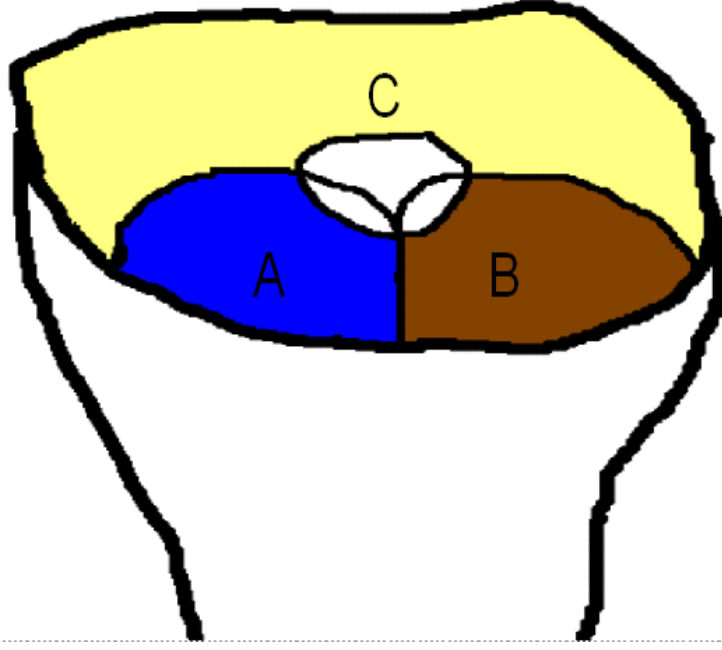
oldu. Kalan 70 rat ile çalışma tamamlandı. Bu ratların gruplara göre dağılımı Tablo 3'te gösterilmiştir.

3.9. Osteomyelit Oluşumunun Tayini

Kanlı agara konmuş olan deneklerden çıkartılan K telleri ve K teli çıkartılmayanların debridman materyalleri kullanılarak, kantitatif doku kültürü şeklinde ekim yapıldı. Kùltürler, 37 derecede 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda değerlendirildi. Tüm örneklerde MRSA'nın tek mikroorganizma olarak ürediği ve suşlar VITEK 2 yöntemiyle kıyaslandığında osteomyelit modelini oluşturmak için kullanılan suş ile aynı olduğu saptandı. Tüm ratlarda osteomyelit oluştuğu kabul edildi.

3.10. Deneklerin Sakrifikasyonu ve Örnek Alma

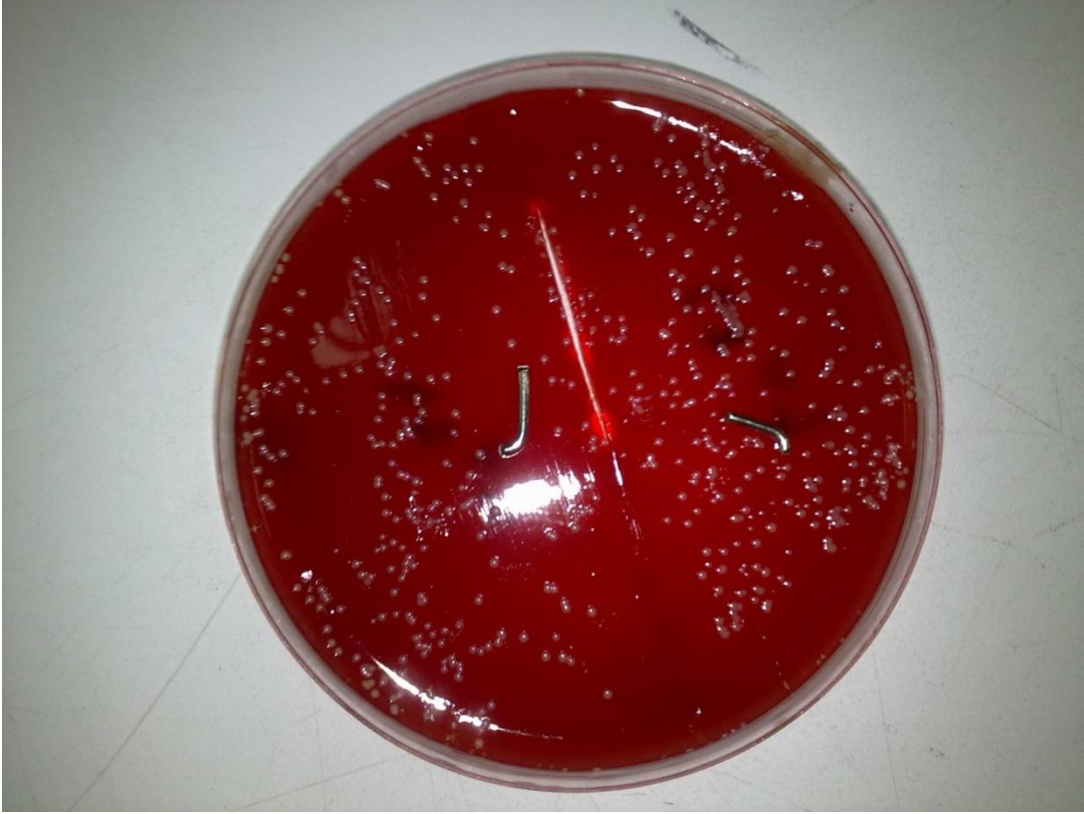
Tedaviye başladıktan sonraki 18. günde, SV-18, SL-18 ve LV-18 çalışma gruplarında bulunan denekler sakrifiye edilerek, kan ve doku örnekleri alındı. Ratlara, 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun®, Bayer, Türkiye) ve 90 mg/kg ketamin (Ketasol®, İnterhas, Türkiye) intraperitoneal verilerek, genel anestezi uygulandı. Ardından ratların toraksları açılarak kalp kanı boşaltılarak sakrifiye edildi. Alınan kan örnekleri 2'şer adet 2 ml'lik Edta'lı tüpe kondu ve biyokimya laboratuvarına gönderildi. Deneklerin sol dizleri tıraşlandı. Sol bacakları batikon ile boyanıp steril delikli örtü ile örtüldü. Tibia proksimal metafizer kısmı yumuşak dokularından sıyrıldı. Sakrifiye edilen ratların tibia proksimal ucu Şekil 1'deki gibi üç ayrı bölgeye bölünerek 3 ayrı örnek alındı. Şekil 1'deki şematik görünümünün A bölgesine denk gelen bölümler biyokimyasal inceleme için eppendorflara kondu. B bölümleri mikrobiyolojik inceleme için kanlı agara alındı. C bölümleri histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlanmış formalin çözeltisine kondu. Histopatolojik çalışmalar tez hazırlanma süresi içerisinde sonuçlanmadığından teze dahil edilmedi.



Şekil 1: Tibia proksimal uçtan örnek alınan bölgelerin şematik görünümü

3.11. Mikrobiyolojik Çalışma

Kanlı agara konmuş tibia proksimal uç kemik örnekleri Mersin Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları Mikrobiyoloji Laboratuvarına nakledildi. Bu örneklerden kantitatif doku kültürü şeklinde ekim yapıldı. Agarlar etüv ortamında 37 derecede 24 saat inkübe edildi (Resim 14). Bu sürenin sonunda plaklar değerlendirilerek kantitatif koloni sayıları (CFU/ml) belirlendi.



Resim 14: 24 saat sonra kanlı agar görüntüsü

3.12. Biyokimyasal Çalışma

Edta'lı tüpe konmuş olan kan örnekleri, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D. laboratuvarına nakledildi. Her denekten alınan iki örnekten birinde öncelikle beyaz küre sayısı çalışıldı. Geri kalan kan örnekleri 4000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazması hücresel kısmından ayrıldı. Daha sonra CRP, kreatinin, IL-6, prokalsitonin ve kan vankomisin düzeyi ölçülmesi amacıyla 5 ayrı eppendorf tüpüne eşit olarak bölündü. Bu örnekler çalışılacağı güne kadar bekletilmek üzere – 20 derecede saklandı.

Biyokimyasal çalışma için alınan ve eppendorf tüpüne konan kemik doku bölümü çalışılacağı güne kadar bekletilmek üzere – 20 derecede saklandı.

Beyaz küre sayısı, CRP, IL-6 ve prokalsitonin değerleri enfeksiyöz ve inflamatuvar sürecin göstergeleri olarak belirlendi. K teli çıkarılmayan olgularda bu göstergeler çalışılmasına rağmen değerlendirmeye dahil edilmedi. Beyaz küre sayısı, Sysmex XT2000i hemogram cihazında (Sysmex Asia Pacific Pte

Ltd and Sysmex Corporation of Japan), tam kanda direct current metodu ile ölçüldü. C-reaktif protein, prokalsitonin ve IL-6 çalışmak için önceden eppendorflarda saklanan plazma örnekleri, çalışılacağı gün – 20 dereceden çıkarılıp oda sıcaklığında çözünmeleri sağlandı. C-reaktif protein, parçacıkla güçlendirilmiş immünotürbidimetrik yöntem ile Integra 800 biyokimya otoanalizöründe (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim) çalışıldı. Prokalsitonin, ADVIA Centaur XP otoanalizöründe (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Tarrytown, NY, 10591-5097, USA) sandviç immunometrik kemilüminesans yöntem ile çalışıldı. İnterlökin-6 İmmulite 2000 otoanalizöründe (Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. Llanberis, Gwynedd LL55 4EL, United Kingdom) enzim işaretli, ardışık immünometrik kemilüminesans testi ile çalışıldı.

Biyokimyasal teknikler ile ölçülen doku ve serum vankomisin ve serum kreatinin seviyeleri mikrobiyolojik ve enfeksiyöz olmayan göstergeler olarak kabul edildi. K teli çıkarılmayan olgular da dahil tüm deneklerde bu göstergeler çalışıldı ve değerlendirmeye dahil edildi. Bu göstergelerin çalışılması için – 20 derecede saklanan ilgili örnekler öncelikle oda sıcaklığında çözünmeleri sağlandı. Plazma kreatinin tayini, Integra 800 biyokimya otoanalizöründe (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim) enzimatik kolorimetrik yöntemle yapıldı. Kan vankomisin düzeyi Integra 800 biyokimya otoanalizöründe (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim) homojen enzimatik immünometrik yöntemle çalışıldı. Doku vankomisin düzeyi tayini için kemik doku örneklerinin fosfat tampon ortamında bekletilmesi ve doku vankomisininin sıvı ortamına geçişi planlandı. Salin-fosfat tamponunu (0,5 ml); 0.15 mol/L NaPO₄ ve 0.15 mol/L NaCl ile pH 7,2 olacak şekilde hazırlandı. Doku örnekleri, her 100 mg kemik için 0,5 ml solüsyon olacak şekilde, hazırlanan fosfat tamponu içerisinde 37 C° de 24 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda solüsyonda vankomisin düzeyi çalışıldı. Doku vankomisin düzeyi elde edilen solüsyonda Integra 800 biyokimya otoanalizöründe (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim) homojen enzimatik immünometrik yöntemle çalışıldı.

3.13. İstatiksel Çalışma

Çalışma gruplarının sonuçları SPSS paket programı (SPSS For Windows®,Chicago, USA) kullanılarak karşılaştırıldı. Parametrik değişkenler için (koloni sayıları, beyaz küre, CRP, IL-6, kreatinin ve doku vankomisin düzeyleri) One – Way Anova testi kullanıldı. Non-parametrik (kategorik) değişkenler olan apse varlığı ve üreme yokluğu için Mann - Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel fark, P değeri 0,05'ten az olduğunda, anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada toplam 75 Sprague Dawley albino cinsi dişi rat kullanıldı. Osteomyelit model oluşturmak üzere opere edilen ratlardan ikisi uygulama sonrası 1. günde eksitus oldu. Yirmi gün sonra osteomyelit varlığının belirlenmesi ve grupların oluşturulup tedavi başlanması için tekrar cerrahi yapıldı. Osteomyelit oluşturma işleminin deneklerin tamamında başarılı olduğu tespit edildi. Bu dönemde üç rat daha (LV grubundan bir ve SL grubundan iki adet) eksitus oldu. Sonuç olarak gruplar şu şekilde oluştu; sistemik vankomisin grubu (SV, n= 23), sistemik + lokal vankomisin grubu (SL, n=23) ve Lokal vankomisin grubu (LV, n=24).

4.1. Enfeksiyonun Belirleyicileri Açısından Bulgular

Bu belirleyiciler klinik apse varlığı, kültürde üreme yokluğu, kantitatif kültürde koloni sayısı, Kan beyaz küre sayısı, serum CRP, IL-6 ve prokalsitonin düzeyleri idi. Bu belirleyicilerin K telinin kemiksel olukta kalmasından etkilenebilecekleri düşünüldü. Bu yüzden K teli çıkarılmayan deneklerde bu belirleyiciler çalışılmasına rağmen sonuçlar değerlendirmeye dahil edilmedi.

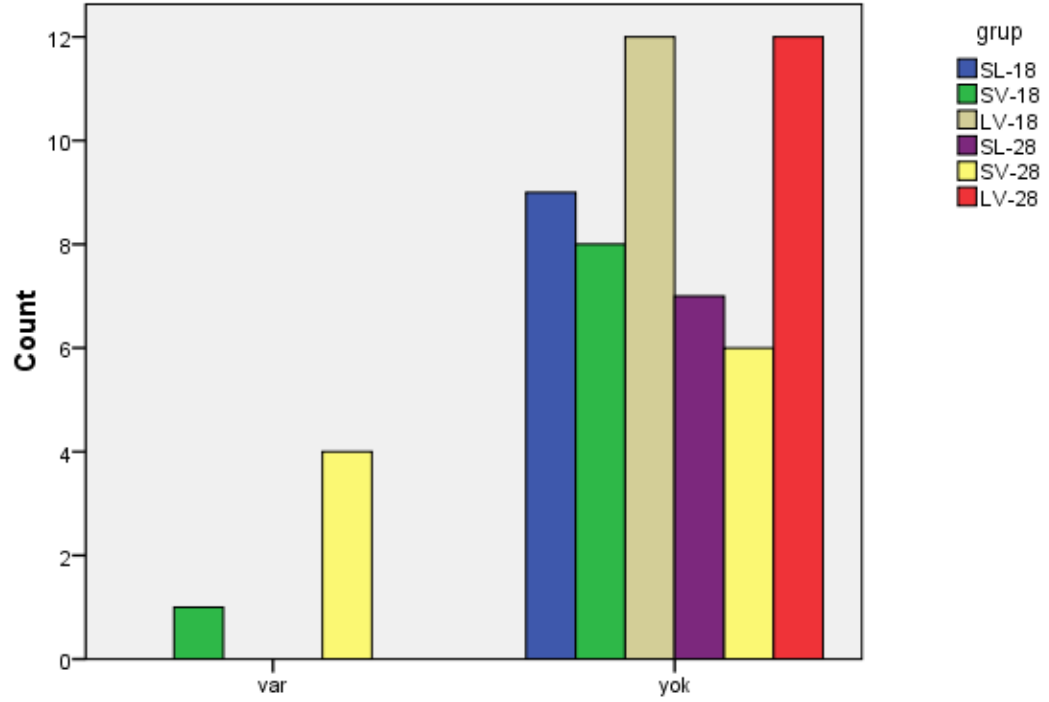
Çalışma gruplarının apse varlığı, kültürde üreme yokluğu ve kantitatif kültürde koloni sayısı açısından sonuçları Tablo 4'te verilmektedir. Grupların apse varlığı ve kültürde üreme yokluğu açısından olgu dağılım grafikleri Şekil 2 ve Şekil 3'de verilmektedir. Çalışma gruplarının klinik olarak apse varlığı açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 5'te verilmektedir. Bu değerlendirmeye göre SV-28 ile LV-28 grupları arasında anlamlı fark ($p=0.018$) saptandı. Çalışma gruplarının kültürde üreme yokluğu açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 6'da verilmektedir. Bu değerlendirmeye göre gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Çalışma gruplarının kantitatif kültürde koloni sayısı açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 7'de verilmektedir. Bu değerlendirmeye göre gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

Gruplar ve total sayıları	Apse varlığı	Kültürde üreme yokluğu	Kantitatif kültürde koloni sayısı (CFU)*
SV-18 (n=9)	1 olgu(+) % 11	2 (% 22)	19222,22 ± 22857,04 (n=7)
SL-18 (n=9)	0 olgu(+) % 0	2 (% 22)	38444,44 ± 47849,01 (n=7)
LV-18 (n=12)	0 olgu(+) % 0	0 (% 0)	42166,66 ± 37262,78 (n=12)
SV-28 (n=10)	4 olgu(+) % 40	0 (% 0)	33100,00 ± 13924,00 (n=10)
SL-28 (n=7)	0 olgu(+) % 0	2 (% 29)	17857,14 ± 17648,68 (n=5)
LV-28 (n=12)	0 olgu(+) % 0	0 (% 0)	19000,00 ± 19230,65 (n=12)

Tablo 4: Çalışma gruplarının apse varlığı, kültürde üreme yokluğu ve kantitatif kültürde koloni sayısı açısından sonuçları

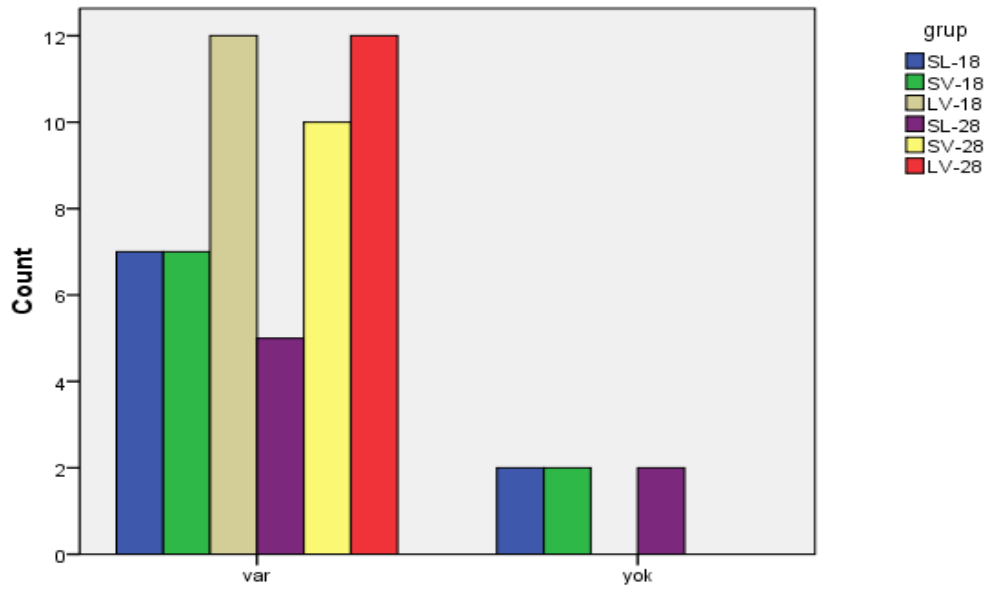
*Üreme olmayan olgular hariç tutulmuştur.

Abse durumuna göre
olguların dağılımı



Şekil 2: Grupların apse durumuna göre olgu dağılımı

Üreme durumuna göre
olgu dağılımı sayısı



Şekil 3: Grupların kültürde üreme durumuna göre olgu dağılımı

<i>SL-18</i> (<i>n=9</i>)	P=0,317					
<i>LV-18</i> (<i>n=12</i>)	P=0,248	P=1,000				
<i>SV-28</i> (<i>n=10</i>)	P=0,165	-				
<i>SL-28</i> (<i>n=7</i>)	-	P=1,000	-	P=0,063		
<i>LV-28</i> (<i>n=12</i>)	-	-	P=1,000	P=0,018	P=1,000	
	<i>SV-18</i> (<i>n=9</i>)	<i>SL-18</i> (<i>n=9</i>)	<i>LV-18</i> (<i>n=12</i>)	<i>SV-28</i> (<i>n=10</i>)	<i>SL-28</i> (<i>n=7</i>)	<i>LV-28</i> (<i>n=12</i>)

Tablo 5: Grupların apse varlığına göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları

<i>SL-18</i> (<i>n=9</i>)	P=1,000					
<i>LV-18</i> (<i>n=12</i>)	P=0,094	P=0,094				
<i>SV-28</i> (<i>n=10</i>)	P=0,125	-				
<i>SL-28</i> (<i>n=7</i>)	-	P=0,778	-	P=0,081		
<i>LV-28</i> (<i>n=12</i>)	-	-	P=1,000	P=1,000	P=0,057	
	<i>SV-18</i> (<i>n=9</i>)	<i>SL-18</i> (<i>n=9</i>)	<i>LV-18</i> (<i>n=12</i>)	<i>SV-28</i> (<i>n=10</i>)	<i>SL-28</i> (<i>n=7</i>)	<i>LV-28</i> (<i>n=12</i>)

Tablo 6: Grupların kültürde üreme yokluğuna göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları

<i>SL-18</i> (<i>n=9</i>)	P=1,000					
<i>LV-18</i> (<i>n=12</i>)	P=1,000	P=1,000				
<i>SV-28</i> (<i>n=10</i>)	P=1,000	-				
<i>SL-28</i> (<i>n=7</i>)	-	P=1,000	-	P=1,000		
<i>LV-28</i> (<i>n=12</i>)	-	-	P=0,870	P=1,000	P=1,000	
	<i>SV-18</i> (<i>n=9</i>)	<i>SL-18</i> (<i>n=9</i>)	<i>LV-18</i> (<i>n=12</i>)	<i>SV-28</i> (<i>n=10</i>)	<i>SL-28</i> (<i>n=7</i>)	<i>LV-28</i> (<i>n=12</i>)

Tablo 7: Grupların kantitatif kültürde koloni sayılarına göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları

Çalışma gruplarının beyaz küre, CRP ve IL-6 açısından sonuçları Tablo 8'de verilmektedir. Yukarıdaki enfeksiyon ile ilgili parametrelere ek olarak deneklerden alınan kan örneklerinde prokalsitonin parametresi de çalışılmıştır. Ancak tüm olgularda ölçülebilir titrenin altında kalması nedeniyle bu parametre çalışma dışı bırakılmıştır. Sakrifikasyon aşamasında SV-28 grubundaki bir rattan pıhtılaşma nedeniyle çalışılabilecek yeterli kan alınamadı. Kan örneklerinde pıhtı olması nedeniyle, LV-28 ve SL-28 grubundan birer denekte beyaz küre sayısı bakılmadı. Ayrıca SV-28, SL-18 ve LV-18 grubunda birer rattan plazma örneklerinde cihaz IL-6 değerini ölçemedi. Çalışma gruplarının klinik olarak beyaz küre sayıları açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 9'da verilmektedir. Bu değerlendirmeye göre gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Çalışma gruplarının CRP düzeyi açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 10'da verilmektedir. Bu değerlendirmeye göre SV-18 ve 28 grupları arasında ($p=0.044$) ve SV-28 ile LV-28 grupları arasında ($p=0.015$) anlamlı fark saptandı. Çalışma gruplarının IL-6 düzeyi açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 11'de verilmektedir. Bu değerlendirmeye göre gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

Gruplar	Beyaz küre sayısı (x10 ³ mL)	CRP (mg/L)	IL-6 (pg/mL)
SV-18	4,60 ± 2,64 (n=8)	0,025 ± 0,070 (n=8)	6,68 ± 1,44 (n=8)
SL-18	3,50 ± 1,64 (n=9)	0,016 ± 0,039 (n=9)	6,28 ± 1,17 (n=8)
LV-18	4,18 ± 1,69 (n=12)	0,089 ± 0,148 (n=12)	6,20 ± 1,23 (n=11)
SV-28	3,73 ± 1,14 (n=10)	3,312 ± 5,326 (n=10)	5,68 ± 1,62 (n=9)
SL-28	3,72 ± 1,88 (n=7)	0,132 ± 0,276 (n=7)	4,98 ± 1,58 (n=7)
LV-28	4,90 ± 2,23 (n=11)	0,004 ± 0,007 (n=12)	6,57 ± 1,18 (n=12)

Tablo 8: Grupların beyaz küre, CRP ve IL-6 değerleri açısından sonuçları

SL-18 (n=9)	P=1,000					
LV-18 (n=12)	P=1,000	P=1,000				
SV-28 (n=10)	P=1,000	-				
SL-28 (n=7)	-	P=1,000	-	P=1,000		
LV-28 (n=11)	-	-	P=1,000	P=1,000	P=1,000	
	SV-18 (n=8)	SL-18 (n=9)	LV-18 (n=12)	SV-28 (n=10)	SL-28 (n=7)	LV-28 (n=11)

Tablo 9: Grupların beyaz küre sayılarına göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları

SL-18 (n=9)	P=1,000					
LV-18 (n=12)	P=1,000	P=1,000				
SV-28 (n=10)	P=0,044	-				
SL-28 (n=7)	-	P=1,000	-	P=0,080		
LV-28 (n=12)	-	-	P=1,000	P=0,015	P=1,000	
	SV-18 (n=8)	SL-18 (n=9)	LV-18 (n=12)	SV-28 (n=10)	SL-28 (n=7)	LV-28 (n=12)

Tablo 10: Grupların CRP düzeyleri açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları

SL-18 (n=8)	P=1,000					
LV-18 (n=11)	P=1,000	P=1,000				
SV-28 (n=9)	P=1,000	-				
SL-28 (n=7)	-	P=1,000	-	P=1,000		
LV-28 (n=12)	-	-	P=1,000	P=1,000	P=0,268	
	SV-18 (n=8)	SL-18 (n=8)	LV-18 (n=11)	SV-28 (n=9)	SL-28 (n=7)	LV-28 (n=12)

Tablo 11: Grupların IL-6 düzeyleri açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları

4.2. Doku Vankomisin seviyeleri Açısından Bulgular

Bu çalışmada hem kemik doku hem de kan vankomisin düzeylerinin araştırılması planlandı ve bu yönde örnekler alınarak çalışma yapıldı. Ancak tüm gruplardaki kan vankomisin düzeyi yan etki oluşturma seviyelerinin çok altında kalması nedeniyle bu parametrenin çalışma dışı bırakılması uygun görüldü. Çalışma gruplarının doku vankomisin düzeyi açısından sonuçları Tablo 12’de ve istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 13’te verilmektedir. Bu değerlendirmeye göre SV-28 ve LV-28 grupları arasında (p=0.001) anlamlı fark saptandı.

Gruplar	Doku vankomisin Düzeyi ($\mu\text{g/ml}$)
SL-18 (n=12)	136,35 \pm 41,31
SV-18 (n=11)	101,31 \pm 2,18
LV-18 (n=12)	245,97 \pm 222,86
SL-28 (n=11)	206,67 \pm 101,01
SV-28 (n=12)	107,39 \pm 3,41
LV-28 (n=12)	335,05 \pm 199,70

Tablo 12: Grupların doku vankomisin düzeyi açısından sonuçları

SL-18 (n=12)	P=1,000					
LV-18 (n=12)	P=0,158	P=0,678				
SV-28 (n=12)	P=1,000	-				
SL-28 (n=11)	-	P=1,000	-	P=1,000		
LV-28 (n=12)	-	-	P=1,000	P=0,001	P=0,337	
	SV-18 (n=10)	SL-18 (n=12)	LV-18 (n=12)	SV-28 (n=12)	SL-28 (n=11)	LV-28 (n=12)

Tablo 13: Grupların Doku vankomisin düzeyleri açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları

4.3. Serum Kreatinin Seviyeleri Açısından Bulgular

Bu parametre vankomisin sistematik yan etkisi olan nefrotoksisite açısından değerlendirildi. Çalışma gruplarının serum kreatinin düzeyi açısından sonuçları Tablo 14'te ve istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 15'te verilmektedir. Bu değerlendirmeye göre gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

Gruplar	Kreatinin Düzeyi (mg/dL)
SL-18 (n=12)	0,242 ± 0,043
SV-18 (n=10)	0,212 ± 0,031
LV-18 (n=12)	0,223 ± 0,035
SL-28 (n=11)	0,213 ± 0,020
SV-28 (n=12)	0,210 ± 0,024
LV-28 (n=12)	0,210 ± 0,033

Tablo 14: Grupların serum kreatinin düzeyi açısından sonuçları

SL-18 (n=12)	P=0,441					
LV-18 (n=12)	P=1,000	P=1,000				
SV-28 (n=12)	P=1,000	-				
SL-28 (n=11)	-	P=0,459	-	P=1,000		
LV-28 (n=12)	-	-	P=1,000	P=1,000	P=1,000	
	SV-18 (n=10)	SL-18 (n=12)	LV-18 (n=12)	SV-28 (n=12)	SL-28 (n=11)	LV-28 (n=12)

Tablo 15: Grupların serum kreatinin düzeyleri açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları

5. TARTIŞMA

Osteomyeliti tamamen ortadan kaldıracak bir tedavi yöntemi halen tanımlanamamıştır. Başarılı bir tedavi için erken tanı, etkin cerrahi ve etkene yönelik uygun antibiyotik tedavisi gereklidir^{1,111}. Kronik osteomyelitte güncel tedavi algoritması, tespit materyali tamamı, ölü kemik ve kanlanması bozuk yumuşak dokuların uzaklaştırılması; ortaya çıkan ölü boşlukların doldurulması ve lokal ve/veya sistemik antibiyotik tedavisinden oluşmaktadır. Osteomyelit tedavisinde sistemik yoldan verilen antibiyotikler ölü kemik ve nekrotik içerikle dolu kavitelere iyi geçiş yapamadıklarından sınırlı etkiye sahiptirler. Bu antibiyotikler aynı nedenlerle çok yüksek doz ve uzun süre verildiklerinden, yan etki, uzun hastanede kalış süresi, yüksek maliyet ve ek cerrahi gereksinim dezavantajlarına sahiptirler. Lokal antibiyotiğin salınımı için genellikle kemik çimentosuna antibiyotik yüklenmiş preparatlar kullanılmaktadır. Bu preparatlar kısa antibiyotik salınım süreleri ve ek ameliyat ile çıkarılma gereksinimleri nedeni ile ideal yöntem olmaktan uzaktırlar¹. Osteomyelitin sıklığında 1900'lü yıllardan beri trafik kazaları ve modern savaşlar gibi etkenler nedeniyle artış gözlenmektedir. Diğer yandan tıp alanındaki gelişmeler, cerrahi teknik ve antibiyotik tedavisindeki tüm ilerlemelere rağmen halen tedavisi zor, maliyeti yüksek ve yaşam kalitesini düşüren bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu çalışmada, osteomyelit tedavisinde alternatif bir tedavi seçeneği geliştirme amacıyla biyobozunur lokal vankomisin taşıyıcı sistemimiz rat osteomyelit modelinde denenmiştir.

Çalışmamızda alternatif tedavi seçeneği olarak kullandığımız sistem kliniğimizde yürütülen ve 2006 yılında yayımlanan bir çalışma sonucunda geliştirilmiştir. O çalışmada sistemin in vitro ve in vivo ortamdaki vankomisin salınım özellikleri araştırılmıştır. İn vitro ortam olarak fosfat tampon kullanılmış ve sistemin 42 gün süreyle etkin salınım sağladığı belirlenmiştir. İn vivo ortam olarak sağlıklı fare kas dokusu modeli kullanılmış ve sistemin 14. güne kadar etkin salınım yaptığı, 21. günden sonra MİK değeri altında salınımına devam ettiği gözlenmiştir². Mevcut çalışmada söz konusu sistem enfekte rat kemik dokusu modeline yerleştirilmiştir. Bu modelde sistemin, enfeksiyon belirleyicileri açısından tedavi edici etkileri, belirlenen günlerde enfekte kemik dokusunda

oluşturduğu vankomisin konsantrasyon düzeyleri ve olası yan etki açısından serum kreatinin seviyeleri araştırıldı. Mevcut ve önceki çalışmalarımız lokal vankomisin salınım sonuçları açısından kıyaslandığında sistemin enfekte kemik dokusunda sağlıklı kas dokusuna göre daha uzun ve etkin salınım sağladığı anlaşılmaktadır. Bu çalışmada implantasyon sonrası 28. günde yüksek konsantrasyonda doku vankomisin seviyeleri elde edilmiş olup, çalışma denek kısıtlılığı nedeniyle bu aşamada sonlandığı için kemikteki etkin salınımın süresini tespit etme olanağına sahip olunmadı. Sistemin sağlıklı kas ve enfekte kemik dokularındaki farklı salınım profillerini kasın iyi kanlanma ve hızlı metabolizma özellikleriyle ilişkilendirmek olasıdır. Bu ortamda biyobozunur olan sistemin ortadan kalkma süreci hızlandığı gibi, salınım süresi de kısalır. Enfekte kemik dokusunda metabolizma ve taşıyıcı sistemin bozunma süreci, kas dokusuna göre, daha yavaş olduğundan sistemin etki süresi ve ortamda kalan ilaç konsantrasyonunun daha fazla olması beklenen bir sonuçtur.

Bu çalışmanın plan ve uygulama aşamalarında osteomyelitin cerrahi tedavisindeki temel ilkelere sadık kalındı ve yeni geliştirilen yöntem rutin uygulamada sık kullanılan debridman artı sistemik antibiyotik uygulaması ile karşılaştırıldı. Biyobozunur olmayan PMMA tabanlı sistemlerin yöntem ve sonuç açısından geliştirdiğimiz taşıyıcı ile kıyaslanabilir olmadığı düşünülerek bu yönde bir çalışma grubu planlanmadı. Kronik osteomyelit tedavisinde sistemik ya da lokal antibiyotik tedavisinden önce osteomyelit bölgesindeki enfekte ve nekrotik dokuların debridmanı tedavinin temelini oluşturur¹. Bu çalışmada tüm gruplarda tedavinin ilk adım olan debridman işlemi uygulandı. Tüm gruplar için debridmanın ardından gruplara özel tedavi uygulamasına başlandı. Tespit materyali çıkarılamayan deneklerin mikrobiyolojik ve enfeksiyon belirleyicileri açısından çalışma dışı bırakılması denek sayısında azalmaya neden olmasına rağmen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi olanaksız hale getirmemiştir. Bu hususlar çalışmamızın yöntem açısından güçlü yanları içerisinde sayılabilir.

Lokal taşıyıcılar olası patojenlere karşı etkinlik gösterebilen geniş spektrumlu antibiyotik emdirilmiş sistemlerdir. En sık kullanılan antibiyotikler aminoglikozid ve/veya vankomisindir. Bunların hazır ticari veya ameliyathanede üretilen formları vardır. Emdirilmiş antibiyotiğin dokuda çözünerek ortaya

çıkması (elüsyon); taşıyıcının yüzey alanına, geçirgenliğine ve karakteristiklerine, antibiyotığın tipi ve konsantrasyonuna, ortamda bulunan sıvı miktarına, bölge kanlanma düzeyine ve yerleştirme sonrası geçen süreye bağlı olarak değişmektedir. Lokal antibiyotik tedavisi, yüksek lokal konsantrasyon sağlayan ve minimal sistemik etkiye yol açan güvenli yöntemlerdir. Literatürde bu yöntemleri konu alan klinik çalışmalar fazla olmasa da sonuçları etkin tedavi araçları olduğu yönündedir. Lokal antibiyotik tedavisinin kullanıldığı hayvan deneylerinde enfeksiyonlar etkili şekilde kontrol altına alınmıştır. İmplantasyon süresi ve taşıyıcı sistemin hangi durumlarda çıkarılması gerektiği tartışmaya açık konulardır¹¹². Literatürde biyobozunur antibiyotik taşıyıcısı olarak denenen birçok materyal tanımlanmıştır. Bunlara örnek olarak kollajen yumakları, polyesterler (poliglolik asit veya poli-Lilaktik asit), polyanhidridler, amiloz nişastası, alginatlar, kitozanlar, kalsiyum kökenli taşıyıcılar ve borat camı sayılabilir. Bu çalışmaya konu olan taşıyıcıda, antibiyotik olarak, osteomiyelitin en sık etkeni olan MRSA'ya etkili olan, termorezistan yapıda, metabolizma gerektirmeden direk lokal etki oluşturabilen vankomisin kullanıldı. Geliştirdiğimiz sistem ile literatürde yer alan diğer lokal taşıyıcıların salınım özellikleri Tablo 16'da verilmektedir.

Yazarlar	Kullanılan materyal	Etkif salınım süresi	
		İn vitro	İn vivo
Ambrose ve arkadaşları ¹²⁶	Poly (DL-lactic-co-glycolic acid) + poly (ethylene glycol) + tobramisin	28	28
Benoit ve arkadaşları ¹²⁷	Paris alçısı ile poly lactide-co-glycolide + vankomisin	35	28
Buranapanitkit ve arkadaşları ¹²⁸	Hidroksiapatit + Paris alçısı + Chitosan + vankomisin	90	Veri yok
Joosten ve arkadaşları ¹²⁹	Hidroksiapatit + vankomisin	20	Veri yok
Magnan ve arkadaşları ¹³⁰	Kollajen yumak + vankomisin	Etkif değil	Veri yok
Mader ve arkadaşları ¹³¹	Polymethylmethacrylate + vankomisin	12	Veri yok
Ueng ve arkadaşları ^{132,133}	Poly-L-lysine-coated alginate + vankomisin	17	21
Wernet ve arkadaşları ¹³⁴	Kollajen yumak + gentamisin	Veri yok	5
Wichelhaus ve arkadaşları ³¹	Paris alçısı + vankomisin	10	14
Geliştirdiğimiz Biyobozunur Sistem ile ilgili çalışmalarımız			
İn vivo - in vitro çalışmamız ²	N-butyl-2-cyanoacrylate + spongostan + vankomisin	42	>14 ve <21
Mevcut çalışmamız	N-butyl-2-cyanoacrylate + spongostan + vankomisin	Veri yok	>28

Tablo 16: Lokal Antibiyotik Taşıyıcı Sistemlerin Salınım Özelliklerinin Karşılaştırılması

Biyobozunur olmayan PMMA tabanlı antibiyotik taşıyıcıları rutin klinik uygulamalarında sık başvuru ve literatürde fazla yer bulan sistemlerdir. Kronik osteomyelit tedavi sürecinde hastaların birkaç kez aynı bölgeden ameliyat olmaları bölgede geniş cilt ve kas skar dokularının oluşmasına yol açar. Skar dokusu anatomiyi bozar ve cerrahi girişimleri zorlaştırır. Skarlı bölgede yaranın kapatılması ve iyileşmesi sorunlu olur⁹⁸. Polimetilmetakrilat tabanlı sistemlerin çıkarılmaları gerekir. Biyobozunur olmayan bu sistemler vücutta kaldığında yabancı cisim etkisi ile sekonder mikroorganizma kolonizasyonları ve enfeksiyonlara yol açabilirler⁸². Bu sistemlerin klinik etkinliği ve in vivo antibiyotik salınım profilleri hakkında literatürde çelişkili bilgiler yer almaktadır. Grieben, 1980 yılında yayınladığı makalesinde, Avrupa'nın çeşitli kliniklerinde gentamisinli PMMA zincirleri ile tedavi edilen ve 3 ila 54 ay arasında takipleri yapılan 1045 olgunun 890'ında enfeksiyonun birinci operasyonun sonrasında kontrol altına alındığını bildirmiştir. Yazar kronik osteomyelit tedavisinde % 85 oranındaki başarılı sonucun etkin cerrahi girişim ile gentamisinli PMMA zincirlerinin kombinasyonuna bağlamıştır. İlk operasyondan sonra gelişebilecek başarısız sonuçlarda da kötümser olunmamasını, gerektiğinde ikinci girişimin faydalı olacağını bildirmektedir¹¹⁷. Diğer yandan PMMA tabanlı sistemlerin in vitro ortamda 12 gün etkin salınım yaptıklarını belirten çalışmalar da bulunmaktadır¹³¹. Bu çalışmada kullandığımız sistem hazır olmayan PMMA sistemlerine benzer olarak ameliyathane ortamında üretilebilir durumdadır. Geliştirdiğimiz sistemin, PMMA tabanlı olanlara göre önemli üstünlükleri, biyobozunur oluşu ve kanıtlanmış uzun ve etkin salınım süreleridir.

Lokal taşıyıcı sistemlerin yüksek, lineer ve uzun süreli antibiyotik konsantrasyonu sağlanmaları arzu edilmektedir. Etkin salınım ve mikroorganizmanın antibiyotiğe karşı direnç geliştirmemesi için lokal doku antibiyotik seviyesi MIK değerinin üzerinde seyredilmelidir. Bu çalışmada kullanılan vankomisin S aureus suşları için MIK değeri 4 mikrogram/mL'dir. Çalışmamızda lokal uygulamalarda 18. ve 28. günlerde MIK değerinin çok üzerinde lokal doku vankomisin düzeyleri saptadık. Literatürde yer bulan diğer taşıyıcı sistemler için lokal antibiyotik konsantrasyon seviyesi açısından benzer oranda başarı düzeyleri bildirilmemektedir. Adams ve arkadaşları, köpek

tibiasına vankomisin ve tobramisin içeren PMMA boncukları yerleştirdikten sonra yaradan gelen seromadan antibiyotik düzeyine bakmışlardır. Birinci günde seroma tobramisin konsantrasyonu 93 mikrogram/mL, vankomisin konsantrasyonu 10,2 mikrogram/mL olarak ölçülmüş i¹¹⁸. Wahlig ve arkadaşları Köpek femurunda PMMA tabanlı taşıyıcı ile gentamisin konsantrasyonunu 2. haftada hematomda 100-200, süngerimsi kemikte 5-24 ve kortikal kemikte 2-20 mikrogram/gram olarak tespit etmişlerdir. En yüksek serum gentamisin düzeyini, implantasyonu takiben 2.saatte 0,3 mikrogram/mL olarak ölçmüşlerdir¹¹⁹. Nelson ve arkadaşları tavşan radiusuna yerleştirdikleri boncuklar ile kemik gentamisin sülfat düzeyini implantasyondan sonraki 8 hafta boyunca tespit edilebilir düzeyde bulmuşlardır. Yedinci günde yara yüzeyindeki eksudada tespit edilen en yüksek gentamisin sülfat düzeyini 4,7 mikrogram/mL olarak bildirilmişlerdir. Serumdaki en yüksek düzeyi ise 1 mikrogram/mL olarak bildirmişlerdir¹¹. Bizim çalışmamızda lokal uygulama grubunda ortalama doku vankomisin düzeyi 18. günde 245,97 ve 28. günde 335,05 µg/ml olarak saptandı. Çalışmamızda kullanılan taşıyıcı sistem, salınım süresi ve düzeyi açısından literatürde sık karşılaşılan ve rutin uygulamada sık kullanılan PMMA tabanlı sistemlere göre bariz bir üstünlüğe sahiptir.

Diğer biyobozunur sistemlerle karşılaştırıldığında bu çalışmada kullandığımız taşıyıcının bazı üstünlükleri göze çarpmaktadır. Kollajen yumaklarının ilk 1,5 saatte taşıdıkları gentamisinin %95'i olmak üzere, 10 gün süre ile MİK değerinin üzerinde salınım gösterdikleri belirtilmektedir¹¹³. Kalsiyum tabanlı taşıyıcıların sitotoksikite, kemik rejenerasyonunu uyarmada yetersizlik, yüksek rezorpsiyon oranı ve in vitro hızlı salınım gibi dezavantajları vardır^{84,114}. Bir tavşan ve köpek modelinde yerleştirilen kalsiyum tabanlı taşıyıcının, emildikçe serum kalsiyum düzeylerini yükselttiği gösterilmiştir¹¹⁵. Lokal antibiyotik taşıyıcılarının ticari formları; yüksek maliyet, kolay ulaşılabilir olmaması ve yüklenecek antibiyotiğin cerrah tarafından seçilememesi gibi dezavantajları vardır. Bu çalışmada kullanılan lokal taşıyıcı sistem, kolayca ulaşılan malzemelerden üretilme, ameliyathane ortamında kolayca hazırlanabilme, yüklenecek olan antibiyotiğin gereksinime göre değişebilme olasılığı ve uzun süreli ve göreceli olarak lineer salınım sağlaması gibi avantajları vardır.

Osteokondüktif yapıdaki antibiyotik taşıyıcılar diğer biyobozunur sistemlere göre kemik defektlerini iyileştirme potansiyelleri nedeniyle üstündürler. Ancak bu sistemlerin de ilaç salınım profilleri hakkında literatürde çelişkili verilere rastlamak mümkündür. Shirtliff, Calhoun ve Mader yaptıkları çalışmada vankomisin emdirilmiş hidroksiapatit ile PMMA'yı kıyasladıklarında hidroksiapatit sonuçlarının daha iyi olduğunu saptamışlar. Bu çalışmada taşıyıcı sistemler MRSA osteomyelit vakalarında debridmandan sonra ölü boşluğa yerleştirilmiş ve tedavideki başarı oranları hidroksiapatit için %81,8 ve PMMA için %70 olarak bildirilmiştir¹²⁰. Korkusuz ve arkadaşları da hidroksiapatit seramikle rat modelinde yaptıkları çalışmada enfeksiyonun yedi haftada eradike edildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada hidroksiapatit grubunda PMMA grubuna göre daha yüksek seroma gentamisin düzeyleri elde edildiği not edilmiştir¹²¹. Zelken ve arkadaşları, yukarıdaki çalışmaların aksine hidroksiapatit temelli taşıyıcı sistemlerini PMMA temelli olanlara göre daha başarısız bulmuşlardır¹²².

Çalışmamızda grupların doku ve kan vankomisin düzeyleri çalışıldı. Ancak çalışma sonlandırıldığında kan vankomisin düzeyleri yan etki oluşturabilecek düzeyin çok altında kalması ve gruplar arası yöntemsel farklılıkların bulunması nedeniyle karşılaştırma ve değerlendirmeye tabi tutulmadı. Çalışma grupları doku vankomisin düzeyleri açısından karşılaştırıldığında SV-28 ve LV-28 grupları arasında, LV-28 lehine istatistiksel anlamlı farklılık saptandı. Bu bulgu, lokal uygulamada, sistemik uygulamaya göre daha yüksek doku vankomisin düzeylerinin sağlanabileceğini göstermektedir. Diğer yandan sistemik uygulama dahil tüm denek gruplarında doku vankomisinin MİK değerinin üzerinde olması not edilmesi gereken önemli bir bulgudur. Bu bulgu, günlük tek doz ve son dozun doku alımından 24 saat önce yapıldığı sistemik vankomisin uygulamasında enfekte kemik modelinde yeterli düzeyde vankomisin konsantrasyonunun oluşabileceğini, bu yönüyle sistemik uygulamanın ihmal edilmemesi gereken bir tedavi aracı olduğunu göstermektedir.

Glikopeptid yapıda antibiyotikler olan vankomisin ve teikoplanin MRSA enfeksiyonlarının tek seçeneği olmalarına karşın, sistemik kullanımda yan etki oluşturma riski barındırırlar. Osteomyelit tedavisinde sistemik verildiklerinde,

kemik doku kanlanması az olduğu temel alınarak, yeterli bakterisidal etki için yüksek dozda uygulanmalıdırlar. Bu çalışmaya konu edilen vankomisin, nörotoksik, ototoksik ve nefrotoksik etkiye sahip dar terapötik pencereye sahip bir ilaçtır. Bu nedenlerle, tepe ve plato konsantrasyonlarının izlenmesi gerekmektedir¹²³. Diğer yandan MRSA'ya etkili olması, sistemik kullanımındaki dar terapötik penceresi, metabolize olmadan direk etkin formda olması, laboratuvar koşullarında ölçülebilir olması ve ekzotermik reaksiyonlara dirençli olması nedenleri ile vankomisin, lokal salınım sistemlerinde tercih edilen bir antibiyotiktir. Bu nedenler çalışmamızda vankomisin kullanıldı. Olası nefrotoksik yan etkinin takibi için böbrek fonksiyon testi olan serum kreatinin düzeyleri çalışıldı. Bu düzey, normal Sprague – Dawley albino cinsi ratlarda $0,53 \pm 0,2$ mg/dL aralığındadır¹²⁴. Çalışmamızdaki tüm ratlarda çalışmanın sonunda plazma kreatinin değerleri referans aralığının içinde bulundu ve gruplar arası istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 16). Bu yönüyle taşıyıcı sistemimiz, yüksek lokal vankomisin düzeylerine yol açarken, böbrek fonksiyonları yönünden yan etkiye yol açmadığını düşündürmektedir.

Akut faz reaktanları olan ESR, CRP, IL-6 ve prokalsitonin osteomyelitte, tanı ve tedaviye yanıtının değerlendirilmesinde kullanılan belirleyicilerdir. Klinik uygulamalarda en sık CRP ve ESR kullanılır. Bu çalışmada ESR hariç söz konusu reaktanlar tedaviye yanıtın değerlendirilmesi için kullanıldı. Biyokimya laboratuvarımızdaki cihazlar ratların eritrosit sedimentasyon hızını ölçemeye uygun olmadığından, ESR çalışma dışı bırakıldı. Çalışma sonlandırıldıktan sonra prokalsitonin değerleri çalışılmış olmasına rağmen değerlendirmeye alınmadı. Bunun nedeni ticari olarak bulunan prokalsitonin kitlerinin ölçebileceği en düşük değer 0.01 ng/mL iken, çalışmamızdaki tüm deneklerde ölçülen değerlerin 0,01'in altında kalması ve sağlıklı ölçümün yapılamamasıydı.

Çalışmamızın apse varlığı, beyaz küre ve akut faz reaktanları ile ilgili bulguları değerlendirildiğinde apse varlığı ve CRP değerleri açısından ikişer grup arasında anlamlı farklılıklar göze çarpar. C reaktif protein değerleri açısından SV-28 ile LV-28 grupları arasında LV-28 lehine istatistiksel anlamlı farklılık bulunmaktadır. Bu iki grup arasında benzer farklılık klinik abse varlığı açısından da söz konusudur. Bu bulgular, lokal uygulamanın apse

formasyonunu önlemede ve CRP seviyesini düşürmede sistemik uygulamaya göre daha başarılı olabileceği yönünde kanıt oluşturmaktadır.

Osteomyelitte enfekte kemikten alınan dokudan kültür yapılarak, etken mikroorganizmanın üretilmesi tanısal açıdan altın standarttır. Bu çalışmada tedavi yöntemlerinin etkinliğini saptamak için kemik örnekleri kullanılarak, kantitatif kültür çalışması yapıldı. Çalışma grupları, kültürde üreme yokluğu ve üreme olduysa koloni sayıları açısından karşılaştırıldığında anlamlı istatistiksel fark bulunmadı. Bu bulgular, uyguladığımız farklı tedavi yöntemleri arasında enfeksiyonun ortadan kaldırılması ya da sınırlanması açısından belirgin farkın olmadığı lehine yorumlanabilir. Diğer yandan sistemik olarak verilen dozun miktarı ve sayısı, uygulama süresi ve denek sayısının farklı olması durumunda tedavi yöntemlerinin etkinliklerinde farklılık oluşturabilir kanısındayız.

Yürüttüğümüz çalışmanın önemli kısıtlılıkları lokal uygulanacak olan taşıyıcı sistemlerin siyanoakrilat ve vankomisin düzeyinin homojen tutulması ve yöntemsel açıdan birbirinden farklı olan sistemik ve lokal uygulamanın karşılaştırma sorunları idi. Taşıyıcı sistemdeki siyanoakrilat ve vankomisin miktarının denekler arası mümkün mertebe eşit dağılması için üretilen sistemler küçük parçalara bölündü ve her ratın tibiasındaki kemiksel oluğa rastgele seçilen 4'er adet parça yerleştirildi. Bu yöntemin uygulanmasına rağmen deneklerimiz arasında eşit ve homojen dağıtım sağlayabildiğimizi iddia edemeyiz. Ancak SL ve LV grupları arasında doku vankomisin düzeyi açısından anlamlı fark bulunmaması, uygun ve yeterli dağıtım sağlandığı lehine bir bulgudur. Çalışmamızda sistemik vankomisin, günde bir kez ve 20 mg/kg/gün dozunda uygulanmıştır. Doz ve günlük uygulama sıklığının klinik uygulamalar ile uyumu konusunda kuşkularımız bulunmaktadır. Buna ek olarak sakrifikasyondan önceki son doz 24 saat önce yapıldı. Bundan amacımız sistemik dolaşımdaki vankomisin düzeyi doz aralıkları temelinde en düşük seviyeye indiğinde dokudaki etkilerini saptamak idi. Bu yöntemin seçimi grupların serum vankomisin düzeyi açısından karşılaştırılmalarını olanaksız kıldı. Buna rağmen sadece sistemik yoldan vankomisin uygulanan grupta doku vankomisin düzeyinin etkinlik açısından yeterli seviyede olması, seçilen yöntemimizin kısıtlılığa yol açsa da yanlış olmadığını göstermektedir.

Geliştirmiş olup bu çalışmada enfekte kemik modelinde etkinliğini araştırdığımız biyobozunur lokal antibiyotik taşıyıcı sistem, barındırdığı avantajları nedeniyle, daha ileri çalışmaların konusu olabilir. Taşıyıcı sistemimizin mikroskobik düzeydeki üç boyutlu görünümün belirlenmesi ve salınım mekanizmasının daha iyi aydınlatılması açısından elektron mikroskobik incelemesi düşünülebilir. Doz ayarının sorun olmaktan çıkacağı daha büyük deney hayvanlarında çalışma planlanabilir. Enfekte kemik dokusundaki salınım özellikleri ve tedavi edici etkilerinin belirlenmesi için daha uzun süreli çalışmalar düşünülebilir. Termorezistan olan ve lokal etki oluşturmaları arzu edilen vankomisin dışındaki ilaçlara yönelik yeni çalışmalar planlanabilir. Bu çalışma geliştirdiğimiz sistemin etkin ve ileri çalışmalara açık bir konu olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, lokal antibiyotik taşıyıcı sistemimiz rat osteomyelit modelinde tek başına uygulandığında, enfeksiyonun sınırlanmasında, en az sistemik ve sistemik artı lokal uygulama kadar etkin olduğunu göstermektedir.

Taşıyıcı sistemimiz rat enfekte kemik oluşu ortamında 18 ve 28. günlerde yüksek ve etkin lokal vankomisin salınımı yapmaktadır. Taşıyıcı sistemin lokal uygulaması, doku vankomisin düzeyi açısından, tek başına sistemik uygulamaya göre belirgin üstünlük göstermektedir.

Çalışma gruplarımıza lokal ya da sistemik yoldan verdiğimiz glikopeptid yapıdaki vankomisin, nefrotoksik yan etki oluşturmamıştır. Söz konusu yan etkinin belirleyicisi olarak çalışılan kreatinin seviyesi açısından çalışma grupları arasında belirgin fark saptanmadı.

Geliştirdiğimiz sistem, barındırdığı avantajlar nedeniyle daha ileri araştırmalara konu edilmelidir. Bu araştırmalarda taşıyıcı sistemin mikroskobik yapısı, doz ayar sorunu olmayan daha büyük deney hayvanı modelinde daha uzun süre etkinlik izlemi ve vankomisin dışında başka ilaçların yüklenmesi konu edilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Campbell's Operative Orthopaedics Editör: S. Terry Canale Türkçe baskı çeviri editörü: Isık Akgün cilt: 1 s: 661-680
2. Eskandari MM, Goruroglu Ozturk O, Eskandari HG, Balli E, Yilmaz C. "Cyanoacrylate Adhesive Provides Efficient Local Drug Delivery." ClinOrthopRelatRes, 451:242-250 (2006)
3. Lew DP, Waldvogel FA: Osteomyelitis. N Engl J Med 1997, 336(14):999-1007.
4. Evans RP, Nelson CL, Lange TA: Pathophysiology of Osteomyelitis. In: Surgery of the musculoskeletal system, Mc Collister Ewerts (ed), Churchill livingstone, 1990, s:19-35.
5. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier/Churchill Livingstone, 2005.
6. Waldvogel FA, Vasey H: Osteomyelitis: the past decade. N Engl J Med 1980, 303(7):360-70.
7. Browner BD. Skeletal trauma basic science, management, and reconstruction. In: Browner BD, ed. MDConsult (ed 4). Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2009.
8. Waldvogel FA, Medoff G, Swartz MN. Osteomyelitis: A review of clinical features, therapeutic considerations and unusual aspects. N Engl J Med 1970;282: 198-206.
9. Gillespie WJ. Epidemiology in bone and joint infection. Infect Dis Clin North Am 1990;4:361-76.
10. Lazzarini L, Mader JT, Calhoun JH: Osteomyelitis in long bones. J Bone Joint Surg 2004, 86-A(10):2305-18.
11. Nelson CL, Hickmon SG, Skinner RA: Treatment of experimental osteomyelitis by surgical debridement and the implantation of biodegradable, polyanhydride-gentamicin beads. J Orthop Res 15:249-255, 1997.
12. Kabak S, Tuncel M, Halici M, Tutus A, Baktir A, Yildirim C: Role of trauma on acute haematogenic osteomyelitis aetiology. Eur J Emerg Med 1999, 6(3):219-22.
13. Norden CW: Lessons learned from animal models of osteomyelitis. Rev Infect Dis 1988, 10(1):103-10.
14. Bowen TR, Widmaier JC: Host classification predicts infection after open fracture. Clin Orthop 2005, 433:205-11.
15. Mc Kissock W, Wright J, Miles AA: The reduction of hospital infections of wounds. A controlled experiment. Br Med J 1941, 2:375.
16. Nather A, Bee CS, Huak CY, et al. Epidemiology of diabetic foot problems and predictive factors for limb loss. J Diabetes Complications 2008;22:77-82.
17. Foster TJ, Hook M. Surface protein adhesins of Staphylococcus aureus. Trends Microbiol 1998;6:484-8.

18. Greenberg DP, Bayer AS, Cheung AL, et al. Protective efficacy of protein A-specific antibody against bacteremic infection due to *Staphylococcus aureus* in an infant rat model. *Infect Immun* 1989;57:1113-8.
19. Littlewood-Evans AJ, Hattenberger MR, Luscher C, et al. Local expression of tumor necrosis factor alpha in an experimental model of acute osteomyelitis in rats. *Infect Immun* 1997;65:3438-43.
20. Ziran BH. Osteomyelitis. *J Trauma* 2007;62:S59-60.
21. Osteomyelitis, Chihara S, Segreti J. *DisMon*. 2010 Jan;56(1):5-31.
22. Yoon KS, Fitzgerald RH, Sud Jr S, Song Z, Wooley PH: Experimental acute hematogenous osteomyelitis in mice. Influence of staphylococcus aureus infection on T-cell immunity. *J Orthop Res* 1999, 17(3):382-91.
23. Gresham HD, Lowrance JH, Caver TE, Wilson BS, Cheung AL, Lindberg FP: Survival of *Staphylococcus aureus* inside neutrophils contributes to infection. *J Immunol* 2000, 164(7):3713-22.
24. Oztuna V: Osteomyelit Patofizyolojisi ve Tedavi Prensipleri. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi* 2005, 4:1-2
25. Nair SP, Meghji S, Wilson M, Reddi K, White P, Henderson B: Bacterially induced bone destruction: mechanisms and misconceptions. *Infect Immun* 1996, 64(7):2371-80.
26. Riancho JA, Salas E, Zarrabeitia MT, Olmos JM, Amado JA, Fernandez-Luna JL, Gonzalez-Macias J: Expression and functional role of nitric oxide synthase in osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res* 1995, 10(3):439-46.
27. Ishihara Y, Nishihara T, Maki E, Noguchi T, Koga T: Role of interleukin-1 and prostaglandin in vitro bone resorption induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide. *J Periodontal Res* 1991, 26(3 Pt 1):155-60.
28. Franchi-Miller C, Saffar JL: The 5-lipoxygenase inhibitor BWA4C impairs osteoclastic resorption in a synchronized model of bone remodeling. *Bone* 1995, 17(2):185-91.
29. Millar SJ, Goldstein EG, Levine MJ, Hausmann E: Modulation of bone metabolism by two chemically distinct lipopolysaccharide fractions from *Bacteroides gingivalis*. *Infect Immun* 1986, 51(1):302-6.
30. Sabir N, Rafi S, Hashmi I, et al. Lumbar osteomyelitis with *Pseudomonas*. *J Pak Med Assoc* 2007;57:517-8.
31. Wichelhaus TA, Dingeldein E, Rauschmann M, Kluge S, Dieterich R, Schafer V, Brade V. Elution characteristics of vancomycin, teicoplanin, gentamicin and clindamycin from calcium sulphate beads. *J Antimicrob Chemother*. 2001;48:117–119.
32. Maman E, Bickels J, Ephros M, et al. Musculoskeletal manifestations of cat scratch disease. *Clin Infect Dis* 2007;45:1535-40.
33. Stratov I, Korman TM, Johnson PD. Management of aspergillus osteomyelitis: Report of failure of liposomal amphotericin B and response to voriconazole in an immunocompetent host and literature review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:277-83.

34. Vasoo S, Yeo SB, Lim PL, et al. Efficacy of voriconazole for *Scedosporium apiospermum* skull base osteomyelitis: Case report and literature review. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31:184-5.
35. Amit A, Sudish K, Pople IK. Primary calvarial cryptococcal osteomyelitis in a patient with idiopathic lymphopenia. *Acta Neurochir* 2008;150:713-4.
36. Oppenheimer M, Embil JM, Black B, et al. Blastomycosis of bones and joints. *South Med J* 2007;100:570-8.
37. Yun HC, Branstetter JG, Murray CK. Osteomyelitis in military personnel wounded in Iraq and Afghanistan. *J Trauma* 2008;64:S163-8.
38. Cierny G. Classification and treatment of Adult Osteomyelitis. In Mc Collister Evarts M.(Ed) *Surgery of the Musculoskeletal System* 2nd ed; Vol 5: 4337-4379. Churchill Livingstone, New York, 1990
39. Cierny G, Mader JT. Adult Chronic Osteomyelitis. *Orthopaedics* 1984; 7: 1557.
40. Luka Lazarini, MD, Jon T. Mader, MD, Jason H. MD, Calhoun, MD; Osteomyelitis In Long Bones *JBJS*. Vol. 86-A October 2004
41. Clampolini J, Harding KG. Pathophysiology of chronic bacterial osteomyelitis. Why do antibiotics fail so often? *Postgrad Med. J.* 2000; 76: 479-83
42. Butalia S, Palda VA, Sargeant RJ, et al. Does this patient with diabetes have osteomyelitis of the lower extremity? *J Am Med Assoc* 2008;299:806-13.
43. Senneville E, Melliez H, Beltrand E, et al. Culture of percutaneous bone biopsy specimens for diagnosis of diabetic foot osteomyelitis: Concordance with ulcer swab cultures. *Clin Infect Dis* 2006;42:57-62.
44. Dinh MT, Abad CL, Safdar N. Diagnostic accuracy of the physical examination and imaging tests for osteomyelitis underlying diabetic foot ulcers: Meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2008;47:519-27.
45. Lipsky BA. Bone of contention: Diagnosing diabetic foot osteomyelitis. *Clin Infect Dis* 2008;47:528-30.
46. Pineda C, Vargas A, Rodriguez AV. Imaging of osteomyelitis: Current concepts. *Infect Dis Clin North Am* 2006;20:789-825.
47. Ram PC, Martinez S, Korobkin M, et al. CT detection of intraosseous gas: A new sign of osteomyelitis. *AJR Am J Roentgenol* 1981;137:721-3.
48. Schauwecker DS. The scintigraphic diagnosis of osteomyelitis. *AJR Am J Roentgenol* 1992;158:9-18.
49. Gold RH, Hawkins RA, Katz RD. Bacterial osteomyelitis: Findings on plain radiography, CT, MR, and scintigraphy. *AJR Am J Roentgenol* 1991;157:365-70.
50. Termaat MF, Raijmakers PG, Scholten HJ, et al. The accuracy of diagnostic imaging for the assessment of chronic osteomyelitis: A systematic review and meta-analysis. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:2464-71.

51. Guhlmann A, Brecht-Krauss D, Suger G, et al. Fluorine-18-FDG PET and technetium-99m antigranulocyte antibody scintigraphy in chronic osteomyelitis. *J Nucl Med* 1998;39:2145.
52. Keidar Z, Militianu D, Melamed E, et al. The diabetic foot: Initial experience with 18F-FDG PET/CT. *J Nucl Med* 2005;46:444-9.
53. Zhuang H, Duarte PS, Pourdehand M, et al. Exclusion of chronic osteomyelitis with F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomographic imaging. *Clin Nucl Med* 2000;25:281-4.
54. Love C, Tomas MB, Tronco GG, et al. FDG PET of infection and inflammation. *Radiographics* 2005;25:1357-68.
55. Harrison's principles of internal medicine. McGraw-Hill Medical, 2008.
56. Mackowiak PA, Jones SR, Smith JW. Diagnostic value of sinus-tract cultures in chronic osteomyelitis. *J Am Med Assoc* 1978;239:2772-5
57. Zuluaga AF, Galvis W, Jaimes F, et al. Lack of microbiological concordance between bone and non-bone specimens in chronic osteomyelitis: An observational study. *BMC Infect Dis* 2002;2:8.
58. Berendt AR, Peters EJ, Bakker K, et al. Diabetic foot osteomyelitis: A progress report on diagnosis and a systematic review of treatment. *Diabetes Metab Res Rev* 2008;24:S145-61 (suppl 1).
59. Altay M, Arikan M, Yildiz Y, et al. Squamous cell carcinoma arising in chronic osteomyelitis in foot and ankle. *Foot Ankle Int* 2004;25:805-9
60. Ziets RJ, Evanski PM, Lusskin R, et al. Squamous cell carcinoma complicating chronic osteomyelitis in a toe: A case report and review of the literature. *Foot Ankle* 1991;12:178-81.
61. Hamdy RC, Lawton L, Carey T, Wiley J, Marton D. Subacute hematogenous osteomyelitis: are biopsy and surgery always indicated. *J Pediatr Orthop.* 1996; 16: 220-3.
62. Itokazu M., Wenyi Y., Aoki T., Ohara A. and Kato N. 1998. Synthesis of antibiotic-loaded interporous hydroxyapatite blocks by vacuum method and in vitro drug release testin. *Biomaterials*, 19: 817-819.
63. Blaser J, Vergeres P, Widmer AF, et al. In vivo verification of in vitro model of antibiotic treatment of device-related infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1134-9.
64. Zimmerli W, Widmer AF, Blatter M, et al. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related staphylococcal infections: A randomized controlled trial. Foreign-Body Infection (FBI) Study Group. *J Am Med Assoc* 1998;279: 1537-41.
65. Rao N, Lipsky BA. Optimising antimicrobial therapy in diabetic foot infections. *Drugs* 2007;67:195-214.
66. Peralta FG, Sanchez MB, Roiz MP, et al. Incidence of neutropenia during treatment of bone-related infections with piperacillin-tazobactam. *Clin Infect Dis* 2003;37: 1568-72.

67. Vercillo M, Patzakis MJ, Holtom P, et al. Linezolid in the treatment of implant related chronic osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 2007;461:40-3.
68. Patel R, Piper KE, Rouse MS, et al. Linezolid therapy of *Staphylococcus aureus* experimental osteomyelitis. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3438-40.
69. Gunal I, Seber S, Kiraz N, Turkay S, Oztuna V, Gokturk E: [In vitro evaluation of antibiotic diffusion from antibiotic impregnated xenografts] *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 1996, 82(1):59-62.
70. Huneault LM, Lussier B, Dubreuil P, Chouinard L, Desevaux C: Prevention and treatment of experimental osteomyelitis in dogs with ciprofloxacin-loaded crosslinked high amylose starch implants. *J Orthop Res* 2004, 22(6):1351-7.
71. Ersoz G, Oztuna V, Coskun B, Eskandari MM, Bayarslan C, Kaya A: Addition of fusidic acid impregnated bone cement to systemic teicoplanin therapy in the treatment of rat osteomyelitis. *J Chemother* 2004, 16(1):51-5.
72. Swiontkowski MF, Hanel DP, Vedder NB, Schwappach JR. A comparison of short and long-term intravenous antibiotic therapy in the postoperative management of adult osteomyelitis. *J Bone Joint Surg Br.* 1999; 81: 1046-50. University of Washington, Seattle, USA.
73. Rissing JP. Antimicrobial therapy for chronic osteomyelitis in adults: role of the quinolones. *Clin Infect Dis* 1997;25:1327-33
74. Tetsworth K, Cierny G 3rd. Osteomyelitis debridement techniques. *Clin Orthop Relat Res* 1999;360:87-96.
75. Nejedlí A, Dzupa V, Záhorka J, Tvrdek M. Acta Muscle flap transfer of the treatment of infected tibial and malleolar fracture and chronic osteomyelitis of the tibia *Chir Orthop Traumatol Cech.* 2007; 74: 162-70.
76. Cierny G 3rd, Mader JT, Penninck JJ. A clinical staging system for adult osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 2003;414:7-24.
77. Mosher CM. The Papineau bone graft: a limb salvage technique *Orthop Nurs.* 1991; 10: 27 32, 34.
78. Panda M, Ntungila N, Kalunda M, Hinsenkamp M. Treatment of chronic osteomyelitis using the Papineau technique. *Int Orthop.* 1998; 22: 37-40.
79. Archdeacon MT, Messerschmitt, Modern papineau technique with vacuum-assisted closure. *J Orthop Trauma.* 2006; 20: 134-7.
80. Serdar Necmioğlu MD. İbrahim Askar MD. Veli Lok MD. And Mehmet Subası MD. Vastus Lateralis Muscle Flap in Osteomyelitis. *Annals of Plastic Surgery.* Volume 53, Number 6, December 2004.
81. Parsons B, Strauss E. Surgical management of chronic osteomyelitis. *Am J Surg* 2004;188:57-66.
82. Rushton N. Applications of local antibiotic therapy. *Eur J Surg Suppl* 1997;578:27-30.

83. Cerretani D, Giorgi G, Fornara P, Bocchi L, Neri L, Ceffa R, Ghisellini F. and Ritter M.A. 2002. The in vitro elution characteristics of vancomycin combined with imipenem-cilastatin in acrylic bone-cements. A pharmacokinetic study. *J Arthroplasty*, 17(5): 619-626.
84. Chang W, Colangeli M, Colangeli S, Adult osteomyelitis: debridement versus debridement plus Osteoset T pellets. *Acta Orthop Belg.* 2007 ;73:238-43.
85. El-Husseiny M, Patel S, MacFarlane RJ, Haddad FS. [Biodegradable antibiotic delivery systems](#). *J Bone Joint Surg Br.* 2011 Feb;93(2):151-7.
86. Kucukkaya M, Kabukcuoglu Y, Tezer M, Kuzgun U. Management of childhood chronic tibial osteomyelitis with the Ilizarov method *J Pediatr Orthop.* 2002; 22: 632-7.
87. Turcic J, Gjetvaj G, Androcec V. Unfallchirurg. (Mathematical model of hydrodynamic flow in irrigation-suction drainage) (Article in German) 1996 Jun; 99. 435–9.
88. Garvin KL, Hanssen AD. Infection after total hip arthroplasty. Past, present and future. *J Bone Joint Surg Am* 1995;77:1576-88.
89. Kapukaya A, Arslan H, Necmioğlu S, Uluç D, Yıldırım K. Kronik kalkaneal osteomyelitin parsiyel rezeksiyonla tedavisi. *Acta Orthop Trauma Turc.*1997;31:212.
90. Calhoun JH, Henry SL, Anger DM, Cobos JA, Mader JT. The treatment of infected nonunions with gentamicin polymethylmethacrylate antibiotic beads. *Clin Orthop Relat Res* 1993;295:23-7.
91. Sağlık Y, Arikan M, Altay M, Yıldız Y. Squamous cell carcinoma arising in chronic osteomyelitis. *Int Orthop* 2001;25:389-91.
92. Davis JC, Heckman JD, DeLee JC, Chronic non-hematogenous osteomyelitis treated with adjuvant hyperbaric oxygen *J Bone Joint Surg Am.* 1986; 68,1210–7.
93. Nolan RL, Chapman SW. Bone and Joint Infections. In Betts FR, Chapman SW and Penn RL. (Ed) *A Practical Approach To Infectious Diseases* 5th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2003:127-172
94. Karwowska A, Davies D, Jadavji T. Epidemiology and outcome of osteomyelitis in the era of sequential intravenous-oral therapy. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:1021-9.
95. Meyers BR, et al. Clinical patterns of osteomyelitis due to gram negative bacteria. *Arch Intern Med* 1993;131:228-33.
96. Carragee EJ. Pyogenic vertebral osteomyelitis. *J Bone Joint Surg (Am)* 1997;79A:874-9.
97. Huang T, Bendo JA. Vertebral osteomyelitis. *Butt Hosp Joint Dis* 2000;59:211-8.
98. Watts HG Lifeso RM. Current concepts review: tuberculosis of bone and joints. *J Bone Joint Surg (Am)* 1996;78A:288-95.

99. Anonim, Glycopeptides, "Infectious Diseases" (Ed. P.D. Hoeprich, M.C. Jordan, A.R. Ronald)'da, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, s. 256-258, 1994.
100. Kayaalp, S.O., Dar Spektrumlu antistafilokokal ve antianaerobik ilaçlar ve polipeptit yapılı antibiyotikler, "Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji" (S.O. Kayaalp)'de X. Baskı, Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Sti., Ankara, s. 280-293, 2002.
101. Baum, J.D., Barbieri, E.J., DiGregorio, G.J., Antimicrobials, systemic, "Drug Charts In Basic Pharmacology"de, III. Baskı, Medical Surveillance Inc., West Chester, s. 164, 2000.
102. Kiviluoto, O.: Use of Free Fat Transplants to Prevent Epidural Sear Formation. An experimental Study. *Aeta Orthopædica Scandinavica* 64, 1-75, 1976
103. Laroeea, H. and Maenab, J.: The Laminectomy Membrane, *The J. of Bone and Joint Surgery*, 56 B, 3, 545 -550, 1974
104. Lucke M, Schmidmaier G, Sadoni S, Wildemann B, Schiller R, Stemberger A, Haas N. A new model of implant-related osteomyelitis in rats. *J biomed mater res part B:Appl Biomed* 67B:593-602, 2003
105. Pepys MB. The acute phase response and C-Reactive Protein, Weatherall DJ et al. editors. *Oxford textbook of medicine* . 3rd edition, Oxford University press, 1995;1527-33.
106. Becker KL, Nysten ES, Cohen R, Snider RH. Calcitonin: Structure, Molecular Biology, and Actions. *Principles of Bone Biology*. Academic press inc.1996;471-4.
107. Meissner M. Procalcitonin: A new,innovative infection parameter; biochemical and clinical aspects. 3 rd revised and extended Ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag,2000:9.
108. Burtis C.A : *Tietz textbook of clinical chemistry* . third editon.1999.
109. Elgert KD. *Immunology: understanding the Immun System*. New York , Wiley-Liss, 1996.
110. Seymour GJ, Savage NW ,Walsh LJ : *Immunology : An Introduction for the Health Scienses*. McGraw-Hill, 1995.
111. Gustilo RB, Editor. *Orthopaedic infection: Diagnosis and Treatment*. Philadelphia, 1989.
112. Charalampos G. Zalavras, MD; Michael J. Patzakis, MD; and Paul Holtom, MD. local antibiotic therapy in the treatment of open fractures and osteomyelitis. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 427.Sayı, 2004, Sayfa 86-93.
113. Sørensen TS, Sørensen AI, Merser S. Rapid release of gentamicin from collagen sponge: in vitro comparison with plastic beads. *Acta Orthop Scand* 1990;61:353-6.
114. Rauschmann MA, Wichelhaus TA, Stirnal V, et al. Nanocrystalline hydroxyapatite and calcium sulphate as biodegradable composite carrier

- material for local delivery of antibiotics in bone infections. *Biomaterials* 2005;26:2677-84.
115. Mackey D, Varlet A, Debeaumont D. Antibiotic loaded plaster of Paris pellets: an in vitro study of a possible method of local antibiotic therapy in bone infection. *Clin Orthop* 1982;167:263-8.
 116. Wei G, Kotoura Y, Oka M, et al. A bioabsorbable delivery system for antibiotic treatment of osteomyelitis: the use of lactic acid oligomer as a carrier. *J Bone Joint Surg [Br]* 1991;73-B:246-52.
 117. Grieben A: Clinical results of Septopal in bone and soft-tissue infections. A survey of clinical trials. Local antibiotic treatment in osteomyelitis and soft-tissue infections Symposium. Editors: Th. J.G. van Rens and FH Kayser, pp. 144-154. Excerpta Medica, Amsterdam, 1980.
 118. Adams K, Couch L, Cierny G, Calhoun J, Mader JT: In vitro and in vivo evaluation of antibiotic diffusion from antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate beads. *Clin Orthop* 278:244–252, 1992.
 119. Wahlig H, Dingeldein E, Bergmann R, Reuss K: The release of gentamicin from polymethylmethacrylate beads. An experimental and pharmacokinetic study. *J Bone Joint Surg* 60B:270–275, 1978.
 120. Shirliff ME, Calhoun JH, Mader JT. Experimental osteomyelitis treatment with antibiotic-impregnated hydroxyapatite. *Clin Orthop* 2002;401:239-47.
 121. Korkusuz F, Uchida A, Shinto Y, et al. Experimental implant-related osteomyelitis treated by antibiotic-calcium hydroxyapatite ceramic composites. *J Bone Joint Surg [Br]* 1993;75-B:111-14.
 122. Zelken J, Wanich T, Gardner M, Griffith M, Bostrom M. PMMA is superior to hydroxyapatite for colony reduction in induced osteomyelitis. *Clin Orthop* 2007;462:190-4.
 123. Begg, E.J., Barclay, M.L., Kirkpatrick, C.J.M., The therapeutic monitoring of antimicrobial agents, *J Clin Pharmacol*, 47, 23-30, 1999.
 124. Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö. Sıçanlarda Böbrek iskemisi/Reperfüzyon Hasarında Nasetilsisteinin Etkileri. 2005, Cilt 10, Sayı 4, Sayfa(lar) 151-155.
 125. Chen CE, Ko JY, Fu TH, Wang CJ: Results of chronic osteomyelitis of the femur treated with hyperbaric oxygen: a preliminary report. *Chang Gung Med J.* 2004 Feb; 27(2): 91-7.
 126. Ambrose CG, Clyburn TA, Loudon K, Joseph J, Wright J, Gulati P, Gogola GR, Mikos AG. Effective treatment of osteomyelitis with biodegradable microspheres in a rabbit model. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;421:293–299.
 127. Benoit MA, Mousset B, Delloye C, Bouillet R, Gillard J. Antibiotic loaded plaster of Paris implants coated with poly lactide-coglycolide as a controlled release delivery system for the treatment of bone infections. *Int Orthop.* 1997;21:403–408.
 128. Buranapanitkit B, Srinilta V, Ingviga N, Oungbho K, Geater A, Ovatlarnporn C. The efficacy of a hydroxyapatite composite as a

- biodegradable antibiotic delivery system. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;424:244–252.
129. Joosten U, Joist A, Gosheger G, Liljenqvist U, Brandt B, von Eiff C. Effectiveness of hydroxyapatite-vancomycin bone cement in the treatment of *Staphylococcus aureus* induced chronic osteomyelitis. *Biomaterials.* 2005;26:5251–5258.
 130. Magnan PE, Seyral P, Raoult D, Branchereau A. In vitro antistaphylococcal activity of collagen-sealed Dacron vascular prostheses bonded with rifampin, vancomycin, or amikacin. *Ann Vasc Surg.* 1994;8:243–247.
 131. Mader JT, Calhoun J, Cobos J. In vitro evaluation of antibiotic diffusion from antibiotic-impregnated biodegradable beads and polymethylmethacrylate beads. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41:415–418.
 132. Ueng SW, Lee SS, Lin SS, Chan EC, Hsu BR, Chen KT. Biodegradable alginate antibiotic beads. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;380: 250–259.
 133. Ueng SW, Yuan LJ, Lee N, Lin SS, Chan EC, Weng JH. In vivo study of biodegradable alginate antibiotic beads in rabbits. *J Orthop Res.* 2004;22:592–599.
 134. Shermak MA, Wong L, Inoue N, Crain BJ, Im MJ, Chao EY, Manson PN. Fixation of the craniofacial skeleton with butyl-2-cyanoacrylate and its effects on histotoxicity and healing. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102:309–318.

8. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- BT : Bilgisayarlı tomografi
- CRP : C reaktif protein
- ESR : Eritrosit sedimentasyon hızı
- IL : İnterlökin
- MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon
- MRG : Manyetik rezonans görüntüleme
- MRSA : Metisiline rezistans stafilokokus aureus
- NBCA :N- butil 2- siyanoakrilat
- PET : Pozitron emisyon tomografisi
- PMMA :Polimetilmetakrilat

9. ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa No
Şekil 1: Tibia proksimal uçtan örnek alınan bölgelerin Şematik görünümü	53
Şekil 2: Grupların apse durumuna göre olgu dağılımı	59
Şekil 3: Grupların kültürde üreme durumuna göre olgu dağılımı	59

10. RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa No
Resim 1: Yabancı cisim olarak hazırlanmış K telinin görünümü	42
Resim 2: 50x10x2 mm ölçülerde hazırlanmış spongostan ve üzerine homojen dağıtılmış olan siyanoakrilat	43
Resim 3: En küçük parçanın (2,5x5x2 mm) görünümü	43
Resim 4: Steril boyanıp örtülerek hazır hale getirilen ratın sol bacağının görünümü	44
Resim 5: sol diz orta hat kesisi	45
Resim 6: Tibia proksimalinin drillenmesi	45
Resim 7: Önceden hazırlanan K tellerinin kemiksel oluğa yerleştirilmesi	46
Resim 8: Kemiksel oluğa yerleştirilmiş yabancı cismin görünümü	47
Resim 9: Sutürasyon sonrası görüntü	47
Resim 10: 1. aşamada konan K telinin çıkartılması	48
Resim 11: Kanlı agar görüntüsü	49
Resim 12: Yabancı cisim çıkartıldıktan sonra enfekte alanın drillenmesi	51
Resim 13: Antibiyotik taşıyıcı sistemin kemik oluğa yerleştirilmesi	51
Resim 14: 24 saat sonra kanlı agar görüntüsü	54

11. TABLOLAR DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1: Osteomiyelite neden olan mikroorganizmalar ve görülme sıklıkları	16
Tablo 2: Klinik durumların antibiyotik uygulama yolları ve önerilen tedavi	30
Tablo 3: Çalışma gruplarının tanımları, adlarının kısaltmaları ve denek sayıları	50
Tablo 4: Çalışma gruplarının apse varlığı, kültürde üreme yokluğu ve kantitatif kültürde koloni sayısı açısından sonuçları	58
Tablo 5: Grupların apse varlığına göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları	60
Tablo 6: Grupların kültürde üreme yokluğuna göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları	60
Tablo 7: Grupların kantitatif kültürde koloni sayılarına göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları	61
Tablo 8: Grupların beyaz küre, CRP ve IL-6 değerleri açısından sonuçları	62
Tablo 9: Grupların beyaz küre sayılarına göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları	62
Tablo 10: Grupların CRP düzeyleri açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları	63
Tablo 11: Grupların IL-6 düzeyleri açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları	63
Tablo 12: Grupların doku vankomisin düzeyi açısından sonuçları	64
Tablo 13: Grupların Doku vankomisin düzeyleri açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları	64
Tablo 14: Grupların serum kreatinin düzeyi açısından sonuçları	65
Tablo 15: Grupların serum kreatinin düzeyleri açısından istatistiksel karşılaştırma sonuçları	65
Tablo 16: Lokal Antibiyotik Taşıyıcı Sistemlerin Salınım Özelliklerinin Karşılaştırılması	68