

ZÁRÓBESZÁMOLÓ

Különböző antibiotikumok emissziós tulajdonságainak analízise csont-transzplantátumokból és csontpótló anyagokból

T 037530

dr. Szabó György

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosegészségügyi Centrum
Orthopédiai Klinika

2006

1. BEVEZETÉS

Napjainkban egyre nagyobb a vázrendszeri, illetve ízületi megbetegedések tüneteivel orvosnál jelentkező betegek száma. Csakúgy, mint a legtöbb ortopédiai műtétnek, a nagyízületi endoprotetizálásnak is legsúlyosabb szövődménye a sebgyenyedés, -szuppuráció-, mellyel szemben a legkézenfekvőbb védekezés a fertőzés megelőzése.

Hazánkban a prevencióhoz használatos technikai felszereltség (egyszerhasználatos műszerek, zsiliprendszerek, laminar air flow) adta lehetőségek napjainkban még mindig meglehetősen kevés műtőben állnak rendelkezésre, így különösen nagy szerep jut az infekciók kialakulásának megelőzésében a gyógyszeres prevenciónak, az antibiotikumok alkalmazásának, a fertőzéskontroll betartásának.

Záróbeszámolómban áttekintem a nagyízületi endoprotetizálások antibiotikus védelmének lehetőségeit, és ismertetem saját kísérleteimet, melyek során az antibiotikum csontcementhez, csontpótló anyagokhoz kötődését, illetve abból történő kioldódását vizsgáltam mind *in vitro*, mind pedig *in vivo*. Ezen túlmenően a Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvosi Kar, Orvosegészségügyi Centrum Ortopédiai Klinikán történt protézis-beültetések epidemiológiai, infektológiai adatait analízálom eredményeim tükrében.

1.1. TERÁPIÁS ÉS PREVENCIÓS LEHETŐSÉGEK

1.1.1. Sebgyenyedést okozó kórokozók

Az ortopédiában gyakrabban Gram pozitív kórokozók: Staphylococcus aureus, koaguláz-negatív Staphylococcusok, Streptococcusok, Pneumococcusok, Enterococcusok a felelősek az infekciókért; kevésbé gyakori a Gram negatív fertőződés: Haemophilus influenzae, Pseudomonas aeruginosa, E. coli, Klebsiella és egyéb törzsek által. Az anaerob ágensek, vagy gombák által okozott infekció ritkaság számba megy.

1.1.2. A szisztémás antibiotikus profilaxis

Az antibiotikumok szisztémás preventív célú alkalmazásának eredményeképp a feltételezett patogén kórokozók elpusztulnak az infekció manifesztálódása előtt. Ezt nevezzük szisztémás

antibiotikus profilaxisnak. A PTE Ortopédiai Klinika gyakorlatában azon műtéteknél alkalmazunk rutinszerűen szisztémás antibiotikum profilaxist, melyeknél nagy szövetroncsolódásra, elhúzódó lefolyásra és/vagy idegen anyag beültetésére kell számítani, vagy rossz immunstátuszú betegekről van szó. Ezek a nagyízületi protézis beültetések, az implantátum behelyezésével járó gerinc műtétek, egyes osteotomiák, mélyfagyasztott csontbankból származó allogén csontszövet beültetésével járó műtétek, reoperációk (revíziós arthroplastikák). Amennyiben ezen indikációk nem állnak fenn, az antibiotikus profilaxis nem javallt, hiszen az antibiotikum tudvalevőleg megbontja a szervezet kommenzális baktériumflóráját, fokozódik a baktériumok rezisztenciája, toxikus mellékhatások jelentkezhetnek, növekszik a kezelés költsége, tüneteket fedhet el, hamis biztonságérzetet adhat.

A mai napig nem rendelkezünk még olyan antibiotikummal, vagy antibiotikum kombinációval, ami képes lenne megvédeni az operált betegeket mindenfajta exogén és endogén fertőződéssel szemben. A kórokozók antibiotikumra való érzékenysége, gazdaságossági és egyéb szempontok alapján jelenleg a második generációs cefalosporinok a legkedveltebb antibakteriális szerek az antibiotikus szisztémás profilaxis alkalmazása során. Ugyanakkor az utóbbi évtizedben az egydózisú preventív antibiotikus profilaxis elterjedésével egyre többen tartják hatékonyabbnak és gazdaságosabbnak a III. generációs cefotaximot, vagy ceftriaxont.

A gyógyszeradagolás időtartamát tekintve is többféle álláspont ismert a nemzetközi irodalomban. *Preventív -„egy dózis”- antibiotikus profilaxis (single-dose prophylaxis)*: a műtét előtt 30-60 perccel korábban adandó profilaxis, mely MIC feletti koncentrációban várható a szövetekben. *Perioperatív antibiotikus profilaxis (multiple-dose prophylaxis)*: intraoperatív és posztoperatív 24-48 órán át adjuk az antibiotikumot a farmakokintetikai feltételeknek megfelelően. Mindkét módszer esetén az intravénás adagolás a legcélravezetőbb. A PTE Ortopédiai Klinikán perioperatív multiple-dose prophylaxist végzünk. A kiválasztott antibiotikumot a műtét kezdete előtt kb. 30 perccel, de legkésőbb az

anesthézia bevezetésekor kerül beadásra intravénásan. A műtétet követő 24 órán belül a szer farmakokinetikájának megfelelő gyakoriságban ismétljük az antibiotikum adását.

1.1.3. A lokális antibiotikus profilaxis

A lokális antibiotikus profilaxis gyakorlata főként tapasztalati elveken nyugszik, alapvetően két formában alkalmazzuk:

- Az antibiotikus öblítések során, mely kapcsán az öblítőfolyadék mechanikus szerepén túlmenően a mosófolyadékból az antibiotikumok a szövetek, implantátumok felszínén elhelyezkedő baktériumokat is képesek elölni.
- Valamilyen vivő anyaghoz (pl. Csontcement, poly-methyl-methacrylat stb) adva.

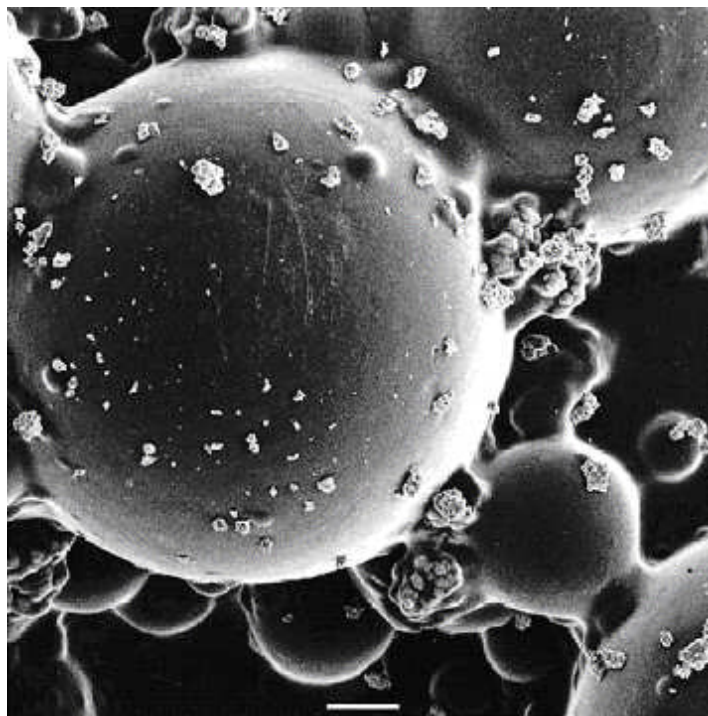
Lokális prevencióra legnagyobb szükség olyan helyeken van, ahol a területnek csökkent a vérkeringése, és élő lágyszövetborítást sem kaphat, ezáltal védekező mechanizmusa gyakorlatilag nincs. Előnye, hogy a helyileg használt antibiotikum csak az alkalmazási területen fejti ki hatását. A lokálisan alkalmazott, vivőanyaghoz kevert antibiotikumok lassú kiáramlása folyamatos védelmet biztosít az adott szövetben. Ezt a felfedezést először csípőízületi protézisműtéteknél használták eredményesen, majd később ezt kiterjesztve chronicus infekciók kezelésére is alkalmasnak találták. Az erre a célra használt antibiotikumokkal szemben támasztott követelmények az alábbiak: ne befolyásolja a csontcement mechanikai tulajdonságait, hozzáférhető legyen por formában, vízzoldékony és hőstabil legyen. Ilyen antibiotikumok többek között például: gentamicin, oxacillin, tobramicin, vankomicin, clindamicin, erythromicin, cefazolin, cefuroxim, cefamandol.

A csontcement kitölti a teret a csont és a mesterséges ízületpótló anyag között, s ezáltal, még ha kifejezetten szilárd és kemény jellemzőkkel is rendelkezik, mintegy párnaként funkcionál, s a protézisről egyenletesen elosztott erőt ad át a csontoknak. A jelenleg kapható minden csontcement kémiaileg ugyanazon az alapvegyületen alapul: a methyl-methacrylat-on (MMA), mely kémiaileg methacrylsav észter. Ipari mennyiségben 1928-ban kezdték gyártani

Németországban, mely a 40-es években PlexiglasTM-ként volt elérhető . A Judet fivérek 1956-ban először használták a csontcementet az arthroplastikában, bár gyorsan kiderült, hogy a tiszta PMMA (Plexiglas) protézisek nem felelnek meg a testbe való beépülésnek. Ezt követően 1958-ban Sir John Charnley volt az aki sikeresen ültetett be femurfej protézist auto-polymerizálódó PMMA segítségével, és ezzel egy teljesen új sebészi technikát alapított meg. Számos újítás mellett egy további fontos és áttörő lépés volt, amikor a hatvanas évek végén megjelentek az első antibiotikummal kevert csontcementek. Egy 2000-ben készült felmérésben már negyven felett volt a kereskedelemben kapható, különböző gyártmányú csontcementek száma.

A jelenleg használatos csontcementek ún. kétfázisos csontcementek. Az egyik fázis az a már pre-polymerizált MMA, melyet jól hűthető forralóedényekben készítenek és az így készített polimerek 1-125 μ m átmérőjű golyócskák, s jól oldódnak a monomer MMA-ban. Ezen kétfázisos technika használatával a zsugorodás és a hőtermelés is nagyfokban csökkenthető.

1. Ábra: Scanning elektronmikroszkópos kép a Palamed csontcementről



A jelenleg használt csontcementek tartalmaznak még dibenzol peroxidot (ami a polymerizáció iniciátora), sugárelnyelő anyagot (cirkónium dioxid vagy bárium szulfát), ill. egyes esetekben antibiotikumot, szinezéket (pl. klorofilt).

A kétkomponensű csontcementek esetén az antibiotikumokat vagy gyárilag a szilárd komponenshez keverve találjuk, vagy pedig a műtőben történik azok kézi hozzáadása a csontcement két komponensének összekeverése előtt. Az antibiotikum-kötődés pontos mechanizmusáról biztos információval nem rendelkezünk, feltételezhetően a cement egy szivacshoz hasonlóan, mechanikus kapcsolattal tartja magában az antibiotikumot.

A jelenlegi ismereteink alapján a csontcementből történő antibiotikum felszabadulás történhet egyrészt a felszínről, másrészt a pórusokon keresztül a cement matrixából történő „leöblítődés-kimosódás” révén, harmadrészt a mátrix belsejéből, a cement állományán keresztül a környezetében található nedvesség hatására diffúzióval.

2. VIZSGÁLATAINK CÉLJA

Vizsgálataink célja az volt, hogy világszerte, a mindennapokban rutinszerűen alkalmazott lokális és szisztémás antibiotikus technikák hasznosságát, értelmét megvizsgáljuk és objektív módon bizonyítsuk a létjogosultágukat.

Kísérleteink során az orthopédiában profilaktikus célból használt antibiotikumokat vizsgáltuk, s arra voltunk kíváncsiak, hogy vajon a klinikánkon alkalmazott módszerrel milyen antibiotikus körülményeket teremtünk az operált területekben és ennek milyen klinikai profilaktikus hatásait, eredményeit tapasztaljuk.

1. Célunk volt kidolgozni egy standard, reprodukálható, in vitro vizsgálómódszert, mellyel képesek vagyunk különböző csontcementek és antibiotikumok kioldódási tulajdonságait vizsgálni. Ezen vizsgáló módszer ellentétben más precíziós in vitro detektáló módszerekkel (pl. HPLC, FPIA stb.), nem a koncentrációk csupán számadatokkal jellemzett értékeit adja meg, hanem a „biológiailag aktív” kiáramlott antibiotikum mennyiségére is utal. Ebben a tekintetben nagyon eltérő eredmények

láttak korábban napvilágot. Az eltérések egyik legvalószínűbb oka lehet a vizsgáló módszerek különbözősége és pontatlansága, ezért ki szeretnénk volna alakítani egy egyszerű, pontos, reprodukálható metodikát.

2. Ezen vizsgálómódszer alkalmazásával választ akartunk kapni arra a kérdésre is, hogy az antibiotikum tartalmú csontcement képes-e hosszabb idővel az összekeverést követően is antibiotikumot kibocsátani, s ha igen annak lehet-e therápiás jelentősége.
3. Az európai gyakorlatban és a PTE OEC Ortopédiai Klinikán is leggyakrabban alkalmazott antibiotikum-csontcement komplex gentamicint tartalmaz gyárilag, illetve közvetlenül a műtét folyamán manuális technikával hozzáadott módon. Célunk volt e két preparálási módozat miatt esetlegesen kialakuló kioldódási tulajdonságok különbözőségeinek összehasonlítása. Vizsgáltuk, hogy a két különböző keverési technikával előállított antibiotikum-csontcement komplexből történő antibiotikum kiáramlás között van-e szignifikáns mennyiségbeli eltérés.
4. In vitro vizsgálatok mellett azt is szeretnénk volna megvizsgálni, hogy vajon mennyire felelnek meg a laboratóriumi adatok az in vivo talált eredményekkel, s a betegekben milyen antibiotikum szint változásokkal kell számolni az ortopédiai műtéteket követően a közvetlen posztoperatív szakban.
5. Kíváncsiak voltunk az évekkel későbbi lokális antibiotikus profilaktikus hatás esetleges jelenlétére is.
6. Mivel antibiotikum tartalmú áztató oldatot, mint lokális profilaktikus módszer egy fajtáját rutinszerűen használjuk egyes allogén szövettranszplantáció esetén is, arra is kíváncsiak voltunk, vajon az egyes mélyfagyasztott allogén szövettranszplantátumok milyen antibiotikus felvételi és leadási jellemzőkkel rendelkeznek az olvasztásra használt áztatófolyadékából.
7. A klinikánkon rutinszerűen működő prevenciók eljárásokat jobban tudatosítva megpróbáltunk megalapozni egy jól működő fertőzéskontrollt illetve meghatározni
 - a. egyes fertőzési mutatók relevanciáját prospektív és retrospektív módszerek használatával
 - b. a láz esetleges prediktív értékét az infekciók kialakulásában.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. *IN VITRO* ANTIBIOTIKUMSZINT MÉRÉSEK

A standard vizsgáló módszer kidolgozásához a klinikánkon a kísérletek folytatásakor használt csontcement típust választottuk. Mivel e csontcementből rendelkezünk gyárilag hozzáadott antibiotikum tartalmúval is, ezért kézenfekvő volt, az összehasonlítás az általunk hozzákevert, és a gyárilag elkészített csontcement-antibiotikum komplex között is.

3.1.1. Az antibiotikum szintek biológiai mérése lemezöntéses módszerrel

Ezen kísérlet során célunk volt *in vitro* módszerrel vizsgálni a csontcementekhez adott antibiotikumok kiáramlási dinamikáját nyolc napos időtartamon keresztül.

A műtétek során, steril körülmények között kevertünk különböző por állagú antibiotikumokat csontcementekhez. Minden antibiotikumot tartalmazó mintából korongot készítettünk. A korongok áztató folyadékainak cseréje során, (egy hétig naponta egyszer) azonos mennyiségű mintákat vettünk és azokat baktériummal beoltott táptalajra csöppentve, mikrobiológiai lemezöntéses módszerrel vizsgáltuk. A minták antibiotikum tartalmának kvalitatív jelzője a táptalajokon létrejövő gátlási zóna jelenléte, kvantitatív mutatója a gátlási zóna szélessége volt.

3.1.2. Különböző típusú antibiotikum tartalmú csontcementek hosszú távú *in vitro* vizsgálata

A fent alkalmazott *in vitro* módszer minimális változtatásával (Jelen kísérletben mindhárom antibiotikumra érzékeny *Bacillus subtilis* használtunk) a klinikánkon rendelkezésre álló csontcementeket vizsgáltuk abból a szempontból, hogy milyen hosszú ideig képesek leadni a műtőben hozzájuk kevert, 1,5 g cefuroxim port, 1,4 g por konzisztenciájú Gentamicinum sulfuricum-ot, illetve 1,2 g erythromycin port.

3.1.3. Preparálási technika hatása az antibiotikum kioldódási képességére

Ezen vizsgálataink során arra voltunk kíváncsiak, hogy az általunk alkalmazott, manuális összekeverési technikának van-e valamilyen hatása az antibiotikum csontcementből történő kiáramlására. 20 betegnél primer coxarthrosis miatt totál csípőendoprotézist beültetést végeztünk. A betegeket randomszerűen két kísérleti csoportba osztottuk. Az I. csoportba

tartozó betegeinknél korábban gyárilag preparált, gentamicin- szulfát tartalmú csontcementet használtunk. A II. csoportba tartozó betegeink esetében a műtét során a csontcement por konzisztenciájú komponensét spatulával, manuális technikával egyenletesen összekevertük vákuum használata nélkül 1,48 g por állagú Gentamycinnel, majd ezután hozzákevertük a folyékony monomert. Eredményeink értékelésénél vizsgáltuk mindkét típusú csontcement-antibiotikum-komplexből kioldódott gentamicin abszolút mennyiségét, és értékeltük azok egymáshoz viszonyított arányát.

3.2. IN VIVO ANTIBIOTIKUMSZINT MÉRÉSEK

3.2.1. Antibiotikum kibocsátás rövidtávú vizsgálata *-in vivo* módszerrel

Ezen vizsgálatunk célja az volt, hogy a gyakorlatban is bizonyítsuk, hogy a műtéteket követően a műtéti területben megfelelő mennyiségű, prevenciót biztosító antibiotikum van jelen. A betegeken közvetlen posztoperatív időszakban fennálló antibiotikum szintek méréséhez kísérletsorozatunkban 10 beteget vizsgáltunk, akik csípőprotézis beültetésen estek át. A műtét során egy mély- és egy felületes szilikondrain került elhelyezésre, melyekből a mintákat vettük 48 órán át. Az összegyűjtött és mélyfagyasztott mintákból gentamicin mennyiségi kimutatást végeztünk fluoreszcens-polarizációs-immunoassay módszerével.

3.2.2. Antibiotikum kibocsátás hosszútávú vizsgálata *in vivo* módszerrel

Ezen vizsgálatok során arra voltunk kíváncsiak, hogy a műtéteket követően meddig észlelhető az antibiotikum emisszió emberben. Kísérletsorozatunk ezen részében megvizsgáltuk, hogy reoperációk során nyert csontcement mintákból, lehet-e antibiotikus aktivitást kimutatni. A reoperációk során eltávolítottuk a korábban 1,48g Gentamicinum sulfuricum hatóanyaggal összekevert Palacos® R csontcementet. Az általunk kivésett csontcementből készített mintákat hasonlítottuk össze antibiotikus aktivitásuk alapján.

3.2.3. Antibiotikus csontcement hosszútávú szisztémás hatásának *in vivo* vizsgálata

Annak érdekében, hogy megállapítsuk, vajon a lokálisan csontcementben beültetett gentamicin depot évekkel a beültetést követően okoz-e szisztémás és/vagy lokális antibiotikumhatást a protézis körüli szövetekben 9 betegünkönél végeztünk vizsgálatot, akiknél aszeptikus protézis lazulás miatt revízióra került sor. A revíziós műtét során különböző helyekről (vénás vérből (szérum), vizeletből, synovialis folyadékból, a periprostetikus szövet három rétegéből) gyűjtöttünk mintákat, hogy megállapíthassuk az antibiotikumok szisztémás eloszlását. Az így gyűjtött mintákat mélyfagyasztva tároltuk, fluoreszcens-polarizációs-immunoassay módszer segítségével végeztünk gentamicin kvantitatív analízist.

3.2.4. Antibiotikum meghatározás allograft mintákból

Klinikánkon számos műtéthez használunk fel kadáverből származó, vagy más betegek műtete során eltávolított csont ill. ín típusú allograftot. Ezek műtéti előkészítéséhez rutinszerűen hozzátartozik, hogy a mélyfagyasztott mintákat gentamicin tartalmú meleg sóoldatban olvasztjuk fel. Kísérleteink során arra voltunk kíváncsiak, vajon a különböző típusú szövetek milyen mértékben képesek a gentamicint abszorbeálni, ill. azt milyen sebességgel adják le a környezetüknek. Dolgozatomban részletesen ismertetett módszer segítségével nyert 24, 48 és 72 órás mintákból gentamicin mennyiségi kimutatást végeztünk el.

3.3. KLINIKAI INFEKCIÓK ÉS AZOK KONTROLLJA AZ ORTOPÉDIÁBAN

3.3.1. Klinikai infekció kontroll alkalmazása az ortopédiai gyakorlatban

A PTE OEC ÁOK Ortopédiai Klinikáján a lokális és szisztémás antibiotikus profilaxis kombinált formáját alkalmazzuk a mai napig is. Ezen technika hatásosságának felmérése céljából végeztük el klinikai eredmények vizsgálatát.

A Kórházhigiénés szolgálattal együttműködve indult az infekció kontroll programja, melynek céljait az alábbiakban fogalmaztuk meg:

1. A műtétek kapcsán kialakuló sebfertőzések adatainak összegyűjtése, mennyiségi és minőségi elemzése.
2. Az intézet, a műtők és osztályok higiénés rendjének felmérése, az antibiotikum profilaxis és terápia rendszerének elemzése.
3. Az intézet orvosai, szakdolgozói klinikai epidemiológiai ismereteinek bővítése.
4. Az infekció kontroll begyakorlása, végleges formájának kialakítása és beillesztése a gyógyító tevékenységébe.
5. Pénzügyi kihatások elemzése, költségmegtakarítás.

A program kezdetét megelőzően az intézet vezetése és a Kórházhigiénés Szolgálat egységes szempontokat fogalmazott meg az osztályok és a műtők higiénés rendjével kapcsolatban, melyet dolgozatomban részletesen ismertetek.

3.3.2. A postoperatív láz jelentősége csípőprotézis beültetést követően

Ugyancsak érdekes kérdésnek tartottuk, az esetleges infekciók korai indikátoraként tartott láz jelentőségének valós klinikai alkalmazhatóságát, mely fontos kérdés az infekciókontroll tekintetében. A vizsgálat során 177 beteget vontunk be a felmérésbe. Minden beteg prophylaxisként 24 órás perioperatív antibiotikus therápiában részesült. A szakirodalomnak megfelelően akkor fogadtuk el lázasnak a beteget, amennyiben a naponta háromszor mért testhőmérséklet valamelyike elérte a 38°C-t. A láz fellépte esetén regisztráltuk azt is, hogy a betegnél hányadik napon lépett fel a láz, mennyi ideig volt lázas, a láz lefutása milyen volt és hogy részesült-e azonnali antibiotikus therápiában, vagy azt követően.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A CSONTCEMENT ANTIBIOTIKUM EMISSZIÓJÁNAK *IN VITRO* VIZSGÁLATA

4.1.1. Az antibiotikum szintek biológiai mérése lemezöntéses módszerrel

A standard oldatok körül 23-27 mm-es gátlási zóna alakult ki. Az antibiotikum mentes oltási helyek körül gátlási zóna nem volt mérhető. Az eredményeink alapján a 24. órai gátlási zónák nagysága megegyezett a csontcement típusától és az antibiotikum hozzáadási módjától függetlenül. Az első napi antibiotikum emisszió a legnagyobb, majd ezután rohamosan csökkent, logaritmikus jelleggel mindhárom esetben gyakorlatilag egyforma mértékben. A különböző csoportok között különbség a négy-hatodik nap után látszik csak. Mindegyik antibiotikus csontcement nyolc nap múlva is mutatott még antibakteriális aktivitást.

4.1.2. Különböző típusú antibiotikum tartalmú csontcementek hosszú távú *in vitro* vizsgálata

A kapott eredmények alapján az első nap, az első hét és az első hónap végén a Palacos® R-ből távozott legnagyobb mennyiségben a gentamicin, és a Surgical Simplex P®-ből legkisebb mennyiségben az erythromycin. A három csontcement-antibiotikum komplex között ezen időintervallumban csupán minimális emissziós különbség volt tapasztalható. Két hónap elteltével a csekély eltérés is eltűnt, a gátlási zónák mérete megegyezett. Az egy év elteltével végzett mérések azt mutatták, hogy mindhárom komplex esetén azonos, nagyon kis, de még detektálható mértékű volt az emisszió.

4.1.3. Preparálási technika hatása az antibiotikum kioldódási képességére

24 órával a csontcement összekeverése után a gyári kombinációból felszabaduló gentamicin átlagos mennyisége jelentősen alatta marad a manuálisan preparált kombináció által emittált mennyiségnek.

A manuálisan összekevert kombinációból nyert minták átlagértéke több, mint 2,5-szeresen meghaladta a gyári készítmény emissios átlagértékét és a különbség statisztikailag is szignifikáns volt. ($p < 0,05$)

4.2. IN VIVO ANTIBIOTIKUMSZINT MÉRÉSEK

4.2.1. Antibiotikum kibocsátás rövidtávú vizsgálata -in vivo módszerrel

A gentamicin koncentrációk 6, 24 és 48 óra múlva átlagosan 2.642, 1,256, illetve 0.682 $\mu\text{g/ml}$ -re csökkentek. Ugyanakkor 48 óra elteltével megfigyelhető a betegeknél mért antibiotikumszint logaritmikus csökkenése. A vizsgált BMI-nek nem volt szignifikáns hatása a mért antibiotikumszintekre. Amennyiben a betegeket csökkenő drain-folyadék mennyiség szerint rendeztük sorba, jól látható volt, hogy minél kevesebb folyadék vezetődik a drainen, annál több a benne található átlagos gentamicin koncentráció. A nem, a kor, az elvégzett műtét oldala nem befolyásolta a gentamicin kioldódását.

4.2.2. Antibiotikum kibocsátás hosszútávú vizsgálata in vivo módszerrel

Megfigyeléseink szerint a gátlási zónák nagysága a csontcement darab méretétől és felületétől függött, nem pedig az antibiotikum hozzáadás idejétől. Átlagosan 9,2 évvel később minden csontcement jelentős antibiotikus aktivitást mutatott. A legkorábban 12 évvel ezelőtt létrehozott csontcement-antibiotikum komplex körül is jelentős gátlási zóna jött létre. A nagyobb felületű sértetlen csontcement minta körül viszont kisebb gátlási zóna alakult ki, mint az azonos tömegű, kisebb felületű, de vastagabb minta körül, melynek a mélyebb rétegei a méretre vágás során váltak szabaddá.

4.2.3. Antibiotikus csontcement hosszútávú szisztémás hatásának in vivo vizsgálata

A primér műtétet követően átlagosan 77 hónappal revízióra került betegeink közül, mindössze három esetben találtunk kimutatható mennyiségű gentamicint a vizeletben. Egyetlen betegünkönél sikerült a vérből is kimutatni gentamicint, bár ez már jóval a megbízható alsó méréshatár alatti érték volt. A periprotetikus lágyrész szövetekből készült minták egyikében sem tudtunk gentamicint kimutatni.

4.2.4. Antibiotikum meghatározás allograft mintákból

Az allogén graftok a 20 mg/ml gentamicin koncentrációjú izotóniás só oldatból antibiotikumot vettek fel, s fokozatosan le is adták. A különböző graftok viselkedésében azonban jelentős eltéréseket találtunk. Az abszorpciót tekintve legnagyobb mennyiségben a lágyszövetes graft mutatott antibiotikum felvételt, ezt követte a spongiosus csont, majd ennél is kisebb mértékben történt antibiotikum felvétel-leadás a corticospongiosus graft esetében. A leadás dinamikáját tekintve is jelentős különbségeket találtunk. A spongiosus csontgraft mintegy 48 órán keresztül meglehetősen nagy mennyiségben adta le az antibiotikumot, majd ezt követően már csökkent az antibiotikum leadás mértéke. A corticospongiosus graft a spongiosánál jóval alacsonyabb szinten emittálta a gentamicint, de hasonló dinamikával. A patellaiból készült graft az első 24 órában jóval a csont graftok által emittált mennyiség felett bocsátotta ki a gentamicint, azonban a második és harmadik napra a kibocsátott mennyiség a csontos minták által kibocsátott mennyiség alatt volt.

4.3. KLINIKAI INFEKCIÓK ÉS AZOK KONTROLLJA AZ ORTOPÉDIÁBAN

4.3.1. Klinikai infekció kontroll hatásossága az ortopédiában

Egy naptári év alatt klinikánkon 1316 műtét történt. 20 esetben (1,5%) fordult elő mikrobiológiailag igazolt sebfertőzés. 3,4%-os előfordulást regisztráltunk csípőprotézis műtétekhez társulva, 4,9%-ot gerincműtéteknél implantátum esetén és 1,4%-ot az egyéb kategóriában. Térdműtétekhez (arthroszkópia, protézis, stb.) nem társult sebfertőzés. Eseteinkben a Gram-pozitív fertőző baktériumok aránya volt magasabb, az irodalmi adatokhoz hasonlóan a *Staphylococcus aureus* és a koaguláz-negatív *Staphylococcus* a két leggyakoribb kórokozó. Meticillin rezisztens *Staphylococcus* (MRSA) fertőzés nem fordult elő. Az antibiotikus terápiával és profilaxissal kapcsolatos intézkedések meghozatalát és a terápiás elvek kialakítását követően az antibiotikumokra költött összeg az infekció kontroll

időszakában 3,3 millió forint volt. Ugyanerre egy évvel korábban még 5,2 millió forintot fordítottunk.

4.3.2. A postoperatív láz jelentősége csípőprotézis beültetést követően

A közvetlen postoperatív szakban a vizsgált 177 betegből 69-nél (35%) mértünk 38°C-nál magasabb testhőmérsékletet. Mindösszesen 4 betegnél lépett fel 39°C-nál magasabb láz, a legmagasabb hőmérséklet pedig 39,4°C volt. Kilenc betegnél sikerült a fellépett láz mögött megfelelő okot találni. Négy esetben a beavatkozás helyén kialakult nagyobb haematoma okozhatta a lázat, melyek közül egy esetben a postoperatív szakban légúti infekciót is észleltünk a haematoma mellett. Mivel egyik esetben sem volt szükség sebészi haematoma kiürítésre, ezen lázak az ún. felszívódásos láz kategóriájába sorolhatóak. Egy esetben uroinfekciót, egy másik betegnél pedig cholecystitis lehetett a láz oka. Három esetben a láz mellett a műtéti területről seromázás indult, melyből mikrobiológiai vizsgálattal is igazolt baktériumfertőzést igazoltunk. Az ezen kilenc eseten túli 60 betegnél nem tudtuk egyértelműen megállapítani a láz okát.

4.3.2.1. A postoperatív láz felléptének ideje és hossza

A 69 lázas beteg 68%-nál a láz a beavatkozást követő első 48 órában lépett fel, 5 esetben (7%) a műtét napján, 25 betegnél (36%) az első, 17 betegnél (25%) pedig a második postoperatív napon.

4.3.2.2. Összefüggés a láz és az antibiotikum adása között

Elemeztük azokat a betegeket, akiknél a fellépett láz mögött nem találtunk egyértelmű klinikai okot. Azon betegeinknél, akiknek lázát antibiotikummal kezeltük a láz átlagosan 4,1 napig tartott. Ezzel szemben azon betegeknél, ahol nem került sor antibiotikum adására a láz átlagosan mindössze 1,7 napig tartott. Ezen betegek közül 76%-ban a láz antibiotikus kezelés nélkül is 48 órán belül megszűnt.

4.3.2.3. Összefüggés a láz és a sebfertőzés között

A vizsgált 177 betegből négy esetben mutattunk ki kórokozót (S.aureus 2 esetben, S.epidermidis 2 esetben), közülük háromnál lépett fel láz a postoperatív szakban, egy pedig mindvégig láztalan maradt (S. epidermidis fertőzés). A lázas betegeknél a láz a második, a harmadik, ill. a tizennegyedik napon lépett fel, és három, ill. négy napon belül szűnt.

4.3.2.4. Összefüggés a láz és a vértransfusio között

129 beteget kellett (76%) az első 24 órában vértransfusióban részesíteni. Ezen betegcsoporton belül 32 esetben (25%) kellett az ezt követő 48 órában ismételtén vértransfuziót adnunk. A transfundált betegek közül 49 esetben (38%) lépett fel láz, míg a nem transfundált betegek esetében csak 11 esetben (27%).

5. MEGBESZÉLÉS

In vitro kísérleteinkben a rövidtávú antibiotikum kiáramlási mérések során megállapítottuk, hogy az általunk használt módszer használható antibiotikum emissziójának kimutatására, és annak mennyiségi monitorozására is. A kapott eredmények szerint a csontcementbe kevert Gentamicin 8 nap múlva is képes detektálható mennyiségben kioldódni és baktericid hatást kifejteni, függetlenül a csontcement fajtájától és a hozzáadás módjától.

In vitro kísérleteink során arra is választ kerestünk, vajon milyen az általunk a klinikán használt csontcementek hosszútávú antibiotikum kiáramlása. Ennek megfelelően megvizsgáltuk a frissen beültetett csontcementhez hasonló in vitro körülmények között, hogy milyen kiáramlási profilokat találunk, valamint hosszútávon ez hogyan változik (1 év után, valamint évekként a primer műtétet követően revízió során eltávolított csontcement darabkák segítségével). Eredményeink szerint a standard, általunk kidolgozott módszert különböző kiegészítésekkel használva az antibiotikum hozzáadását követően egy évvel később is detektálható az emisszió, függetlenül a csontcement-antibiotikum komplex típusától. A reoperációk során nyert csontcement minták direkt vizsgálata azt mutatta, hogy az antibiotikum hozzáadását követően még 12 év múlva is jelentős emissziós aktivitás

detektálható *in vitro* módszerrel. A különböző felületű minták összehasonlítása kapcsán arra a következtetésre jutottunk, miszerint a csontcement felületes rétegeiből jut ki az idők folyamán az antibiotikum, és a mély rétegek azt jóval nagyobb koncentrációban hosszú ideig képesek retineálni. Ebből a pontos kijutási mechanizmus nem deríthető ki, de valószínűleg diffúzió, vagy a csontcement pórusaiból történő passzív „kimosódás” áll a háttérben. Az irodalomban mindmáig nincs erre vonatkozóan egyértelmű adat. A gentamicin felszabadulásra irányuló *in vitro* és *in vivo* tanulmányok arra utalnak, hogy az antibiotikum miután egyenletesen eloszlott a cement állományán belül, főként a cement mikrorepedéseiből és apró üregeiből távozik egyszerű diffúzióval. A kijutási módok (felületi leoldódás, repedéseken keresztüli kioldódás, diffúzió a mátrixból) persze legvalószínűbben különböző időpontokban eltérő dominanciával játszanak szerepet. A manuálisan összekevert cement-antibiotikum komplex hátránya lehet az esetlegesen egyenetlenül eloszlott antibiotikum hatóanyag, amely a kioldódást tekintve tág határok között mozoghat. A gyárilag előállított komplex esetében egyenletesebb az antibiotikum hatóanyag kioldódása, azonban esetlegesen számolni kell a hosszú expozíciós idő miatt potenciálisan fellépő gyógyszerinterakcióval (antibiotikum-csontcement por konzisztenciájú komponense) ill. a tárolási idő során kialakuló inaktiváció kialakulásával.

Saját eredményeink alapján a manuálisan kevert csontcement- antibiotikum komplexből 24 órával az összekeverést követően az antibiotikum legalább kétszeres mennyiségben volt képes emittálódni a környezetébe. Más közlemények szerint a hozzáadott antibiotikum mennyisége határozza meg elsődlegesen a kioldódási koncentrációt, mégis az antibiotikum hozzáadás mennyiségi korlátozása az esetlegesen kialakuló *in vivo* szisztémás mellékhatások miatt, illetve a fellépő mechanikai tulajdonságok megváltozása miatt szükséges lehet.

Mi a kísérleteink során az intraoperatív eltávolított sok éve beültetett csontcementek esetén is találtunk valamely antibakteriális hatást (a csontcementdarab körül gátlási zóna volt látható) mely azt bizonyítja, hogy a csontcement még évekkel a beültetést követően is gátolja a baktériumok szaporodását, ha távolabb nem is, de közvetlen környezetében, ill. a felszínén

mindenképpen. Eredményeink szerint a gentamicin in vivo kioldódása a csontcementből időben csökkenő, logaritmusos jellegű. A sebváladékot elvezető drainekből vett minták vizsgálata során kapott értékek közül a 6 és 24 órás frakciók átlagértékei alapján megállapítható, hogy ezek megfelelnek a szisztémás antibakteriális minimális gátlási koncentrációnak ($MIC \geq 1 \mu\text{g/ml}$), így profilaktikusan kellő antibakteriális hatást fejtenek ki az érzékeny Staphylococcus törzsek tekintetében. Későbbi frakciókban azonban az antibiotikum koncentrációja a MIC érték alá lecsökkent, így felmerül a bakteriális rezisztencia kérdése. A kioldódott gentamicin koncentrációk átlaga fordított arányosságot mutatott az ürült váladék össz mennyiségével. Ez alapján felmerül a jelentős posztoperatív vérzések során a lokális antibiotikus profilaxis elégtelensége és a szisztémás antibiotikus profilaxis rutinszerű adagolásának módosítása.

A Klinikán történt endoprotézis beültetések során végzett felmérés során azt vizsgáltuk, vajon a láznak mint az egyik legjobban ismert infekciós indikátornak, mennyire jelentős a jelenléte, ill. hiánya a posztoperatív szakban. Úgy gondoljuk, hogy a posztoperatív lázak nagy részénél ez inkább csak mint akut-fázis reakció részeként egy alarmírozó válasz az operáció traumájára, ahogy ezt az irodalom is elfogadja. Mivel láz nem feltétlenül kísérő jelensége a fertőzésnek, a fertőzés tényét más diagnosztikus módszerekkel is vizsgálnunk kell, melyek közül a CRP (C reaktív protein) tűnik a leggyorsabban változó és legpontosabb indikátornak. Klinikánkon a perioperatív komplikációk közül a posztoperatív infekció kivizsgálása és annak leszorítása érdekében egy éven keresztül infekció kontrollt (surveillance-t) végeztünk. Az általunk regisztrált 3,4%-os felületes sebfertőzési arány csípőprotézis műtéteknél az irodalomban található egyes adatoknál magasabb, de meggyőződésünk, hogy a CDC ajánlás figyelembevételével kapott eredmények inkább reálisak és ezáltal a nemzetközi összehasonlításra is alkalmasak. Az infekció kontroll évében mélyre terjedő sebfertőzés klinikánkon csípőprotézis beültetések után egy alkalommal fordult elő, ami nemzetközi viszonylatban is igen jónak mondható és lényegesen jobb a megelőző két év tapasztalatainál. Az infekció kontroll időszakában ezen a téren tehát szembetűnő javulás volt regisztrálható.

Vizsgálataink szerint a sebfertőzésekben kórokozóként elsősorban a Gram-pozitív baktériumok szerepeltek, ezen belül legmagasabb a koaguláz negatív *Staphylococcus* előfordulása. A módszer alkalmazásával együtt járó jelentős költségmegtakarítást értünk el. Adatainkból kitűnt, hogy a sebinfekció átlagosan 8 nappal emelte a betegek kórházban tartózkodását, ami biztosan növeli a költségeket. Az antibiotikum felhasználás 16 százalékos csökkenése és az elért megtakarítás közel 2 millió forintos összege az infekció kontroll konkrét anyagi eredményeként értékelendő.

A kutatási project legfontosabb eredményei

A célkitűzéseinket megfelelően megvizsgáltunk különböző csontcement-antibiotikum komplexek -különös tekintettel az Európában és klinikánkon leggyakrabban használt Gentamicin+cement- tárolási és kibocsátási paramétereit *in vitro* és *in vivo* körülmények között. A klinikai vizsgálatok elvégzésével a kombinált profilaktikus eljárások hatásosságát, eredményességét és egyes kórjelző faktorok (pl.láz) prediktív értékét határoztuk meg. Ezen kísérletek illetve vizsgálatok újdonságnak értékelhető eredményei:

- 1) Sikerült kidolgozni egy standard, reprodukálható, *in vitro* vizsgálómódszert, mellyel vizsgáltuk különböző csontcementek és antibiotikumok kioldódási tulajdonságait. Ezen vizsgáló módszer ellentétben más precíziós *in vitro* detektáló módszerekkel (pl. HPLC, FPIA stb.), nem a koncentrációk csupán számadatokkal jellemzett értékeit adta meg, hanem a „biológiailag aktív” kiáramlott antibiotikum mennyiségére is utalt. Ebben a tekintetben nagyon eltérő eredmények láttak korábban napvilágot. Az eltérések egyik legvalószínűbb oka lehet a vizsgáló módszerek különbözősége és pontatlansága, ezért tulajdonítottunk nagy jelentőséget annak, hogy sikerült kialakítani egy egyszerű, pontos, reprodukálható metodikát.

- 2) Azt találtuk, hogy az általunk használt csontcementből antibakteriális hatással rendelkező antibiotikum áramlik ki, mely exponenciális módon csökken ugyan, de *in vitro* körülmények között még egy év után is mérhető mennyiségű antibiotikumot bocsát ki.
- 3) A kiáramlásban nem találtunk szignifikáns különbséget a vizsgált különböző típusú csontcementek, antibiotikumok között, azonban szignifikánsan jelentősebb antibiotikum kiáramlást észleltünk az összekeverés módozatát vizsgálva a „házi”, manuális technikával összekevert antibiotikum-cement komplex esetén, a gyári komplexel összehasonlítva.
- 4) Az *in vivo* kísérletek során megállapítottuk, hogy a sebváladékban az átlagos antibiotikum mennyiség 24 órán át a terápiás mennyiség felett volt (MIC), de sok esetben ezt még 48 óra után is elérte. Ennek szintjét sokkal inkább az elvezetett sebváladék mértéke szabta meg, mint a testtömeg, ill. a BMI index. Ebből következtethetünk arra is, hogy a protézis körüli mikrokörnyezetben szinte biztosan napokig a MIC-t meghaladó antibiotikum szintek vannak.
- 5) A hosszútávú vizsgálataink igazolták, hogy a revíziók során eltávolított csontcement darabok még „friss”, tört felület nélkül is képesek antibiotikumot kibocsátani magukból évek múltán is, s bármely újonnan képződött törés és „friss” felület képződése esetén az antibiotikum kiáramlás jelentősen megnő, akár az a terápiás szintet is meghaladhatja.
- 6) Képet kaptunk az ortopédiában rutinszerűen transzplantációra használt különböző allogén szövetek antibiotikus abszorpciós és emissziós képességeiről, melyről az irodalomban eddig publikáció nem látott napvilágot.
- 7) A klinikánkon végrehajtott infekció kontroll segítségével pontos képet kaptunk a nálunk előforduló sebfertőzések és mélyinfekciók valódi arányáról, a kórokozók típusáról és azok megoszlásáról. Hazai hasonló adat az ortopédiai nagyizületi protézis beütemezések esetén eddig nem állt rendelkezésre, a nemzetközi adatok pedig az eltérő technikai feltételek miatt nem feltétlenül érvényesek a hazai szakmai környezetben.
 - a. A folyamatos kontrollnak köszönhetően a mélyinfekciók arányát sikerült 1% alá szorítani, s a tudatosan és nem feleslegesen használt antibiotikus terápiának

köszönhetően mindezt úgy tettük, hogy közben az antibiotikumokra fordított költségeket nagymértékben redukálni tudtuk.

- b. A klinikai felmérések során azt találtuk, hogy a láz mint a műtéti terület esetleges fertőzésére utaló, régóta felismert figyelmeztető jel az operált betegeink mintegy 35%-ánál fellépett, bár valódi igazolt mélyinfekció csak 2.3%-ban fordult elő. Rövid, 48 óránál rövidebb ideig fennálló lázak esetén, más infekciós jelek jelenléte nélkül tehát az antibiotikus kezelések nem szükségesek. Fontos az a felismerés is, hogy mélyinfekció jelenléte mellett sem várhatunk minden esetben lázat, tehát annak hiányában is gondolhatunk infekcióra.

Mivel a már kialakult protézis körüli fertőzések kezelése kifejezetten nehéz, sokáig tart és költséges, a preventív módon való fertőzési arány csökkentésének hatalmas jelentősége van. .

A beültetéshez használt, csontcementbe kevert antibiotikum koncepciója Buchholz és Engelbrecht munkásság, a 70'-es évekig nyúlik vissza, és azóta is az ortopédiában rutin eljárásként szerepel. Ugyancsak a mindennapok része a szisztémás antibiotikus profilaxis is, melyek külön vagy kombinált használatával az ortopéd sebészek megelőzni kívánják a nem kívánt sebgyógyulást.

Remélem és hiszem, hogy dolgozatommal hozzájárultam az antibiotikus profilaxis ortopédiában történő használatának jobb megértéséhez, és eredményeim meggyőzően igazolják a mindennapos rutin tevékenységünket, melyet a betegek védelme érdekében végzünk.