

CMW Kemik Çimentosundan Gentamisin Sülfat Salınımının İn Vitro İncelenmesi (I)

RELEASE OF GENTAMYCINS
FROM CMW BONE CEMENT (I)

Birol GÜLMAN

Giresun Devlet Hast. Ortopedi ve Trav. Uzmanı

Geliş Tarihi: 25 Aralık 1984

ÖZET

Bu çalışmada 40 gr CMW kemik çimentosu'na 1 gr gentamisin sülfat ilave edilerek hazırlanan antibiyotikli kemik sementi tabletlerinin standart S. Aureus ekili DST (oxid) vasatla onlenim bölgeleri ve distile su, serum fizyolojik, 10 x SF ve DST ağara antibiyotik salınanlar incelendi.

CMW kemik çimentosu içinden in vitro gentamisin salınımı, ilk 24 saat içinde en yüksek seviyelerde olmakta, dördüncü günden itibaren aktivitesini süratle kaybetmekte ve azalan miktarlarda 14 gün devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kemik çimentosu, gentamisin, total kalça protezi

T Kİ Tıp Bil Arast Dergisi G.3.,.5.1, 1985, 29-32

SUMMARY

Antibiotic containing tablets were prepared by adding 1 gr of Gentamycine to 40 gr of CMW bone cement. Release of the antibiotic from these tablets to distilled water, saline, and 10xSF and DST agar mediums was investigated. It was observed that the concentration of gentamycin rapidly climbed in the medium reaching maximum within the first 24 hours. This high concentration was maintained for four days following which it was gradually reduced until loss of activity occurred on day 14,

Key Words: CMW bone cement, Gentamycine

T J BosMed Sci V.3, N.1, 1985, 29-32

Bugün bir çok ortopedi ve travmatoloji merkezinde uygulanan total protez sayısı hayli yüksek rakamlara ulaşmıştır. Bunun doğal sonucu olarak da karşılaşılan komplikasyonlar artmaktadır. Total kalça protezi ameliyatlarının en önemli komplikasyonu, erken ve geç derin enfeksiyondur (1, 2, 3).

Olumlu neticeleri ağır bir biçimde gölgeleyen bu enfeksiyon olgusuna karşı profilaksi düşüncesi kemik çimentosu içinde depo etki gösterecek antibiyotik kullanma fikrini doğurmuştur. Antibiyotikli kemik çimentosu kullanma öncülüğü Buchholz'a aittir. Yazar polymethylmethacrylate'a gentamisin sülfat ilave ederek kullandığı 1115 total kalça protezi uygulamasında enfeksiyon oranını % 0.09 olarak bildirdi (4). Ancak, halen antibiyotikli kemik çimentosu kullanımı ile ilgili çelişik görüşler ileri sürülmektedir.

Ülkemizde sıklıkla kullanılan CMW kemik çimentosunun gentamisin salınımı ile ilişkisini saptayabilmek ve antibiyotiğin geç enfeksiyon profilaksisindeki yerini ortaya koyabilmek için bu çalışmayı hazırlamış bulunuyoruz.

GEREÇ VE YÖNTEM

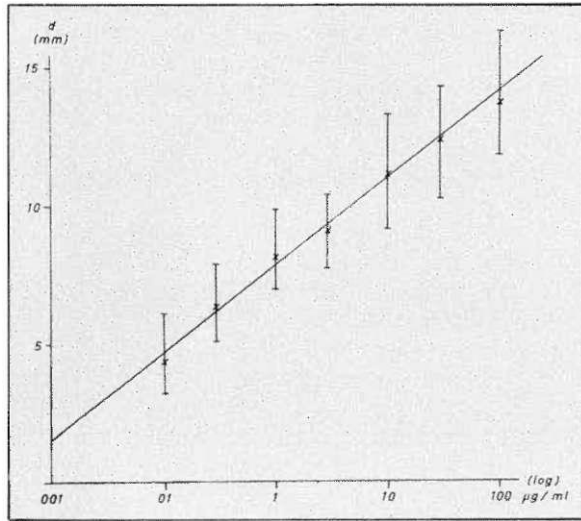
Antibiyotik ilâve edilmiş kemik sementi ile yaptığımız in vitro ve in vivo deneylerimiz için, kemik çimentosu olarak kliniğimizde total kalça protezi ve femur başı protezi ameliyatlarında en sık kullanılan CMW Bone Cement Type I (CMW Laboratories Ltd. England) kullanıldı. Antibiyotik olarak da, aminoglycosides grubu bir antibiyotik olan, suda eriyen, gram pozitif ve negatif bakterilere karşı (özellikle pseudomonas, proteus ve stafilokoklara etkin) bakterisidal etki gösteren gentamisin sülfat (toz şeklinde) (Eczacıbaşı İlaç San.) kullanıldı.

Antibiyotik Konsantrasyonu Ölçümünde Kullanılan Yöntemin Hazırlanması:

Tüp dilüsyon yöntemi ile, mililitrede 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10, 30, 100 mikrogram gentamisin sülfat olacak şekilde antibiyotik solüsyonları hazırlandı. Whatman No. 2 filtre kâğıdından hazırlanmış olan kağıt disklerle (6 mm çapında) 10 kağıt disk 70 mikrolitre emecek şekilde emdirildi. Elde edilen standart antibiyotik diskleri, deneyler süresince 4°C'da saklandı.

Deneylerimizde kemik enfeksiyonlarının en sık sebebi olan *S. aureus* kullanıldı, Osteomyelitli hastadan izole edilmiş gentamisine hassas, koagülaz pozitif hemolitik *S. aureus* suşu adi vasatta 24 saatlik pasajlar yapılarak 4°C'da korundu.

Adi ağardaki 24 saatlik *S. aureus* kültüründen McFarland 2'ye göre sulandırım yapıldıktan sonra, bir eküvyon alınarak DST (oxid) ağara tam olarak yayıldı. 15 dakika beklemeden sonra, daha önce hazırlanmış olan standart antibiyotik diskleri standart *S. aureus* ekili DST ağarlara yerleştirildi. Bu şekilde hazırlanan 12 petri kutusu, 37°C'da 24 saat inkübe edildi. 24 saat sonunda standart antibiyotik diskleri etrafında oluşan önlenim bölgeleri ölçülerek, deneylerimizde antibiyotik konsantrasyonu ölçümünde kullanılacak standart eğri saptandı (Şekil-1).



Şekil-1. Gentamisin sülfat için hazırlanan standart eğri

Deney I:

A. 40 gr CMW kemik sementine 1 gr toz haldeki gentamisin sülfat ilave edildikten sonra, uzun süre karıştırılarak homojen dağılım sağlanmaya çalışıldı. Karışıma akrilik monomer ilavesi ile hazırlanan antibiyotikli sement 8 mm çapında, 4 mm yükseklikte küre dilimi şeklindeki lastik kalıplara döküldü. Ortalama 230 miligram antibiyotikli kemik sementi (5.75 mikrogram gentamisin sülfat ihtiva eden) diskleri elde edildi.

B. Kontrol grubu olarak kullanılmak üzere aynı kalıplara antibiyotik ihtiva etmeyen kemik çimentosu dökülerek diskler elde edildi. Deneyler boyunca 4 C- da saklandı.

C. 24 saatlik *S. aureus* kültüründen McFarland 2'ye göre sulandırım hazırlanarak, DST (oxid) ağara bir eküvyon ekim yapılarak hazırlanmış olan 3 vasatın herbirine 2 antibiyotikli kemik çimentosu tableti

kondu. 37 C'da 24 saat inkübasyonu takiben oluşan önlenim bölgeleri ölçüldü.

D. 24 saat sonunda aynı tabletler yeni vasatlarda takibe alındı. Deneylere antibiyotik ihtiva eden kemik sementi tabletlerinden 5 tanesi önlenim bölgesi vermeyene kadar devam edildi.

Deney II:

A. 24 adet 5.75 mg gentamisin, 230 mg antibiyotikli kemik çimentosu tableti, herbir vasat için 6 tane kullanılarak, 4 ayrı vasatta antibiyotik salınımları:

- (1) içinde 1 ml distile su bulunan 6 vasatta,
- (2) 6 tüpe başta 0,5'er ml erimiş DST (oxid) agar döküldü. Her bir tüpe 1 antibiyotikli sement tableti konduktan sonra, üzerleri 0,5 ml DST agar ilavesi ile kapatıldı.
- (3) içinde 1 ml serum fizyolojik bulunan 6 tüpte,
- (4) içinde 1 ml 10 x SF bulunan 6 tüpte

takip edildi.

B. Tüpler 37°C'da 24 saat inkübe edildikten sonra, 1'er bir tüpten kağıt diskler 10 kağıt disk 70 mikrolitre emecek şekilde emdirildi. Kağıt diskler standart *S. aureus* ekili DST vasatında takibe alındı, önlenim bölgeleri ölçüldü.

C. Tabletler 24 saat sonunda yeni vasata alındı ve vasatta antibiyotik aktivitesi tesbit edilemeye kadar deneylere devam edildi.

D. Deneyler süresince elde edilen önlenim bölgeleri, ölçümleri, standart eğriye bakılarak antibiyotik konsantrasyonları tayin edildi.

BULGULAR

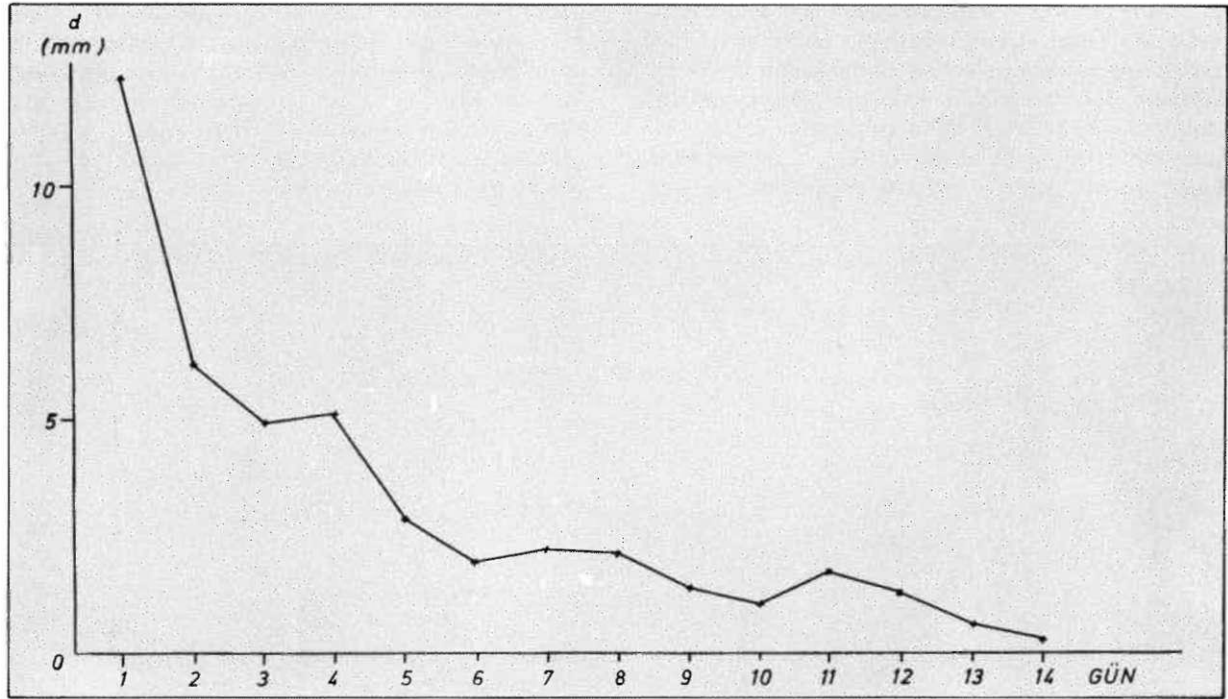
Kontrol grubu olarak hazırlanan antibiyotiksiz kemik sementi tabletlerinin, standart *S. aureus* ekili vasatta önlenim bölgesi vermediği saptandı:

5.75 mgm gentamisin sülfat / 230 mgm CMW kemik sementi şeklinde hazırlanmış olan antibiyotikli kemik sementi tabletlerinin *S. aureus* ekili vasatta antibakteriyel tesir gösterdiği gözlenmektedir.

En büyük önlenim bölgesi ilk 24 saat sonunda ortaya çıkmakta, süratle azalmasına karşın dört gün etkilili seviyede kalmaktadır. Antibiyotik aktivitesi 14 gün takip edilmektedir (Şekil-2).

Gentamisin sülfat ilave edilmiş CMW kemik sementinden değişik ortamlara antibiyotik salınımı incelendiğinde:

- (1) En fazla salınım hipertonic solüsyon içine olmaktadır. Bu değer, ilk 24 saatte 4.24 mikrogram/ml olarak ölçüldü.
- (2) En az miktarda salınım distile su içine olmaktadır.



Şekil-2. 5.75 µg gentamisin ilave edilmiş CMW kemik sementi tabletlerinin (230 µg) standart *S. aureus* ekilmiş DST (oxoid) agarda verdiği önlenim bölgelerinin incelenmesi.

- (3) En uzun süreli antibiyotik salınımı distile su içine olmakta ve 10 gün devam eden antibiyotik aktivitesi saptanmaktadır. Diğer 3 vasatta yedinci günden itibaren antibiyotik aktivitesi tesbit edilememektedir (Şekil-3).

TARTIŞMA

Hazırladığımız, gentamisin sülfat ilave edilmiş, kemik sementi tabletleri, *S. aureus* ekili vasatta belirgin önlenim bölgesi oluşturmaktadır. Bu bulgu bize, gentamisinin CMW kemik sementi içinde polimerizasyon sırasında ortaya çıkan 90 C'a yakın termal reaksiyona rağmen dayanıklılığını devam ettirdiğini ve oluşan kimyasal reaksiyonlarda antibakteriyel aktivitesini kaybetmediğini göstermektedir. Bu bulgu daha önce yapılmış olan bir çok araştırmayı doğrulamaktadır (5, 6, 7, 8, 9).

Antibiyotikli sement tabletlerinin *S. aureus* vasatlarında bakterisidal etkisi ilk 24 saatte en yüksek düzeyde olmakta, takiben süratle azalmaktadır. 14'üncü günden itibaren ise tesbit edilememektedir. Değişik vasatlara antibiyotik salınımı incelendiğinde, en fazla salınım ilk 24 saat sonunda olmaktadır. In vitro deneyimizdeki bu bulgular Picknell ve arkadaşları (5), Holm ve ark. (7) tarafından yapılan çalışmalara uygunluk göstermektedir. Wakling ve Dingledein (1979) elüsyon yöntemi kullanarak, Palacos kemik çimentosundan gentamisin sülfatın 5 yıldan fazla

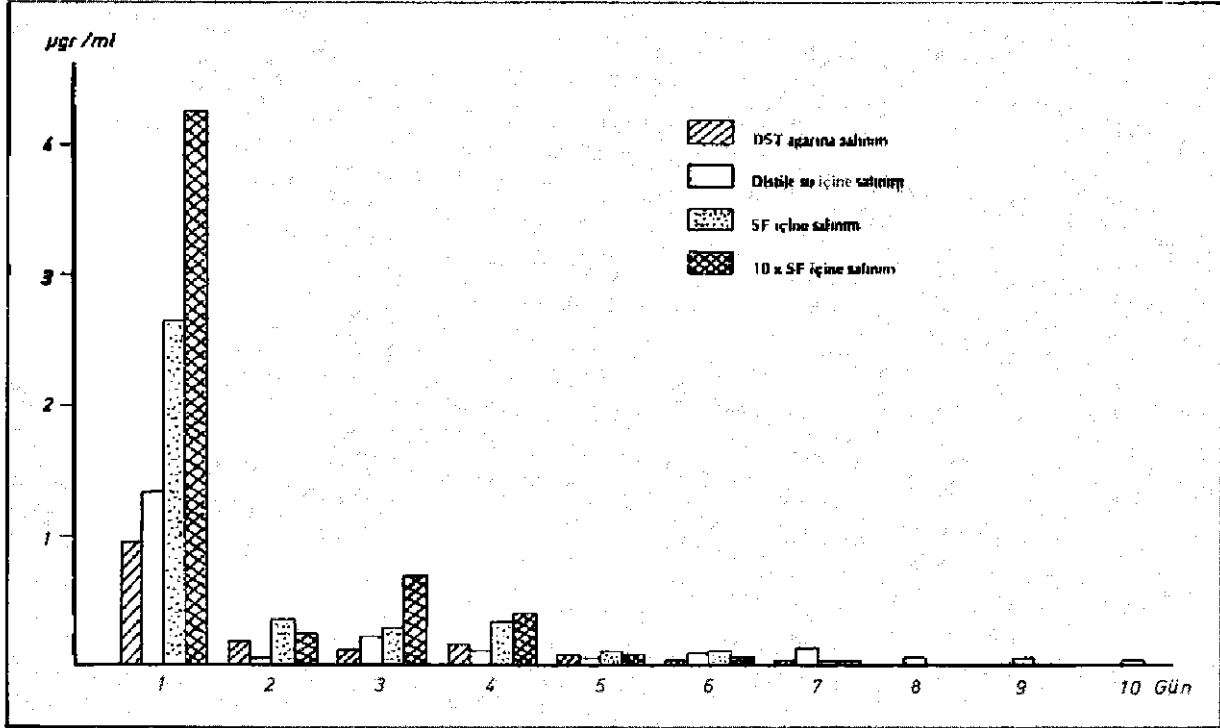
salınım gösterdiğini bildirmişlerdir. Elson ve ark. (1977) aynı yöntemle yaptıkları çalışmada Palacos sementinden 24 günden fazla salınım devam ettiğini tesbit etmişlerdir (10). Levin (1975) elüsyon yöntemiyle Simplex sementinden gentamisin salınımının 10 gün sürdüğünün tesbit edildiğini bildirmiştir (8). Mark ve ark. ise Simplex sementinden gentamisin salınımının 13 gün sürdüğünü rapor etmişlerdir (6). Bayslan ve Milner (1982) seri plak transfer yöntemi ve CMW kemik çimentosu kullanarak gentamisin salınımının 8 gün sürdüğünü belirtmiştir (11).

Görüldüğü gibi yazarların bulguları arasında farklılıklar mevcuttur. Bu değişik bulgular farklı kemik çimentoları kullanılmasından ve farklı antibiyotik test sistemlerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, antibiyotik kemik sementinin yüzeyinden yayılmaktadır. Hazırlanan antibiyotikli kemik çimentosunun temas yüzeyi ve tabletin büyüklüğü deneyleri etkilemekte ve bu konudaki birçok in vitro deneyin farklı sonuçlar vermesine sebep olmaktadır.

Kemik çimentosundan antibiyotiğin salınım mekanizması üzerine iki teori ileri sürülmektedir (11). Tip I'de sement matriksinde antibiyotik partikülleri solit polimer içinde asılıdır ve matriks içindeki kapillere çözülür. Tip II b'de ise ilaç bütün matrikse yayılmıştır ve bütün matriksten diffüze olur. Şayet Tip I teorisi doğru ise antibiyotiğin bir kısmı sement içinde sekestre kalır. Tip II b doğru ise, zamanla bütün antibiyotik salgılanacaktır.

Çalışmamızda 14 günden sonra gentamisin akti-
vitesi hiç tesbit edilememiştir. Bu bulgu bize CMW
kemik sementine ilâve edilen antibiyotiğin büyük bir
kısmının sekestre olarak kaldığını göstermektedir.
Çok uzun sürede kemik ile sement arasına salınım ola-
cağı varsayımı da bu düşük düzeydeki antibiyotiğe
karşı rezistan suşların gelişebileceği olasılığını akla

getirir. Bu nedenle CMW kemik sementi içine antibi-
yotik ilavesi geç enfeksiyondan çok, erken devrede
oluşabilecek enfeksiyonu önlemede etkili profilaksi
yöntemi olabilir. Ancak, oluşabilecek erken ve geç
hipersensibilite reaksiyonu dirençli bakteri suşu te-
şekkülü ve sement mekaniğindeki bozukluk varsayımı
gözden uzak tutulmamalıdır.



Şekil-3. Gentamisin sülfatı CMW kemik sementi tabletlerinden çeşitli ortamlara salınan gentamisin sülfat miktarının günlere göre dağılımı.

KAYNAKLAR

- Chamley JC: Acrylic Cement in Orthopaedic Surgery. E.S. Livingstone, London, 1970.
- Coventry MB: Treatment of Infections Occuring in Total Hip Surgery. Orth. Clin. North Am. 6:4, 991-1003, 1975.
- Erol KS: Enfekle olmuş ve gevşemiş total kalça ertdo-
protezierinde tedavi. VII. Milli Türk Ortopedi ve Trav-
matoloji Kongre Kitabı.
- Buchholz HW, A Siegel: Experiences with gentamycin
in acrylic cement. Excerpta Medice Orthopaedic Sur-
gery, 19, 2674, 1974.
- Picknell B, L Mizen, R Sutherland: Antibacterial activ-
ity of antibiotics in acrylic bone cement. J. Bone Joint
Surgery, 59-B 302-307, 1977.
- Marks KE, CL Nelsen, J Schwartz: Antibiotic-impreg-
nated acrylic bone cement. Surg. Forum 25:(0) 493-
494, 1974.
- Holm NJ, R Vejesgaard: The in vitro elusion of genta-
mycin sulphate from methylmethacrylate bone cement.
Acta Orth. Scand. 47, 144-148, 1976.
- Levin PD: The effectiveness of various antibiotics in
methylmethacrylate. J. Bone Joint Surg. 57-B 2, 1975.
- Spinell R: A study of the interface between bone and
acrylic cement by scanning electron microscopy itilin.
Jour. Orthop.Trav. Vol. 2, No. 1, 105-115, 1976.
- Elson RA, AE Jephcott, DB McGeachie, D Verettas:
Antibiotic-loaded acrylic cement. J. Bone Joint Surg.
(Br.) 59-B 200-5, 1977.