

# Tanısal Amaçla Uygulanan Laparoskopisi Sırasında Oluşan Bakteriyel Translokasyona Probiyotik Bakterilerin Etkilerinin Araştırılması: Deneysel Bir Çalışma

## Investigation of the Effects of Probiotic Bacteria on Bacterial Translocation that Developed During Diagnostic Laparoscopy: An Experimental Study

İdris ŞAHİN<sup>1</sup>, Selda ACAR<sup>2</sup>, İsmet ÖZAYDIN<sup>1</sup>, Çiğdem ÖZAYDIN<sup>3</sup>, Emel ÇALIŞKAN<sup>4</sup>, Mehmet Tevfik YAVUZ<sup>5</sup>, Abdulkadir İSKENDER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Düzce.

<sup>1</sup> Duzce University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Duzce, Turkey.

<sup>2</sup> Denizli Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Denizli.

<sup>2</sup> Denizli State Hospital, Microbiology Laboratory, Denizli, Turkey.

<sup>3</sup> Düzce Atatürk Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Düzce.

<sup>3</sup> Duzce Atatürk State Hospital, Microbiology Laboratory, Duzce, Turkey.

<sup>4</sup> Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara.

<sup>4</sup> Keçioren Training and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Ankara, Turkey.

<sup>5</sup> Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.

<sup>5</sup> Balıkesir University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Balıkesir, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 06.04.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 16.07.2012

### ÖZET

Probiyotikler, besinlerle birlikte veya ayrı olarak alınan, bağırsaklarda mikrobiyal dengeyi sağlayarak konağın sindirim sistemini destekleyen, patojen olmayan canlı mikroorganizmalardır. Yapılan çalışmalar, probiyotiklerin bağırsak mukozası ve immünite üzerine olan etkilerinin, bakteriyel translokasyona karşı koruyucu olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulan peritonitte, laparoskopisi sırasında uygulanan CO<sub>2</sub> miktarına bağlı olarak oluşabilecek bakteriyel translokasyon ve bu duruma probiyotik bakterilerin etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 60 adet Wistar rat kullanılmış ve denekler 10'arlı altı gruba ayrılmıştır. Grup 1, 3 ve 5 probiyotik verilmeyen grupları oluştururken, Grup 2, 4 ve 6'ya 15 gün boyunca 5 x 10<sup>8</sup> kob/ml probiyotik bakteri kompleksi (*Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*,

**İletişim (Correspondence):** Uzm. Dr. Emel Çalışkan, Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, 06380 Keçiören, Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 312 356 9000, **E-posta (E-mail):** emelcaliskan81@yahoo.com.tr

*Streptococcus thermophilus*) hayvanların suyuna karıştırılarak verilmiştir. Tüm gruplardaki farelere, peritonit oluşturmak amacıyla  $2 \times 10^7$  kob/ml *Escherichia coli* (ATCC 25922) intraperitoneal yoldan inoküle edilmiştir. Hemen sonrasında Grup 1 ve 2'ye CO<sub>2</sub> uygulanmadan, Grup 3 ve 4'e 14 mmHg CO<sub>2</sub>, Grup 5 ve 6'ya 20 mmHg CO<sub>2</sub> verilerek laparoskopi uygulanmıştır. 0, 2 ve 6. saatlerde kan örnekleri alınmış ve 6. saatte hayvanlar sakrifiye edildikten sonra mezenter lenf nodu, karaciğer ve dalak örnekleri alınıp mikrobiyolojik açıdan kalitatif ve kantitatif yöntemlerle değerlendirilmiştir. Laparoskopi sırasında deneysel olarak peritonit oluşturulan hayvanlarda bakteriyel translokasyon ve bakteremi gözlenmiş; bütün doku ve kan kültürlerinde üreyen bakteri *E.coli* olarak tanımlanmıştır. En fazla bakteriyel translokasyonun mezenter lenf noduna olduğu (probiyotik verilmeyen Grup 1, 3 ve 5'te sırasıyla 3/10, 6/10 ve 10/10; probiyotik verilen Grup 2, 4 ve 6'da sırasıyla 2/10, 3/10 ve 4/10) görülmüştür. En yüksek bakteriyel translokasyon oranları, yüksek CO<sub>2</sub> basıncı (20 mmHg) uygulanan gruplarda (Grup 5'te 10/10; Grup 6'da 4/10) saptanmış olup, bakteriyel translokasyon oranının laparoskopi sırasında uygulanan CO<sub>2</sub> miktarıyla artış gösterdiği tespit edilmiştir. Probiyotik bakterilerin, dokulardaki bakteriyel translokasyon oranlarını ve bakteremiyi yüksek basınçtaki gruplarda daha etkili şekilde azalttığı saptanmıştır. Bu sonuçların doku gramı başına düşen ortalama bakteri translokasyonu ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiş; örneğin, mezenterik lenf nodunda saptanan bakteri sayısı; probiyotik verilmeyen Grup 1, 3 ve 5'te sırasıyla  $5.4 \pm 2.9 \times 10^3$ ,  $10.6 \pm 3.3 \times 10^3$  ve  $21.5 \pm 12.4 \times 10^3$  kob/g iken, probiyotik verilen Grup 2, 4 ve 6'da sırasıyla  $2.0 \pm 1.3 \times 10^3$ ,  $3.8 \pm 1.9 \times 10^3$  ve  $9.0 \pm 3.1 \times 10^3$  kob/g olarak bulunmuştur. Çalışmamızın verileri, probiyotik bakterilerin, laparoskopi sırasında oluşabilecek bakteriyel translokasyona karşı profilaktik olarak kullanılabilirliğini vurgulamakla birlikte, bu bulguların daha geniş kapsamlı ve klinik düzeydeki ileri çalışmalarla desteklenmesi gerektiği düşünülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** Bakteriyel translokasyon; peritonit; pnömoperiton; probiyotik bakteri.

## ABSTRACT

Probiotics which are non-pathogenic live microorganisms ingested along with food or as dietary supplements, are thought to be beneficial to the host by supporting the microbial balance in digestive system. Various studies suggest that the effects of probiotics on the intestinal mucosa and immunity are protective against bacterial translocation. We aimed to investigate bacterial translocation related to the amount of CO<sub>2</sub> insufflation given during laparoscopy and the effect of probiotic bacteria in an experimental peritonitis model. In this study 60 Wistar rats were used in six groups consisting of 10 rats. Group 1, 3 and 5 consisted of the rats that were fed without probiotics, while the rats in Group 2, 4, and 6 were fed with water containing  $5 \times 10^8$  cfu/ml probiotic bacteria complex (*Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) for 15 days. To generate experimental peritonitis,  $2 \times 10^7$  cfu/ml *Escherichia coli* ATCC 25922 was inoculated intraperitoneally to all of the rats. Thereafter, laparoscopy was applied in all groups. Application in Group 1 and Group 2 was without CO<sub>2</sub>; Group 3 and Group 4 with 14 mmHg CO<sub>2</sub> insufflation, and Group 5 and Group 6 with 20 mmHg CO<sub>2</sub> insufflation. Blood samples were taken in 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, and 6<sup>th</sup> hours. Mesenteric lymph node, liver and spleen samples were taken at 6<sup>th</sup> hour when the rats were sacrificed and then these were evaluated microbiologically with qualitative and quantitative methods. Bacterial translocation and bacteremia were found in the rats that were undergone experimental peritonitis during laparoscopy. All positive tissue and blood cultures yielded *E.coli*. The highest level of bacterial translocation was found to be in mesenteric lymph nodes (in 3/10, 6/10 and 10/10 in groups 1, 3 and 5 fed without probiotics, respectively; in 2/10, 3/10 and 4/10 in groups 2, 4 and 6 fed with probiotics, respectively). The bacterial translocation rates were found to be related to the increased CO<sub>2</sub> insufflation. It was found that probiotic bacteria were more effective for decreasing bacterial translocation rates and bacteremia in the groups that were given high CO<sub>2</sub> pressure during laparoscopy. It was also found that these results were correlated with bacterial translocation per gram of tissue. As an example, the quantitative bacterial growth values detected in mesenteric lymph node were  $5.4 \pm 2.9 \times 10^3$ ,  $10.6 \pm 3.3 \times 10^3$  and  $21.5 \pm 12.4 \times 10^3$  cfu/g in groups 1, 3 and 5, fed without probiotics, respectively; and  $2.0 \pm 1.3 \times 10^3$ ,  $3.8 \pm 1.9 \times 10^3$  and  $9.0 \pm 3.1 \times 10^3$  cfu/g in

groups 2, 4 and 6, fed with probiotics, respectively. Our data emphasized that probiotic bacteria may be used as prophylactic agents for the prevention of bacterial translocation during laparoscopy, however comprehensive and clinical studies are needed to support these experimental results.

**Key words:** *Bacterial translocation; peritonitis; pneumoperitoneum; probiotic bacteria.*

## GİRİŞ

Laparoskopik cerrahi, ilk kez 1987 yılında başarıyla uygulandıktan sonra, çeşitli karın içi girişimler amacıyla günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır<sup>1</sup>. Laparoskopiyile ilişkili en önemli sorunlardan birisi ise, pnömoperiton esnasında kullanılan karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve oluşturulan intraabdominal basınca bağlı yan etkilerdir<sup>2</sup>. Yapılan çalışmalar, laparoskopik ameliyatlarda kullanılan CO<sub>2</sub> gazının hiperkapni, asidoz, miyokardiyal aritmi ve ağrı gibi bilinen yan etkilerine ek olarak, akut apandisit, akut kolesistit ve peptik ülser perforasyonu gibi peritonitli batınlarda bakteremi ve bakteriyel translokasyon oranını artırdığını göstermiştir<sup>2,3</sup>.

Bağırsak mukozasında hasar oluştuğunda gastrointestinal sistem (GIS) içindeki flora bakterilerinin, mezenter lenf nodu (MLN), dalak, karaciğer, böbrek, peritoneal kavite ve kan gibi steril ekstraintestinal ortamlara geçmesi, bakteriyel translokasyon olarak tanımlanır. Bu durum, mortalitesi yaklaşık %70 olan çoklu organ yetmezliğine neden olmaktadır<sup>4</sup>. Translokasyon normal şartlarda gerçekleşmemekte; yanık, açlık, travma, cerrahi, bağırsak veya safra yolu tıkanıklığı gibi durumlarda bağırsak mukozanın bütünlüğü ve bariyer fonksiyonunun bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır<sup>5</sup>. Tam olarak nedeni açıklanamayan ve intestinal kaynaklı patojenlerin oluşturduğu sepsis olgularından bakteriyel translokasyon sorumlu tutulmaktadır<sup>6</sup>. Bu nedenle hem bakteriyel translokasyon mekanizmalarını ortaya koymaya, hem de bu mekanizmaları önlemeye yönelik çeşitli klinik ve deneysel çalışmalar yapılmıştır<sup>5,6</sup>. Bu amaçla, son yıllarda üzerinde sık çalışılan, fizyolojik aktif öğeler olarak tanımlanan ve fonksiyonel besinler arasında yer alan probiyotik mikroorganizmalar gündeme gelmiştir. Probiyotikler, patojen olmayan mikroorganizmalardır ve mikrobiyal dengeyi geliştirip zenginleştirerek floraya katkıda bulunur. Özellikle bağırsak mukozası ve immünite üzerine olan etkilerinin, bakteriyel translokasyona neden olabilecek durumların varlığında koruyucu rol oynayabileceği bilinmektedir<sup>7</sup>. Bu çalışmada, invazif bir girişim olan laparoskopi sırasında uygulanan CO<sub>2</sub> insüflasyonu ile oluşabilecek bakteriyel translokasyonun belirlenmesi ve kullanılan farklı CO<sub>2</sub> basıncının ve probiyotiklerin bakteriyel translokasyona etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, DETAM (Deneysel Tıp Araştırma Merkezi) laboratuvarında, aynı fakültenin genel cerrahi, anesteziyoloji ve reanimasyon anabilim dallarından öğretim üyelerinin katkıları ve Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı ile (28.12.2007 tarih ve 100/39 sayılı karar) gerçekleştirildi.

## Deneklerin Sınıflandırılması

Çalışma; ağırlıkları 250-280 g arasında değişen 60 adet erişkin Wistar rat üzerinde yürütüldü. Kullanılan deneklerin tamamı özel metal kafeslerde, oda ısısında ve sabit çevre koşullarında ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$  ve 12 saatlik karanlık ve aydınlık sikluslar) takip edilerek normal su ve standart besin ile beslendi; hayvanlara yiyecek/içecek kısıtlaması yapılmadı. Çalışma süresince ölen hayvan olmadı. Hayvanlar, her biri 10'ar denek içeren altı eşit gruba ayrıldı. Grup 1: Probiyotik verilmeyen, laparoskopi sırasında  $\text{CO}_2$  basıncı verilmeyen; Grup 2: Probiyotik verilen, laparoskopi sırasında  $\text{CO}_2$  basıncı verilmeyen; Grup 3: Probiyotik verilmeyen, laparoskopi sırasında 14 mmHg  $\text{CO}_2$  basıncı verilen; Grup 4: Probiyotik verilen, laparoskopi sırasında 14 mmHg  $\text{CO}_2$  basıncı verilen; Grup 5: Probiyotik verilmeyen, laparoskopi sırasında 20 mmHg  $\text{CO}_2$  basıncı verilen; Grup 6: Probiyotik verilen, laparoskopi sırasında 20 mmHg  $\text{CO}_2$  basıncı verilen farelerden oluşturuldu.

Grup 2, 4 ve 6'daki farelere; canlı probiyotik bakteri olarak *Bifidobacterium (animalis) lactis* DN 173-010, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* içeren Activia (Danone, Tikveşli Gıda ve İçecek San. Tic. A.Ş, Lüleburgaz) 15 gün boyunca  $5 \times 10^8$  koloni oluşturan birim/gün (kob/gün) olarak, hayvanların sularına karıştırılarak verildi<sup>8,9</sup>.

## Peritonit Oluşturmak Amacıyla *E.coli* Karışımı Hazırlanması

Standart *E.coli* ATCC 25922 suşu, %5 koyun kanlı agarda (GBL, İstanbul)  $37^\circ\text{C}$ 'de 24 saat aerop koşullarda inkübe edildi. Üreyen kolonilerden birkaç adet alınarak 1 ml serum fizyolojik içinde karıştırıldı ve bakteri süspansiyonu 0.5 McFarland standardına göre hazırlandı<sup>10</sup>.

## Laparoskopi Uygulanması

On beş gün boyunca probiyotik bakteri verilen ve verilmeyen gruplara, 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar® EIP, İstanbul) intramusküler enjeksiyonunu takiben eter inhalasyonu ile anestezi uygulandı. Hayvanların karın bölgesi traşlandıktan sonra %10 povidon-iyodin ile cilt temizliği yapıp insizyon bölgesi hazırlandı. Xyphoid ile üretral meatus arasında orta hattan steriliteye dikkat edilerek abdominal kaviteye girildi. Laparoskopi uygulaması amacıyla steril yenidoğan beslenme kateteri (CH/FR:6, Jiangsu Kaishou Medical Apparatus, Çin) kullanıldı<sup>10</sup>.

*E.coli* süspansiyonundan 2 ml ( $2 \times 10^7$  kob/ml), yenidoğan beslenme kateteri aracılığıyla intraperitoneal (IP) yoldan bütün farelere inoküle edildi ve peritona eşit bir şekilde dağılması için nazik bir şekilde abdominal masaj uygulandı. Hemen sonrasında Grup 1 ve 2'nin beslenme kateteri kapatılarak  $\text{CO}_2$  gazı verilmemiş ve karın içi basınç oluşturulmamış oldu. Altmış dakika süreyle IP yoldan beslenme kateteri ile Grup 3 ve 4'e 14 mmHg, Grup 5 ve 6'ya 20 mmHg  $\text{CO}_2$  verildi.  $\text{CO}_2$  insüflatörü (Karl Storz, Almanya) yardımıyla kademeli artışlarla istenilen intraabdominal basınca ulaşıldı. Kullanılan monitörün, aşırı basınç oluştuğunda durgunluk yapma ya da gaz kaçışı olduğunda gaz akışını takviye etme özelliğinden yararlanılarak sabit intraabdominal basınç sağlandı<sup>10</sup>.

## Örneklerin Elde Edilmesi

*E.coli* inokülasyonunu takiben Grup 3 ve 4'e 14 mmHg; Grup 5 ve 6'ya 20 mmHg CO<sub>2</sub> basıncı verildikten sonra bütün gruplardan 0 ve 2. saatte steril bir şekilde kuyruk veninden 1 ml kan örneği alınarak, kan kültürü için otomatize kan kültür şişesine (Bactec, BD, İrlanda) inoküle edildi<sup>11,12</sup>. Doku örneklerinin toplanması amacıyla operasyon steril şartlarda altıncı saatte spine pozisyonundaki farelere orta hat kesisi ile batına girilerek yapıldı ve bütün gruplardan altıncı saatte intrakardiyak kan ponksiyon ile alındıktan sonra hayvanlar sakrifiye edildi. Alınan 1 ml'lik kan kültür örnekleri otomatize kan kültür şişelerine inoküle edildi<sup>11</sup>.

## Mikrobiyolojik Analiz

Alınan doku (MLN, karaciğer ve dalak) örnekleri steril bir şekilde tartılarak, önceden ağırlıkları bilinen steril tüplere konuldu ve 1 ml tiyoglikolatlı buyyon içinde laboratuvara ulaştırıldı. Steril koşullarda kıymalaştırılan ve ezilen dokular vorteksenerek homojenize edildi. Aerop kültürler için örnekler %5 koyun kanlı agar, çukulatamsı agar ve EMB agara (GBL, İstanbul) ekilerek 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Aerop kültürlerde üreme olan petrilerdeki koloniler Gram yöntemiyle boyandı. Besiyerlerinde üreyen bakteri koloni sayıları kaydedildi ve standart mikrobiyolojik yöntemlerin yanı sıra API 32 GN (bioMèrieux, Fransa) ile tanımlandı<sup>12</sup>.

Anaerop kültür amacıyla örnekler kanlı, EMB ve Schaedler besiyerine (Biolab, Macaristan) ekildi. Kanlı agar, Schaedler besiyeri ve EMB besiyerleri anaerop kavanoz içinde 37°C'de 72 saat inkübe edildi; anaerop ortam gaz kitleriyle (Anaero-Gen, Oxoid, İngiltere) sağlandı. Anaerop inkübasyon sonrası üreme tespit edilen besiyerlerindeki kolonilerle aerop besiyerlerindeki kolonilerin morfolojisi karşılaştırılıp, Gram boyalı preparat hazırlanarak incelendi. Aerotolerans kontrolü için kanlı besiyerine pasaj yapılarak, aerop ortamda 24 saat 37°C'de inkübe edildi.

Üreme saptanan dokularda bakteriyel translokasyon indeksi olarak, doku gramı başına düşen mikroorganizma sayısını hesaplamak için şu formül kullanıldı<sup>13</sup>: *Doku başına düşen koloni sayısı (kob/g) = [Koloni sayısı (kob) x Sulandırım değeri x 10] / [Doku ağırlığı]*

Hayvanlardan alınan kan örnekleri ise otomatize kan kültür şişelerine ekildi ve yedi gün izlendi. Bu süre içinde üreme sinyali vermeyen örnekler Gram boyalı preparatları yapıldıktan ve %5 koyun kanlı agar besiyerlerine pasajlanıp üreme olmadığı doğrulandıktan sonra sonuç negatif olarak kabul edildi. Sinyal veren örnekler, %5 koyun kanlı agar ve EMB besiyerine pasajlar yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreme olup olmadığı kontrol edilip, aerop kültürlerde üreme olan besiyerindeki koloniler önce Gram yöntemiyle boyandı, daha sonra standart mikrobiyolojik yöntemler ve API 32 GN (bioMèrieux, Fransa) ile tanımlandı<sup>12</sup>.

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS (versiyon 12.0) paket programıyla yapıldı. Tüm gruplar için çalışılan parametrelerin ortalama  $\pm$  standart sapması hesaplandı. Bakteriyel trans-

lokasyon oranlarını değerlendirmek için Mann-Whitney U testi, tek yönlü ANOVA testi ve Kruskal Wallis testi kullanıldı;  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmamızda, bütün gruplardan alınan doku örneklerinin aerop ekimlerinde, üreme olan bütün örneklerden *E.coli* izole edilmiş; anaerop ekimlerde anaerop bakteri ürememiştir.

Probiyotik verilmeyen gruplarda  $CO_2$  miktarına göre bakteriyel translokasyon oranları değerlendirildiğinde; 20 mmHg  $CO_2$  uygulanan Grup 5'te bakteriyel translokasyonun; hiç basınç uygulanmayan Grup 1'e ve 14 mmHg  $CO_2$  basıncı verilen Grup 3'e göre MLN, karaciğer ve dalakta daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ancak 14 mmHg  $CO_2$  basıncı verilerek laparoskopi uygulanan Grup 3 ile basınç uygulanmayan Grup 1'in MLN, karaciğer ve dalağa bakteri translokasyonunun benzer olduğu görülmüştür (Tablo I). Probiyotik verilen gruplar değerlendirildiğinde ise, uygulanan  $CO_2$  miktarına bakteriyel translokasyon oranlarının benzer olduğu görülmüştür ( $p > 0.05$ ) (Tablo I).

Probiyotik verilmeyen gruplarda  $CO_2$  miktarına göre kan kültür sonuçları değerlendirildiğinde; 0. saatte alınan kan örneklerinde bakteri üremesi olmamış; ikinci saatte en yüksek bakteriyel translokasyon oranı, 20 mmHg  $CO_2$  verilen Grup 5'te görülürken; en düşük bakteriyel translokasyon oranı  $CO_2$  verilmeyen Grup 1'de saptanmıştır (Tablo II). Altıncı saatte, 20 mmHg  $CO_2$  verilen Grup 5'teki hayvanların tamamında bakteriyel translokasyon görülmüş; en düşük bakteriyel translokasyon oranı,  $CO_2$  verilmeyen Grup 1'de saptanmıştır (Tablo II). Probiyotik verilen gruplar değerlendirildiğinde; ikinci saatte; en yüksek bakteriyel translokasyon oranı, 20 mmHg  $CO_2$  verilen Grup 6'da görülürken,  $CO_2$  verilmeyen Grup 2 ve 14 mmHg  $CO_2$  verilen Grup 4'te daha az ve benzer oranda bakteriyel translokasyon saptanmıştır (Tablo II). Altıncı saatte, en yüksek bakteriyel trans-

**Tablo I. Probiyotik Verilmeyen ve Verilen Gruplarda  $CO_2$  Miktarına Göre Bakteriyel Translokasyon Oranları\***

	Bakteriyel Translokasyon Pozitif sayı/Toplam sayı		
	Mezenter lenf nodu	Karaciğer	Dalak
<b>Probiyotik verilmeyen gruplar</b>			
Grup 1 (0 mmHg)	3/10	1/10	2/10
Grup 3 (14 mmHg)	6/10	2/10	2/10
Grup 5 (20 mmHg)	10/10	8/10	8/10
<b>Probiyotik verilen gruplar</b>			
Grup 2 (0 mmHg)	2/10	-	1/10
Grup 4 (14 mmHg)	3/10	1/10	2/10
Grup 6 (20 mmHg)	4/10	3/10	3/10

\* Gruplardaki denek sayısı az (n= 10) olduğundan yüzde verilmemiştir.

**Tablo II.** Probiyotik Verilmeyen ve Verilen Gruplarda Uygulanan CO<sub>2</sub> Miktarına Göre Kan Kültürlerinde Üreme Oranları\*

	Kan Kültürlerinde Üreme		
	0. saat	2. saat	6. saat
<b>Probiyotik verilmeyen gruplar</b>			
Grup 1 (0 mmHg)	-	3/10	4/10
Grup 3 (14 mmHg)	-	4/10	8/10
Grup 5 (20 mmHg)	-	8/10	10/10
<b>Probiyotik verilen gruplar</b>			
Grup 2 (0 mmHg)	-	2/10	3/10
Grup 4 (14 mmHg)	-	2/10	2/10
Grup 6 (20 mmHg)	-	3/10	6/10

\* Gruplardaki denek sayısı az (n= 10) olduğundan yüzde verilmemiştir.

**Tablo III.** Doku Örneklerindeki Doku Gramı Başına Düşen Ortalama Bakteri Sayısı (Bakteriyel Translokasyon İndeksi) (kob/g)

Gruplar	Mezenter lenf nodu	Karaciğer	Dalak
Grup 1 (0 mmHg) (probiyotiksiz)	5.4 ± 2.9 × 10 <sup>3</sup>	0.2 × 10 <sup>3</sup>	0.6 ± 0.4 × 10 <sup>3</sup>
Grup 2 (0 mmHg) (probiyotikli)	2.0 ± 1.3 × 10 <sup>3</sup>	-	0.3 × 10 <sup>3</sup>
Grup 3 (14 mmHg) (probiyotiksiz)	10.6 ± 3.3 × 10 <sup>3</sup>	1.8 ± 1.1 × 10 <sup>3</sup>	2.0 ± 1.3 × 10 <sup>3</sup>
Grup 4 (14 mmHg) (probiyotikli)	3.8 ± 1.9 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.2 ± 0.8 × 10 <sup>3</sup>
Grup 5 (20 mmHg) (probiyotiksiz)	21.5 ± 12.4 × 10 <sup>3</sup>	9.0 ± 5.6 × 10 <sup>3</sup>	10.2 ± 5.5 × 10 <sup>3</sup>
Grup 6 (20 mmHg) (probiyotikli)	9.0 ± 3.1 × 10 <sup>3</sup>	1.3 ± 0.7 × 10 <sup>3</sup>	1.9 ± 1.1 × 10 <sup>3</sup>

lokasyon oranı, 20 mmHg CO<sub>2</sub> verilen Grup 6'da görülürken, en az bakteriyel translokasyon 14 mmHg CO<sub>2</sub> verilen Grup 4'te izlenmiştir (Tablo II).

Tüm gruplardaki farelerde doku gramı başına düşen bakteri sayılarına göre; en yüksek bakteriyel translokasyon oranı MLN'de (p< 0.01) bulunurken, karaciğer ve dalakta saptanan oranlar benzerlik göstermiştir (p> 0.05).

Probiyotik alan Grup 2, 4 ve 6'da doku gramı başına düşen bakteri sayılarına göre bakteriyel translokasyonun probiyotik almayan Grup 1, 3 ve 5'e oranla azalmış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, CO<sub>2</sub> basıncı arttıkça dokulardaki gram başına düşen bakteri sayılarının da arttığı görülmüştür. Doku örneklerindeki doku gramı başına düşen ortalama bakteri sayısı (bakteriyel translokasyon indeksi) Tablo III'te verilmiştir.

## TARTIŞMA

Bakteriyel translokasyon, sağlıklı bireylerde de meydana gelebilen bir olay olmakla birlikte, transloke olan bakteri sayısı azdır ve bunlar lenf dğümlerinde etkisiz hale getirilmektedir. Ancak özellikle intraabdominal hipertansiyonu olan hastalarda, bağırsak per-

füzyonunun azalması nedeniyle MLN'ye yüksek oranda bakteriyel translokasyon olduğu, bunun da enfeksiyon ve sepsis gelişiminde önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir<sup>14-16</sup>. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, intestinal rezeksiyondan sonra en yüksek bakteriyel translokasyon oranının MLN, dalak ve karaciğere olduğu gösterilmiştir<sup>17-19</sup>. Ülkemizde Demirkan ve arkadaşları<sup>20</sup> mekanik intestinal obstrüksiyonda antiinflamatuvar bir ajan olarak indometazinin intestinal permeabilite, bakteriyel translokasyon ve histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerinin ortaya konulması için yaptıkları deneysel çalışmada; ileus oluşturulan grupta MLN'ye bakteriyel translokasyon oranını %43.3 olarak bulmuşlar ve kan kültürlerinde %70 oranında üreme saptamışlardır. Çalışmamızda probiyotik verilmeyen gruplarda uygulanan CO<sub>2</sub> oranlarına göre; Grup 1, 3 ve 5'te MLN, karaciğer ve dalağa bakteriyel translokasyon olduğu saptanmıştır. Probiyotik verilen gruplarda uygulanan CO<sub>2</sub> oranlarına göre; Grup 2'de karaciğere bakteriyel translokasyon olmadığı, diğer bütün gruplarda MLN, karaciğer ve dalağa bakteriyel translokasyon olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, literatüre uygun şekilde, probiyotik verilen ve verilmeyen gruplarda en fazla bakteri translokasyonunun MLN'ye olduğu, bunu dalak ve karaciğerin izlediği belirlenmiştir (Tablo I). Buna göre, laparoskopi sırasında oluşan hasarın, intestinal mukoza bütünlüğünü bozarak mukozal bariyerin kırılmasına ve artan intraabdominal basıncın bağırsak perfüzyonunu azaltarak MLN'ye yüksek oranda bakteri translokasyonuna neden olduğu düşünülmüştür.

Gaz insüflasyonu ile intraabdominal basıncı artırarak oluşturulan pnömoperiton, periton içindeki mezotelyal hücre plaklarındaki inflamatuvar olayları şiddetlendirerek pozitif kültür oranını artırmaktadır. Intraabdominal basıncın yüksekliği ile hızlı tübülansa neden olan gaz insüflasyonu, kandaki bakteri sayısını artırmasıyla kısmen açıklanabilmektedir. Laparoskopik cerrahinin başarıyla uygulanabilmesi için normalde karın içi basıncının 14-15 mmHg'ya kadar yükseltilerek karın içinin görünür şekle getirilmesi gerekmektedir. Ucuz, kolay elde edilebilir olması ve kolay absorbe edilmesi nedeniyle pnömoperiton oluşturmak amacıyla rutin olarak CO<sub>2</sub> kullanılmaktadır. Kayaoğlu<sup>21</sup>, *E.coli* peritoniti oluşturduğu, helyum ve CO<sub>2</sub> gazı kullanarak yaptığı deneysel laparoskopik cerrahi çalışmasında; gazların bakteremi ve bakteriyel translokasyona etkilerini araştırmış; doku kültürlerinde sadece kontrol ve 14 mmHg CO<sub>2</sub> verilen grupta %100, laparotomi uygulanan grupta %60, helyum verilen grupta %77.5 oranında üreme tespit etmiştir. Horattas ve arkadaşları<sup>10</sup> ise *E.coli* ile peritonit oluşturulan hayvan modellerinde değişik gaz ve basınçların bakteriyel translokasyon üzerine etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında; diğer çalışmalardan farklı olarak laparoskopi sırasında düşük basınçta (3 mmHg) uygulanan helyum ve CO<sub>2</sub>'in, yüksek basınca (14 mmHg) göre bakteriyel translokasyon oranını artırdığını saptamışlardır.

Çalışmamızda; probiyotik verilen ve verilmeyen gruplarda CO<sub>2</sub> miktarının artırılmasıyla ilişkili olarak bakteriyel translokasyon oranları da artış göstermektedir. En yüksek bakteriyel translokasyon oranları yüksek CO<sub>2</sub> basıncı (20 mmHg) uygulanan gruplarda saptanmıştır. Özellikle probiyotik verilmeyen gruplarda laparoskopi sırasında yüksek CO<sub>2</sub> uygulanan Grup beşte dokulara bakteriyel translokasyon oranının, diğer gruplara göre yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo I). Ayrıca bakteremi; probiyotik verilen ve verilmeyen gruplarda, laparoskopi işlemini takiben 2 ve 6. saatlerde basınçla artış göstermekte olup,



en yüksek oranda, yüksek CO<sub>2</sub> basıncı (20 mmHg) uygulanan grupta tespit edilmiştir. Özellikle probiyotik verilmeyen Grup 5'te ikinci saatte diğer gruplara göre anlamlı bir artış saptanmış; altıncı saatte ise Grup 5 (20 mmHg CO<sub>2</sub>) ve Grup 3'te (14 mmHg CO<sub>2</sub>) hiç basınç uygulanmayan Grup 1'e göre, bakteriyel translokasyon oranında anlamlı bir artış izlenmiştir. Probiyotik verilen gruplarda altıncı saatte; Grup 6'da (20 mmHg CO<sub>2</sub>), Grup 4'e (14 mmHg CO<sub>2</sub>) göre bakteremi oranında anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo II). Bu bulgulara dayanarak, laparoskopi sırasında uygulanan CO<sub>2</sub> miktarının bakteriyel translokasyon ve bakteremiyi etkileyebilen önemli bir faktör olduğu düşünülmüştür. Probiyotik verilen gruplarda da; CO<sub>2</sub> artışı ile altıncı saatte Grup 6'da, Grup 4'e göre bakteriyel translokasyon oranında anlamlı, diğer gruplarda göreceli bir artış olması bu sonucu desteklemektedir. Çalışmamızdaki bulguları açıklayıcı nitelikte olan bazı çalışmalarda; CO<sub>2</sub>'in intraperitoneal hücrel immünitede süpresif etkileri olduğu, ayrıca artmış intra-abdominal basınçta stomataların açıldığı ve mezotelyal hücre tabakasına karşı oluşan basınç gradientiyle bozulmalar görüldüğü bildirilmiştir<sup>22,23</sup>.

Peritonun bakterilerle kontaminasyonunu takiben iki önemli mekanizmayla bakteriler ortamdaki uzaklaştırılır. Bunlardan biri diyafragmatik lenfatikler, diğeri ise immün yanıt (hücrel ve hümorale) mekanizmalarıdır<sup>24</sup>. Probiyotik bakterilerin özellikle bağırsak mukozası ve immünite üzerine olan etkileri, bakteriyel translokasyona neden olabilecek durumların varlığında koruyucu olabileceğini göstermektedir<sup>15</sup>. GIS normal florasında bulunmalarının yanı sıra fermente edilmiş yiyeceklerle de alınan probiyotikler, uzun yıllardır çeşitli alanlarda ve klinik amaçlarla kullanılmaktadır<sup>25</sup>. Minnen ve arkadaşlarının<sup>26</sup> akut pankreatitli fare modellerinde probiyotiklerin bakteriyel translokasyona etkisini araştırdıkları çalışmalarında; MLN, dalak, karaciğer ve pankreas doku örneklerinin kantitatif kültürlerinde, probiyotik alan grupta bakteriyel translokasyonun anlamlı düzeyde azaldığı saptanmış ve bu sonuçlar kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile de doğrulanmıştır. Çalışmamızda doku kültürlerinin doku gramı başına düşen bakteri sayılarına göre mikrobiyolojik analizinde, literatüre uygun olarak bakteriyel translokasyonun, CO<sub>2</sub> basıncı ile arttığı ve en yüksek bakteriyel translokasyonun MLN'ye olduğu belirlenmiştir. Probiyotik alan gruplardaki doku gramı başına düşen bakteri sayısına göre bakteriyel translokasyon, probiyotik almayan gruplara oranla çok daha düşük saptanmıştır (Tablo III). Bu sonuçlara dayanarak laparoskopi öncesi alınan profilaktik probiyotik bakterilerin, bakteriyel translokasyonu önlemede yararlı olabileceği düşünülmüştür.

Probiyotik bakterilerin çeşitli patolojik durumlarda bakteriyel translokasyonu azaltma etkisini araştıran çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Saraç'ın<sup>15</sup> yaptığı deneysel çalışmada; safra kanalı bağlanması takiben farelere *L.acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* ve *L.bulgaricus* kompleksi verilmiş; kana ve lenf nodlarına bakteri geçiş oranı kontrol grubunda sırasıyla %100 ve %70 iken, probiyotik verilen grupta sırasıyla %20 ve %30 olarak belirlenmiştir. Rayes ve arkadaşlarının<sup>27</sup> karaciğer tansplantasyonu yapılmış hastalarda yaptıkları klinik çalışmada; *Lactobacillus plantarum* 299 kullanımı ile hastalarda enfeksiyon oranlarının, antibiyotik kullanımının ve hastanede kalış süresinin azaldığı gösterilmiştir. Yenidoğan hayvan modellerinde yapılan çalışmalar da, probiyotik uygulamasının gerek patojen bakterilerin intestinal kolonizasyonunu gerekse kan ve doku-

lara bakteri translokasyonunu azalttığını rapor etmektedir<sup>28,29</sup>. Bu bulguların aksine Anderson ve arkadaşları<sup>30</sup> elektif cerrahi uygulanan hastalarda operasyondan önce ve sonra verdikleri probiyotik bakterilerin, bakteriyel translokasyon prevalansını azaltmadığını bildirmişler; bu durumu insanlarda hayvanlardan farklı olarak alternatif mekanizmaların (immünmodülasyon) etkili olmasıyla açıklamışlardır. Çalışmamızda probiyotik bakterilerin; laparoskopi sırasında özellikle yüksek basınçta CO<sub>2</sub> (20 mmHg) verilen gruptaki dokulara ve 2-6. saatte kana, 14 mmHg CO<sub>2</sub> verilen grupta altıncı saatte kana bakteriyel translokasyonu anlamlı düzeyde, diğer gruplarda ise göreceli olarak azalttığı belirlenmiştir. Probiyotik bakterilerin yüksek basınçlarda, dokulara bakteriyel translokasyon ve bakteremiye önlemede daha etkili olduğu saptanmıştır. Bu bulgulara dayanarak; probiyotik bakterilerin bağırsak mukoza hasarını önleyerek mukozal hasar derecesinin oldukça düşük olmasına neden olabileceği, immünmodülatör etkileri ve patojen mikroorganizmaya karşı öldürücü ve patojenitesini yok edici etkileriyle bakteriyel translokasyonu azaltmada olumlu rollerinin olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızda; laparoskopi sırasında deneysel peritonit oluşturulan farelerde en fazla bakteriyel translokasyon MLN'ye olduğu, bu oranın laparoskopi sırasında uygulanan CO<sub>2</sub> miktarıyla arttığı, doku gramı başına düşen ortalama bakteri sayılarına göre bu sonuçların korelasyon gösterdiği, baktereminin zamanla anlamlı bir artış göstermediği ve çalışmamızda kullanılan probiyotik bakterilerin ise bakteriyel translokasyon oranlarını azaltmada yüksek basınçtaki gruplarda daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, laparoskopi sırasında oluşabilecek bakteri translokasyonunu önlemek için profilaktik olarak probiyotik uygulamasının faydalı olabileceği, ancak bu bulguların geniş kapsamlı ileri klinik çalışmalarla desteklenmesi gerektiği düşünülmüştür.

## KAYNAKLAR

1. Stellato TA. History of laparoscopic surgery. Surg Clin North Am 1992; 72(5): 997-1002.
2. Ipek T, Paksoy M, Colak T, Polat E, Uygun N. Effect of carbon dioxide pneumoperitoneum on bacteremia and severity of peritonitis in an experimental model. Surg Endosc 1998; 12(5): 432-5.
3. Volz J, Köster S, Spacek Z, Paweletz N. Characteristic alterations of the peritoneum after carbon dioxide pneumoperitoneum. Surg Endosc 1999;13(6): 611-4.
4. Aldemir M, Geyik MF, Kökoğlu OF, Büyükbayram H, Hosoğlu S, Yağmur Y. Effects of ursodeoxycholic acid, glutamine and polyclonal immunoglobulins on bacterial translocation in common bile duct ligated rats. ANZ J Surg 2003; 73(9): 722-6.
5. Albillos A, de la Hera A. Multifactorial gut barrier failure in cirrhosis and bacterial translocation: working out the role of probiotics and antioxidants. J Hepatol 2002; 37(4): 523-6.
6. Ferri M, Gabriel S, Gavelli A, Franconeri P, Huguet C. Bacterial translocation during portal clamping for liver resection. A clinical study. Arch Surg 1997; 132(2): 162-5.
7. Reid G. Safety of lactobacillus strains as probiotic agents. Clin Infect Dis 2002; 35(3): 349-50.
8. Mogilner JG, Srugo I, Lurie M, et al. Effect of probiotics on intestinal regrowth and bacterial translocation after massive small bowel resection in a rat. J Pediatr Surg 2007; 42(8): 1365-71.
9. Mangell P, Lennernas P, Wang M, et al. Adhesive capability of *Lactobacillus plantarum* 299v is important for preventing bacterial translocation in endotoxemic rats. APMIS 2006; 114(9): 611-8.
10. Horattas MC, Haller N, Ricchiutti D. Increased transperitoneal bacterial translocation in laparoscopic surgery. Surg Endosc 2003; 17(9): 1464-7.

11. Evasovich MR, Clark TC, Horattas MC, Holda S, Tren L. Does pneumoperitoneum during laparoscopy increase bacterial translocation? *Surg Endosc* 1996; 10(12): 1176-9.
12. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 2002. Barış Yayınları, İzmir.
13. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (eds). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 2002, 11<sup>th</sup> ed. Mosby, St. Louis.
14. Akyüz M. Mekanik barsak tıkanıklığında probiyotik bakterilerin bakteriyel translokasyon ve anastomoz iyileşmesi üzerine etkileri. Uzmanlık Tezi, 2004. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul.
15. Saraç F. Probiyotiklerin ana safra kanalı tıkanıklığında oluşan bakteriyel translokasyon, barsak mukoza değişiklikleri ve serbest oksijen radikalleri oluşumu üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, 2003. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul.
16. Tong S. Intraabdominal hipertansiyon ve erken dönem dekompresyonun intestinal doku iyileşmesi ve bakteriyel translokasyona etkisi. Doktora Tezi, 2007. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Cerrahi (Vet) Anabilim Dalı, Konya.
17. Eizaguirre I, Aldazabal P, Barrena MJ, et al. Effect of growth hormone, epidermal growth factor, and insulin on bacterial translocation in experimental short bowel syndrome. *J Pediatr Surg* 2000; 35(5): 692-5.
18. Schimpl G, Feiler G, Linni K, Uitz C, Ozbey H, Höllwarth ME. Bacterial translocation in short-bowel syndrome in rats. *Eur J Pediatr Surg* 1999; 9(4): 224-7.
19. O'Brien DP, Nelson LA, Kemp CJ, et al. Intestinal permeability and bacterial translocation are uncoupled after small bowel resection. *J Pediatr Surg* 2002; 37(3): 390-4.
20. Demirkan A, Aksoy M, Kuzu MA, Törüner A. Deneysel ileusta indometasin kullanımının intestinal permeabilite ve bakteriyel translokasyon üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2006; 59(3): 119-27.
21. Kayaoğlu H. Laparoskopik cerrahide kullanılan helyum ve karbondioksit gazının peritonitte bakteriyemi ve bakteriyel translokasyona etkileri. Uzmanlık Tezi, 2000. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul.
22. Barbaros U, Ozarmagan S, Erbil Y, et al. Effects of pneumoperitoneum created through CO<sub>2</sub> insufflation and parameters of mechanical ventilation (PEEP application) on systemic dissemination of intraabdominal infections. *Surg Endosc* 2004; 18(3): 501-7.
23. Ozmen MM, Cöl C, Aksoy AM, Tekeli FA, Berberoglu M. Effect of CO(2) insufflation on bacteremia and bacterial translocation in an animal model of peritonitis. *Surg Endosc* 1999; 13(8): 801-3.
24. Leak LV. Interaction of mesothelium to intraperitoneal stimulation. I. Aggregation of peritoneal cells. *Lab Invest* 1983; 48(4): 479-91.
25. Kavas ST. Probiyotik mikroorganizmaların gastrointestinal sistem uyumluluğu ve enterik patojenlere etkisi. Uzmanlık Tezi, 2007. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
26. van Minnen LP, Timmerman HM, Lutgendorff F, et al. Modification of intestinal flora with multispecies probiotics reduces bacterial translocation and improves clinical course in a rat model of acute pancreatitis. *Surgery* 2007; 141(4): 470-80.
27. Rayes N, Seehofer D, Hansen S, et al. Early enteral supply of lactobacillus and fiber versus selective bowel decontamination: a controlled trial in liver transplant recipients. *Transplantation* 2002; 74(1): 123-7.
28. Lee DJ, Drongowski RA, Coran AG, Harmon CM. Evaluation of probiotic treatment in a neonatal animal model. *Pediatr Surg Int* 2000; 16(4): 237-42.
29. McVay MR, Boneti C, Habib CM, et al. Formula fortified with live probiotic culture reduces pulmonary and gastrointestinal bacterial colonization and translocation in a newborn animal model. *J Pediatr Surg* 2008; 43(1): 25-9.
30. Anderson AD, McNaught CE, Jain PK, MacFie J. Randomised clinical trial of synbiotic therapy in elective surgical patients. *Gut* 2004; 53(2): 241-5.