

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

ÜNİVERSİTE VE ÜZERİ SEVİYESİ SEVİYESİ FİKİR

KATEGORİSİ

TAKIM ADI

Rize Tıbbiyelileri

PROJE ADI

KALP PİLİ UYGULAMASINDA OLUŞAN İNFEKTİF
ENDOKARDİT (İE) KAYNAKLI İNFEKSİYONLARIN GÜMÜŞ

(Ag) İYONLARI İLE ÖNLENMESİ

BAŞVURU ID

329423

İçindekiler

1. Proje Özeti (Proje Tanımı) (5 puan)

Projemiz ile kalp ritim bozuklukları nedeni ile milyonlarca hastalara takılan kalp pillerinin hastaların yaklaşık %5 ila %10'unda kalp pillerine bağlı enfeksiyon geliştiği bilinmektedir. Geliştirmeye çalıştığımız yeni ve orjinal nanoteknolojik yöntemler ile kalp pillerinin kaplayarak enfeksiyonuna azaltması hedeflenmiştir. Böylelikle kalp pili takılan hastalardaki komplikasyon oranlarını azaltmayı amaçladık. Bu amaçla projemizde yaptığımız ön çalışma ile; kalp pili uygulamalarında meydana gelen enfeksiyonların Ag(Gümüş) iyonlarıyla önlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda kaplanmamış ve soğuk altlık yöntemiyle Ag kaplanmış 2 cm boyutunda ve 2,44 mm çapında lead implantlar on iki tane sıçanın deri altı dokusuna yerleştirildi ve enfeksiyon süreçleri bir ay süre ile takip edildi. İn vivo deneylerinden kaplanmamış leade kıyasla Ag kaplı lead implant uygulamalarında sonucunda; Ag grubuna ait kesitlerde tipik kollajen fibrillerden oluşan bağ dokusu, çizgili kaslar ve yaygın adipositler gözlemlendi, Ag grubuna ait kesitlerde tipik yapıdaki bağ dokusunda yaygın kollajen fibriller gözlenmektedir. Bunun yanında, tipik yapıdaki çizgili kaslar ve yer yer adipositler gözlemlendi, Ag grubuna ait kesitlerde bağ dokusunun tipik yapıda olduğu izlendi, Işık mikroskop görüntülerinden kaplanmamış örneğe kıyasla Ag grubuna ait kesitlerde bağ dokusunun normal yapıda olduğu gözlemlenmektedir. Ayrıca herhangi bir lökosit ve mast hücresi enflamasyonu izlenmedi. Ön çalışmamızda elde ettiğimiz ön sonuçlar ile projemizin kalp pillerine bağlı olarak kalbin endokardiyal yüzeyinde ortaya çıkan infektif endokardit enfeksiyonunun önlenmesinde gümüşün antibakteriyel özelliği kullanılarak önlenmesi sağlanmıştır. Bilindiği üzere homojen bir yüzeyde bakteri kolonisinin artışı zor bir durumdur. Ayrıca gümüş iyonlarının nano boyutta olduğu durumlarda antibakteriyel etki çok etkili bir durumda olmaktadır. Bu çalışmada kullanılan soğuk altlık yöntemi ile uygulanan lead implantlar yüzeyi homojen bir duruma getirilerek nano Ag parçacıkları ile kaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar uygulanan yöntemle elde edilen lead implantlarda etkili bir antibakteriyel sürecin gerçekleştiğini göstermiştir. Projemiz ile kalp pili uygulamalarında meydana gelen enfeksiyonların antibakteriyel iyonlarla engellenmesi / Sağlık / Sağlık sektöründe kullanılması için önerilmiştir.

2. Problem/Sorun (5 puan)

Vücuda kalıcı olarak yerleştirilen tüm yabancı cisimler gibi kardiyak pacemaker'lar (kalp pili) ve implante edilebilen kardiyovertör defibrillatörlerde (ICD) enfeksiyon riski taşımaktadır. Kardiyak pacemaker ve ICD'ler kalpte ciddi ritim problemi olan hastaların tedavisinde devrim yaratmış, buna paralel olarak her iki grup cihazın da klinik kullanım endikasyonları giderek genişlemiştir (1). Nisan 1999 itibarıyla tüm dünyada yaklaşık 180.000 ICD ve 3.25 milyon kalıcı pacemaker'ın kullanımda olduğu bilinmektedir (2). Yıllar içinde cerrahi teknikteki ilerlemeler ve transvenöz cihazların geliştirilmesiyle birlikte bu cihazlarla ilişkili enfeksiyöz komplikasyonlarda azalma gözlenmiştir. Ancak kullanılan cihaz sayısındaki artış nedeniyle pacemaker ve ICD enfeksiyonları klinik pratikte daha sık karşılaşılan sorunlar haline gelmiştir (1,3). Vücuda kalıcı olarak yerleştirilen tüm yabancı cisimler gibi kardiyak pacemaker'lar ve implante edilebilen kardiyovertör defibrillatörler (ICD=implantable cardioverter- defibrillator) de enfeksiyon riski taşımaktadır. Kardiyak pacemaker ve ICD'ler kalpte ciddi ritim problemi olan hastaların tedavisinde devrim yaratmış, buna paralel olarak her iki grup cihazın da klinik kullanım endikasyonları giderek genişlemiştir (4).

Milyonlarca kalp pili takılmış hastalarda enfeksiyon önemli bir sorundur. Bununla beraber bu sağlık sorununun mevcut antibiyotik tedavisi ve enfekte pilin (bataraya ve led sistemi ile beraber) çıkarılıp yeni pil takılması hastalığın prognozunu tamamen iyileştirmemekte, komplikasyonu artırmakta ve maliyeti yükseltmektedir.

3. Çözüm (20 puan)

Çalışmada kalbin endokardiyal yüzeyinde ortaya çıkan infektif endokardit infeksiyonunun önlenmesinde gümüşün antibakteriyel özelliği kullanılarak önlenmesi sağlanmıştır. Günümüzde literatür bilgisinde homojen bir yüzeyde bakteri kolonisinin artışı zor bir durumdur. Ayrıca gümüş iyonlarının nano boyutta olduğu durumlarda antibakteriyel etki çok etkili bir durumda olmaktadır (5-7). Bu çalışmada kullanılan soğuk altlık yöntemi ile uygulanan lead implantlar yüzeyi homojen bir duruma getirilerek nano Ag parçacıkları ile kaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar uygulanan yöntemle elde edilen lead implantlarda etkili bir antibakteriyel sürecin gerçekleştiğini göstermiştir. Antibakteriyel özellikleri olan Gümüş nanoparçacıklar ile pilin kaplanması sonucunda daha az kalp pil enfeksiyonu saptadık. Gümüş nanopartiküller içeren tüm polimer ve kompozit malzemeler hidrofilik özellikler göstermiş. Kompozitlerin, materyaldeki en düşük gümüş nanopartikül konsantrasyonu ile antimikrobiyal etkinliği sağlayabilen bir konsantrasyon seviyesinde gümüş iyon salınımı yaptığı görülmüştür. Bu çalışmada kalp pili ve lead örnekler soğutularak Ag iyonları ile kaplanacaktır. Projemizdeki soğuk altlık yöntemi olarak adlandırılan bu yöntemde kaplamalar eşit boyutlu nano parçacıklardan oluşmaktadır. Bu yöntem sayesinde kaplama esnasında kalp pilinin enfeksiyonu en aza indirilerek kalp pil ve leadın yapısal tahribata uğramasını engellemektedir.

Toplumsal katkı olarak kalp pili enfeksiyonu ve infektif endokardit (İE) olgularının yol açtığı morbiditeler ve yüksek mortalite hızı nedeniyle halen önemini koruyan bir enfeksiyon hastalığı olduğu anlaşılmaktadır. Ülkemizde endokardit tanısı konulmuş hastalarda, bu enfeksiyona neden olan mikroorganizmaların belirlenme oranı %60 dolaylarındadır. Kardiyak pacemaker enfeksiyonu insidansı %0.13-%19.9, bu enfeksiyonlarla ilişkili mortalite ise %27-65 olarak bildirilmektedir (4-6). Kardiyak pacemaker enfeksiyonlarının yaklaşık %25'i akut gelişen bir tablo olarak karşımıza çıkar (cihazın takılmasını takiben ilk 1-2 ay içinde), ancak tanıda 8-12 aya varan gecikmelerle karşılaşılabilir (7). Pacemaker enfeksiyonlarının implantasyon sonrasında daha nadir olduğu (%1.4, %95 CI, 0.9-1.9), elektif değiştirme sonrasında daha sık geliştiği bildirilmiştir (%6.5, %95 CI, 3.3.-9.7) (8). İkinci işlem sonrasında daha akut ve daha yüksek oranda enfeksiyon görülmesinin pil cebi etrafında dolaşımı bozan fibröz doku gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (9). Pacemaker enfeksiyonu giriş yeri ve pil cebi ile sınırlı olabilir veya endokard dokusuna kadar uzanarak endokarditle sonuçlanabilir (7). Pacemaker enfeksiyonlarının %81-92'sinde pil cebinden alınan kültürlerin sonucu pozitifdir ve endokardit gelişimi olguların yaklaşık %10'un- da görülür (2,10).

Yapılan çalışmalarda İE kaynaklı enfeksiyonların önlenmesinde ağırlıklı olarak Ag iyonlarının kullanımı ön plana çıkmaktadır. Bununla birlikte antibakteriyel özelliğin daha etkili olabilmesi için implantın homojen yüzeyli, kaplanmış Ag nano kümelerin ise 10 nm boyutundan fazla olmaması istenmektedir. Günümüzde polimer tabanlı implantların Ag ile kaplanmasında ağırlıklı olarak kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Böyle ısısal teknolojik uygulamalarda polimer yüzeyi olumsuz yönde etkilenmekte ve karakteristik özelliklerde kaymalar meydana gelmektedir. Ayrıca ısısal kaplama yöntemlerinde üretilen kaplamalar farklı boyutlarda adacıklardan oluşmaktadır. Bu çalışmada kalp pili ve lead örnekler soğutularak Ag iyonları ile kaplanacaktır. Soğuk altlık yöntemi olarak adlandırılan bu yöntemde kaplamalar eşit boyutlu nano parçacıklardan oluşmaktadır. Bununla birlikte bu yöntemin diğer bir avantajı kaplama esnasında kalp pilinin ve leadın yapısal tahribata uğratılmamasıdır. Bizim yönetimimiz sayesinde kalp pillerinin ve leadlerinin kaplama teknolojisi sayesinde daha başarılı bir tedavi sunacaktır.

Kalp ritim bozuklukları nedeni ile milyonlarca hastalara takılan kalp pillerinin bağlı enfeksiyon geliştiği bilinmektedir. Geliştirmeye çalıştığımız yeni ve orjinal nanoteknolojik

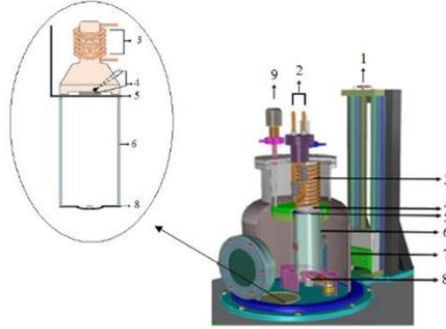
yöntemler ile kalp pillerinin kaplayarak enfeksiyonuna azaltması hedeflenmiştir. Böylelikle kalp pili takılan hastalardaki komplikasyon oranlarını azaltmayı amaçladık. Bunun yanında bu yeni kaplama yöntemi sayesinde piyasadaki mevcutlarına kıyasla önemli teknolojik avantajlar içermektedir.

Çalışmamızda deneysel incelemeler in vitro ve in vivo olmak üzere iki aşamada gerçekleştirildi. Kullanılan kalp pili (Medtronic Kappa KSR901) ve çapı 2,44 mm olan lead (AV Plus DX 1368) örnekler Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Anabilim Dalından temin edildi. İn vivo çalışmalarında kullanılan canlı hayvanlar (sıçanlar) Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Deney Hayvanları Ünitesinden temin edildi. İn vivo çalışmalarında altı tanesi kontrol lead altı tanesinde Ag kaplanmış lead örnekler olmak üzere toplamda on iki tane sıçan üzerinde deneyler gerçekleştirildi. Çalışmanın ilk aşamasında kalp pili ve lead örneklerinin yüzeyleri soğuk altlık yöntemi kullanılarak vakum ortamında 300-100 K arasında 25 K aralıklarla soğutuldu ve Ag katmanları oluşturuldu. FESEM görüntüleri 200 K altlık sıcaklığında film oluşumunun soliton büyüme mekanizması ile gerçekleştiğini gösterdi. Bu yöntemin diğer ısısal yöntemlerden farkı altlık yüzeyinin eşit boyutlu nano kümelerle kaplanmasıdır. Yöntem kısmında ayrıntılı olarak anlatıldığı gibi tasarladığımız soğuk altlık yönteminin ve film oluşumunda bu yöntemde gerçekleşen soliton büyüme mekanizması açıklanmıştır. Çalışmamızın sonucunda yeni yöntem ile kalp pilleri daha dokularda mikrobiyolojik, histopatolojik ve ultrastrüktürel (elektron mikroskopik analiz) analizlerin değerlendirilmesi sonucunda enfeksiyonu azaltarak koruyucu rol oynadığını gözlemledik. Aynı zaman kaplama teknolojimiz ile kaplanan pil ve leadler, kaplamayan pillere kıyasla elektron mikroskopik olarak yüzeylerinde daha pürüzsüz bir yapıya sahip olduğu saptadık.

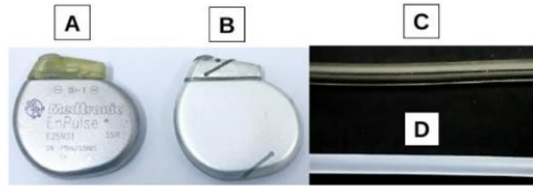
Bu çalışmada soğuk altlık aparatı (Şekil 1) ile Ag kaplama işlemlerinde uygulanan deneysel aşamalar:

- i. İlk aşamada kullanılan kalp pili örneğinin karakteristik özellikleri incelendi ve elde edilen deneysel sonuçlar kaydedildi.
- ii. Daha sonra kimyasal olarak temizlenmiş kalp pilinde bağlantı için kullanılan lead (kablo) 2 cm boyutlarında kesildi ve soğuk altlık düzeneğine yerleştirildi.
- iii. Vakum çemberinde (7) basıncın 10⁻⁷ Torr değerine ulaşması bekletildi,
- iv. İstenen basınç değeri elde edildiğinde vakum çemberine özel olarak tasarlanmış gaz girişinden (2) bakır borularla (3) sıvı azot dolaşımı sağlandı ve örneklerin 200 K değerine kadar soğutuldu,
- v. Soğutulma esnasında örneklerin sıcaklık değerleri dijital termoçift yardımı (4) ile kontrol edildi,
- vi. Sıcaklık 200 K değerine ulaştığında Ag buharlaştırma işlemi gerçekleştirildi,
- vii. Buharlaştırma işleminde buharlaştırma kaynağı (8) 750o C'ye yükseltildi ve buharlaştırma süresinin 30 dakika olarak devam edilmesi sağlandı,
- viii. Buharlaştırma esnasında reaktörde (6) doymuş buharın oluşumu için ve soğutulmuş örneklerin buharlaştırma kaynağından gelen sıcaklıktan etkilenmemesi için pencere (5) kapalı tutularak önlendi,
- ix. Buharlaşma esnasında örnek yüzeylerinin doymuş buharla teması düzeneğe yerleştirilmiş ayarlayıcı (9) ile kontrol edilerek 10 saniye kapalı 5 saniye açık tutuldu,
- x. Film büyüme sürecinde altlık sıcaklığının önemli ölçüde (5-10 K) etkilenmediği termoçift (4) yardımıyla kontrol edildi,
- xi. Buharlaştırma işlemi tamamlandıktan sonra örnekler vakum ortamında bekletildi ve sıcaklığın 300 K değerine ulaşması sağlandı.
- xii. Daha sonra vakum çemberi yükseklik ayarı (1) ile açıldı ve örneklerin inceleme aşamasına geçildi.

- xiii. Örneklerin vakum ortamında bekletilmesindeki amaç ısıl genleşme katsayısından kaynaklı Ag katmanlarında mikro çatlakların ve diğer yapısal kusurların olası oluşumunun önlenmesidir.
- xiv. Kalp pili ve lead örnekleri üzerinde oluşan Ag katmalarının 240-250 nm kalınlıkta ve yüksek adezyon özelliğinde olduğu görüldü,
- xv. Kaplama sonrası kalp pili örneğinin karakteristik özellikleri tekrar incelendi ve uygulanan teknolojik işlemlerden zarar görmediği tespit edildi.



Şekil 1



Şekil 2

Şekil 1’ de verilen soğuk altlık aparatı iki ana parçadan oluşmaktadır: i) Soğutucu kısımda yüzeyi kaplanacak örneklerin kaplamadan önce oda sıcaklığının altındaki sıcaklıklara soğutulmasını sağlamaktadır. Soğutulma işlemi içinde sıvı azot dolaşabilen bakır boru (3) yardımıyla gerçekleşmektedir. Azot girişi (2) düzeneğin üst kapağına sabitlenmiştir. ii) Reaktör (6) denilen ikinci kısım 74 mm çaplı ve yüksekliği 145 mm kuartz camdan oluşmakta olup üst kısmı açılıp kapanabilen paslanmaz çeliten yapılmış pencere ($d=80$ mm, $l=5$ mm) (5) ile kapatılmıştır. Reaktörün alt kısmında ise buharlaştırıcı kaynak (8) bulunmaktadır. Buharlaştırılan malzeme sublimasyona uğratarak reaktörde doymuş buhar haline dönüştürülmektedir. Reaktörün üst kısmında yer alan pencere (5) üç görevi üstlenmektedir. Bu görevler ısıtıcıdan gelen ısının soğutulmuş altlık yüzeyine taşınmasının önlenmesinde, buharlaştırma sürecinin kısıtlı sürelerle gerçekleştirilmesinde ve reaktörde doymuş buhar oluşumunun sağlanmasını üstlenmektedir. Soğutulmuş altlıkların reaktörde bulunan doymuş buharla teması ayarlanabilir pencere ayar kolu (9) ile sağlanmaktadır.

4. Yöntem (20 puan)

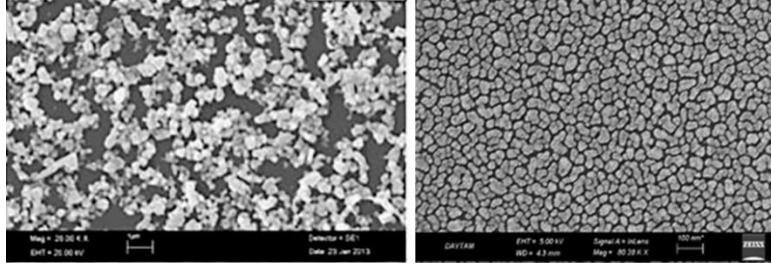
Buluşun Ayrıntılı Açıklaması

Günümüzde ince film kaplama işlemleri kimyasal ve vakum buharlaştırma yöntemleri ile yapılmaktadır. Isıl yöntemler olarak adlandırılan bu yöntemlerde kaplama işlemleri altlıkların farklı sıcaklık değerlerinde ısıtılması ile gerçekleşmektedir. Bu uygulamada oluşan ince filmler ağırlıklı olarak adacık büyüme mekanizması ile gerçekleşmekte ve farklı geometrik boyutlara sahip olmaktadır. Aşağıda verilen Uygulama 1a. kimyasal banyo yöntemiyle (CBD) ve Uygulama 1b. ısıl vakum buharlaştırma yöntemiyle elde edilen gümüş (Ag) filmlerin SEM görüntüleri verilmiştir. Görüldüğü üzere her iki yöntemde film yüzeyi farklı boyutlarda adacıklardan oluşmakta ve düzensiz bir dağılım sergilemektedirler. Ayrıca bu görüntülerde adacıklar arası boşlukların var oluşu kaplama kalitesini değersiz kılmaktadır. Bilimsel çalışmalarda

böyle katmanların elektronik aygıt oluşumunda ve koruyucu antibakteriyel katman olarak kullanılmasında iyi sonuçların elde edilmeyeceği vurgulanmaktadır.

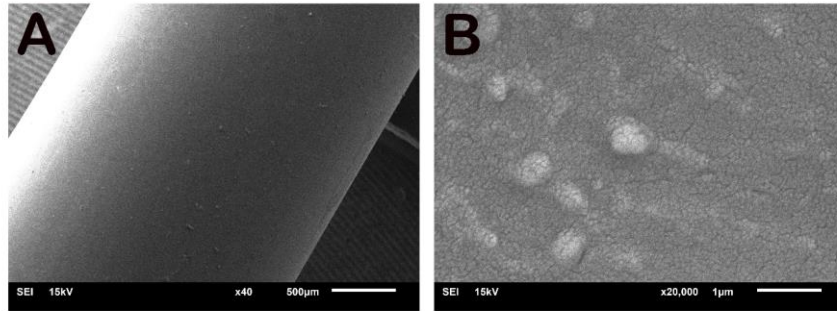
a.

b.



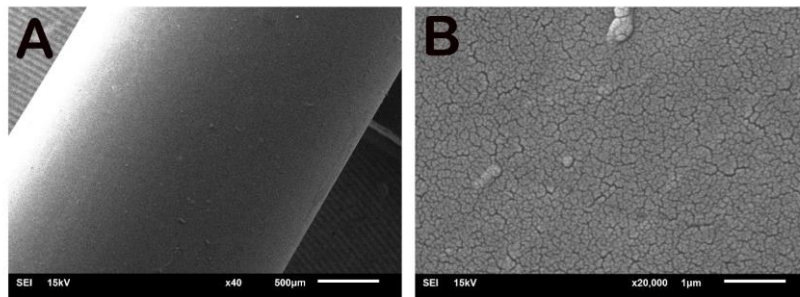
Uygulama 1. a. Kimyasal banyo yöntemi (CBD) b. Vakum buharlaştırma yöntemi

Sıkı paket şeklinde ve eşit boyutlu homojen küme dağılımına sahip tabakaların yenilikçi çalışmalarda kullanılması önem taşımaktadır. Bu patent çalışmasında tarafımızca tasarlanan soğuk altlık yöntemi kullanılarak kalp pili ve lead yüzeyleri ilk kez soliton büyüme mekanizması ile Ag iyonları ile kaplandı. Soğutulmuş altlık yüzeyinde film oluşumunun soliton büyüme mekanizması ile gerçekleşmesinden dolayı oluşan filmlerin sıkı paket şeklinde ve eşit boyutlu nano Ag kümelerden oluştuğu SEM görüntülerinden anlaşılmıştır. Şekil 1'de çalışmada kullanılan soğuk altlık tekniğinin şematik modelleri verilmiştir.



Uygulama 2. Kontrol grubuna ait kaplamasız materyalin temsili tarayıcı eletron mikroskobik ekran görüntüleri.

A(x40)-B(x20.000): Herhangi bir kaplama malzemesine sahip olmayan kontrol grubuna ait materyelin yüzeyindeki çıkıntılar izlenmektedir.



Uygulama 3. Ag grubuna ait materyalin temsili tarayıcı eletron mikroskobik ekran görüntüleri.

A(x40)-B(x20.000): Ag kaplama malzemesine sahip olmayan kontrol grubuna ait materyelin yüzeyinde dokuyu aşındırma riskine sahip olan herhangi bir çıkıntı izlenmektedir.

Temas esnasında soğutulmuş altlık yüzeyine doymuş buhar ortamından farklı boyutlarda nano ölçekli kümeler taşınmaktadır. Bu kümeler kritik öncesi, kritik ve kritik ötesi boyutlar olarak sınıflandırılmaktadır. Kritik boyutlu kümeler; soğutulmuş altlık atomları ile çarpışması esnasında soliton dalgası oluşturan kümelerdir. Diğer boyutlu kümeler ise tekrar doymuş buhar ortamına dönüş yaparlar. Böylece altlık yüzeyinde soliton dalgası oluşturan kümeler yoğunlaşmış olup

homojen bir görüntü sergilerler. Elektromanyetik dalgalardan farklı olarak doğrusal olmayan özelliğe sahip soliton dalgaları kütle taşıma özelliğine sahip olmaktadır. Bu özellikten dolayı altlık yüzeyinde kümeler hareketlilik kazandırılarak yüzeyin sıkı paket şeklinde oluşumu sağlanmaktadır. Elde edilen FESEM görüntü sonuçları 200 K altlık sıcaklığında üretilen Ag katmanının 10-15 nm çapında olduğu anlaşılmıştır. Çok sayılı deneyler sonucu altlık yüzeyinde kritik boyutlu kümelerin soliton dalgasını oluşturabilmesi için aşağıdaki verilen amperik eşitsizliğin sağlanması gerektiği anlaşılmıştır.

Burada; T_r altlık yüzeyindeki kümenin sıcaklığını, T_f altlığın sıcaklığını, f altlıkla küme (doymuş buhardan gelen tüm kümeler) arasındaki etkileşme kuvvetini, λ altlık atomları arasındaki etkileşme kuvvetini göstermektedir. a ve b değerleri ise malzemenin doğal yapısına bağlı olarak değişen katsayılardır. Şekil 2’de soğuk altlık yöntemiyle a. kaplanmamış kalp pili, b. 200 K altlık sıcaklığında kaplanmış kalp pili, c. kaplanmamış lead ve d. 200 K altlık sıcaklığında kaplanmış lead örneklerinin görüntüsü verilmiştir. Şekilden görüldüğü üzere Ag kaplı örnekler homojen bir yüzeye sahip olmaktadır. Şekil 3-4’de kaplanmamış ve kaplanmış örneklerin SEM ve EDS analiz görüntüleri verilmiştir. Görüldüğü üzere 200 K altlık sıcaklığında 30 dakika süre ile kaplanmış Ag filmi eşit boyutlu 10-15 nm kümelerden oluşmaktadır. EDS analizi katmanda Ag atomlarının olduğunu göstermektedir. Uygulanan teknolojik üretim rejiminde kalp pili ve lead örnekleri üzerinde Ag katmanının yaklaşık 240-250 nm kalınlığında olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra üretilen örneklerde mikrobiyal analizler yapıldı.

MİKROBİYOLOJİK TESTLER

Bu başlık altında Ag kaplanmış ve kaplanmamış örneklerin, yüzeyine bakterileri ne kadar bulundurabildiği (bakteri tutunma deneyi, TOTAL-KILLING CAPASITY), bakterileri ne kadar uzak tutabildiği (zon deneyi) ve kullanım ortamındaki fizyolojik koşullarda ne kadar Ag salınımı gerçekleştirdiğini (Ag salınım deneyi) belirlemek üzere üç farklı test uygulanmıştır.

1. BAKTERİ TUTUNMA DENEYİ (TOTAL-KILLING CAPASITY)

Bu test, Ag kaplı lead yüzeyine bağlı kalabilen bakteri sayısını göstermek için yapılmıştır.

Aşağıda mikrobiyal testlerinde yapılan işlem adımları sıralanmıştır.

- i. Kontrol ve 200 K’da hazırlanmış leadler UV ışık altında her bir yönü 30 dakika olacak şekilde tutularak steril edildi.
- ii. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 petrisinden bir koloni alınarak LB besiyeri içerisinde 37°C’de gece boyu kuru hava çalkalayıcısında inkübe edildi.
- iii. Hazırlanan gece kültüründen 3 mL LB içerisinde 100 µL ekildi.
- iv. Tüp içine 2 cm boyunda lead kesilerek kondu. Aynı şartlarda 24 saat inkübasyona bırakıldı.
- v. İnkübasyon sonrasında kültürden Ag kaplanmış ve kaplanmamış leadler alındı ve steril 1X PBS (pH 7,4) ile yıkandı.
- vi. 1,5 mL’lik Eppendorf tüp içine alınarak üzerine 1 mL 1X PBS eklendi ve 10 ve 20 dakikalık iki ayrı gruba ayrılarak ultrasonik banyoda (ELMA, Elmasonic) yüzeye tutunan bakteriler sweep edildi.
- vii. Sütürler tüplerden alındıktan sonra, PBS sıvısı 1/10 seyreltilerek LBA petrilere bağıt yardımıyla ekildi ve 37°C’de gece boyunca inkübasyona bırakıldı.

Tablo-1. Örneklerin bakteri muamelesi sonrası total bakteri sayısı

Örnek	Sonikasyon	Sulandırma	Sonuç	Toplam	
Kontrol	20 dakika	1/10	17	$1,7 \times 10^3$	CFU/mL
200 K, Ag	20 dakika	1/10	2	2×10^2	CFU/mL

Tablo 1’de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bakterisi ile 24 saat büyüme ortamında tutulmuş Ag kaplı leadin fizyolojik koşullarda yıkanması sonrası kalan bakteri sayısının önemli ölçüde

azaldığı görülmektedir. Elde edilen sonuçlar, tipik hastane infeksiyonları değerlerinin oldukça altındadır.

2. ZON DENEYİ

Bu test, Ag kaplı kalp pili ve lead örneklerin petride bulunan bakteri ortamında büyümekte olan bakterileri kendisine yaklaştırmadığını test etmek için uygulanmıştır. Dolayısıyla herhangi bir zon oluşumu, petri büyümesinde bile bakteriyi kendisinden uzak tuttuğunu göstermektedir.

Bu test yapımında aşağıdaki işlem adımları izlendi;

- i. 200 K altlık sıcaklığında hazırlanmış örnekler UV ışık altında her bir yönü 30 dakika olacak şekilde tutularak steril edildi.
- ii. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 petrisinden bir koloni alınarak LB besiyeri içerisinde 37°C’de gece boyu kuru hava çalkalayıcında inkübe edildi.
- iii. Bakteri kültüründen 1/100 sulandırma yapılarak LBA petrilere siteril eküvyon çubuğu ile ekildi.
- iv. Sonrasında steril örnekler petriye kondu.
- v. Kontrol ve Ag kaplı örnekler kullanıldı.
- vi. 37°C’de gece boyunca inkübasyona bırakıldı ve zon çapı ölçüldü.

SONUÇ: Lead çapı: 2,44 mm, Oluşan zon: Kontrol için: 0 mm, Ag kaplı lead: 3,9 mm

Bu test sonucundan görüldüğü üzere Ag kaplı lead örnek kendi çapının yaklaşık 1,6 katı bir alanda bakteriyi uzak tutmaktadır. Böylece lead örneklerin kullanım ortamında olası hastane infeksiyonunu önleyebileceğini göstermektedir.

3. Ag SALINIM DENEYİ

Bu test ile Ag kaplı örneklerin fizyolojik koşullarda birim zamanda gerçekleştirebileceği Ag salınımını test etmek için yapılmıştır.

Test yapımında aşağıdaki işlem adımları takip edildi:

- i. Ag kaplı kalp pili ve lead örnekler, 5 mL 1X PBS çözeltisi içerisinde 24, 48, 72 ve 96 saat süre ile bekletildi.
- ii. Süre sonunda örnekler PBS’ten alındı ve örnek çözelti ICP analizine gönderildi.

Tablo 2. Ag salınım test sonuçları

PBS Ortamında Bekletme Süresi	Ag Salınım (ppm)	
	Lead	Pil
200 K – 24 Saat	0,14	0,25
200 K – 48 Saat	0,09	0,30
200 K – 72 Saat	0,07	0,40
200 K – 96 Saat	0,05	0,38

Tablo 2’den de görüldüğü üzere incelenen kaplanmış örneklerde Ag iyon salınım değerleri, literatürde toksik olarak kabul edilen (10 ppm) dozunun oldukça altındadır.

Histopatolojik Analiz: Bu deneylerin yapılmasında aşağıdaki işlem adımları takip edildi.

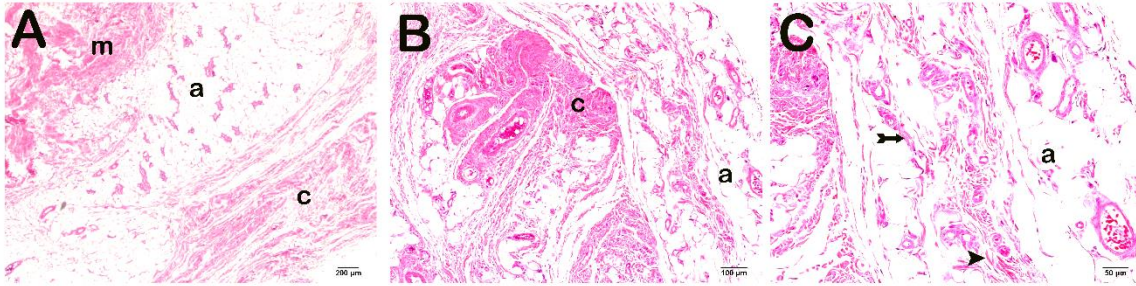
Materyal ve Metot

- i. Sıçanlardan çıkarılan dokuya ait örnekler nötral %10’luk formalin solusyonunda (Sigma-Aldrich, Almanya) 24 saat boyunca bekletilerek fiksasyon işlemi uygulandı.
- ii. Fikse edilen örnekler sırası ile 50%,70%, 80%,90%,96% ve 100%’luk (2 seri) etanol solüsyonunda dehidratasyon işlemi uygulandı.
- iii. Daha sonraki aşamada örnekler iki seri ksilol solusyonunda (Merck, Darmstadt, Germany) bekletilerek mordanlama işlemi uygulandı.

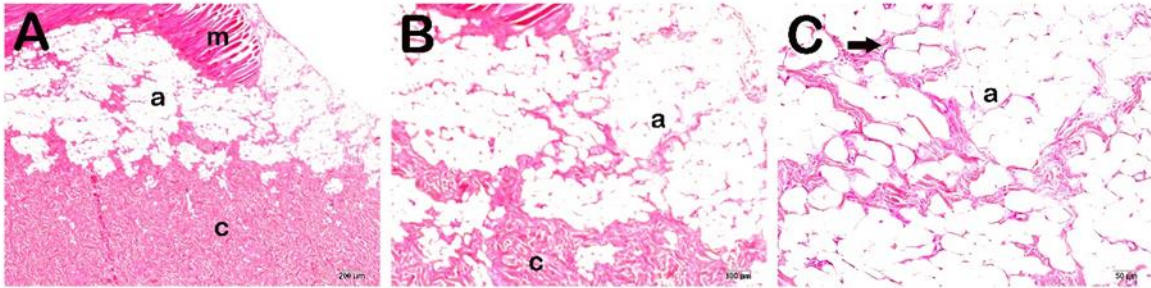
- iv. Mordanlama işlemini ardından doku örnekleri sırası ile sert parafinde bekletilme (Merck GmbH, Darmstadt, Almanya)) işlemi uygulanarak sert parafin (Merck GmbH, Darmstadt, Almanya) ile doku gömme kasetlerine gömüldü.
- v. Elde edilen doku parafin bloklarından rotary mikrotom kullanılarak (Rm2525 Leica Biosystems, Almanya) 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı.
- vi. Elde edilen preparatlar Harris hematoksilin (Merck GmbH, Darmstadt, Germany) ve Eosin G (Merck GmbH, Darmstadt, Almanya) ile boyandı.

Kesitler ışık mikroskobu altında (Olympus Co., BX51, Japan) incenerek digital fotoğraf makinası (Olympus Co., DP71, Japan) ile fotoğrafları çekildi.

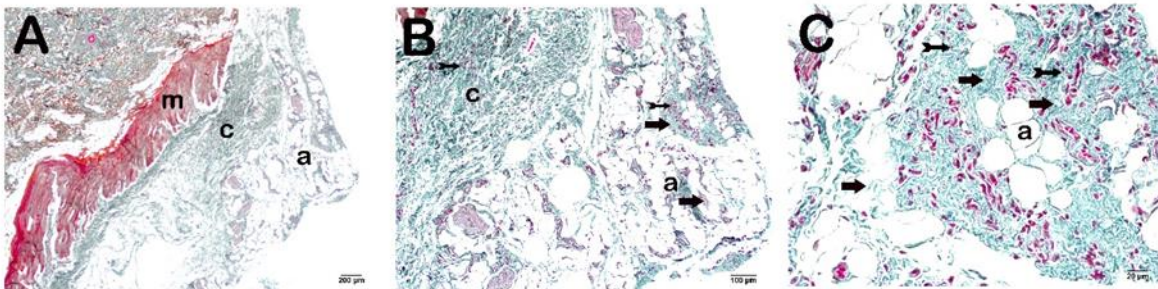
Histopatolojik Analiz sonuçlarından elde edilen sonuçların açıklanması:



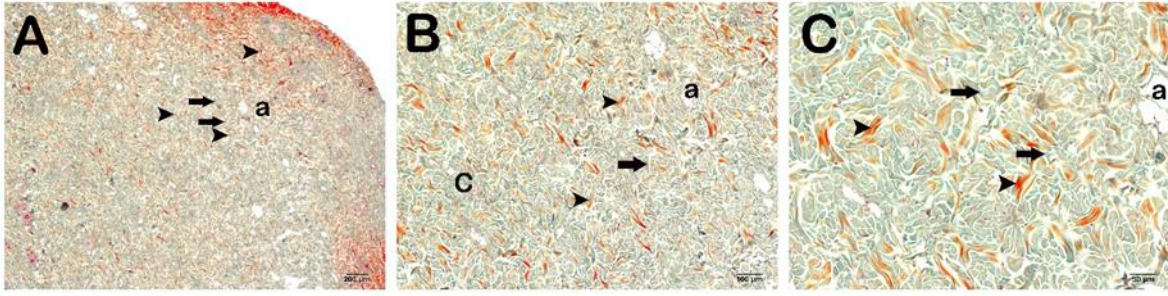
Şekil 5.A(x4)-B(x10)-C(x40): Kontrol grubuna ait kesitlerde bağ dokusunda (c) yer yer lökosit infiltrasyonları (kuyruklu ok) izlenmektedir. Bunun yanında, tipik yapıdaki kollajen fibriller (ok), çizgili kaslar (m; ok başı) ve yer yer adipositler (a) gözlemlenmekte (HPS:1(1-2)).



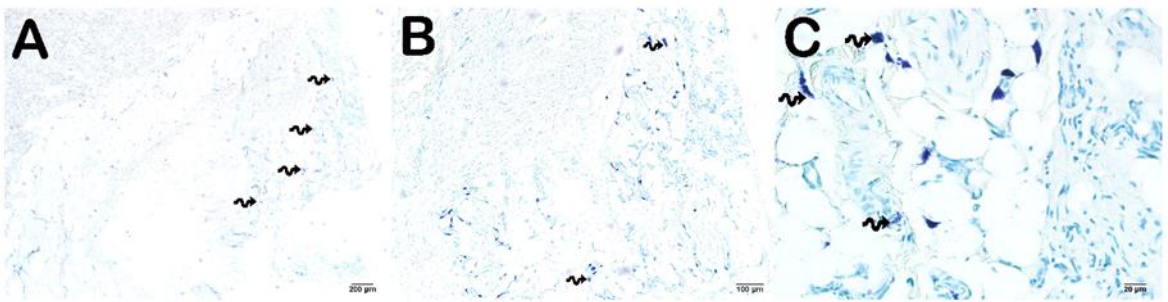
Şekil 6.A(x4)-B(x10)-C(x40): Ag grubuna ait kesitlerde tipik kollajen fibrillerden (ok) oluşan bağ dokusu (c), çizgili kaslar (m) ve yaygın adipositler (a) gözlemlenmekte (HPS:0(0-1)).



Şekil 7. A(x4)-B(x10)-C(x40): Kontrol grubuna ait kesitlerde bağ dokusunda (c) yaygın kollajen fibriller arasında yer yer lökosit infiltrasyonları (kuyruklu ok) izlenmektedir. Bunun yanında, tipik yapıdaki çizgili kaslar (m; ok başı) ve yer yer adipositler (a) gözlemlenmekte (HPS:1(1-2)).



Şekil 8. A(x4)-B(x10)-C(x40): Ag grubuna ait kesitlerde tipik yapıdaki bağ dokusunda (c) yaygın kollajen fibriller (ok) gözlenmektedir. Bunun yanında, tipik yapıdaki çizgili kaslar (m; ok başı) ve yer yer adipositler (a) gözlemlenmekte (HPS:0(0-1)).



Şekil 9. A(x4)-B(x10)-C(x40): Kontrol grubuna ait kesitlerde bağ dokusunda lökosit infiltrasyonları arasında mast hücreleri (spiral ok) izlenmektedir (PMNL IS, MHIS:0.5 (0-1)).



Şekil 10. A(x4)-B(x10)-C(x40): Ag grubuna ait kesitlerde bağ dokusunun tipik yapıda olduğu izlenmektedir (PMNL IS, MHIS:0(0-0)).

Kaplanmamış kontrol lead implantın cilt altı dokusunun dermis ve hipodermis tabakalarında orta derecede ödematoz alanlar oluşmuştur. Bunun yanında özellikle implantın bulunduğu epidermis ve hipodermis tabakalarında polimorf nükleuslu lökosit infiltrasyonu (PMNL) gözlemlendi. PMNL infiltratif alanlarda mast hücrelerini ayrıca belirlemek için yapılan toluidin blue boyamasında PMNL hücreleri arasında mast hücrelerin çoğunlukta olduğu saptandı. Masson trikrom boyamasında ise infiltratif alanların gözlemlenmekle beraber kollejen fibriller yoğun yapıda olduğu izlendi. Bu bulgular ışığında Ag kaplı ledlerin, Ag kaplanmamış leadlere kıyasla dermis ve hipodermis tabakalarında başta mast hücreleri olmak üzere PMNL sayısını azalttığı gözlemlendi. Bu nedenle Ag kaplı ledlerin implantasyonunda kaplamasız lead örneklere kıyasla inflamasyona ve alerjik reaksiyona tetikleme ihtimalinin daha düşük olduğu belirlendi. Bunun yanında, Ag kaplı leadlerin kaplanmamış leadlere göre daha antiinfektif etkinlik gösterdiği saptadı. Tarayıcı

elektron mikroskobu kullanarak yapılan ultrastruktürel incelemede ise kaplamasız leadlerin dermis ve hipodermis tabakalarında PMNL infiltrasyonuna neden olduğu doğruladı. Ayrıca Ag kaplı leadlerin implantasyonunda dermis ve hipodermis tabakalarında herhangi bir PMNL saptanmadığı gözlemlendi. Bu bulgular ışık mikroskobu görüntüleri ile desteklenmektedir.

Semi-kantitatif Analiz

Cilt altı dokusuna ait kesitlerde gözlemlenen histopatolojik değişiklikleri cilt altı implant çalışmaları üzerine olan histopatolojik değişiklikleri ele alan çalışmalara uygun olarak Tablo 3’de gösterildiği gibi skorlanmıştır (1–3). Skorlamada her bir preparatda çakışma olmayacak şekilde rastgele belirlenmiş otuz alan iki bağımsız histolog tarafından analiz edildi. Histologlar tedavi grupları için körleştirildi (TM and LT).

İstatistiksel Analiz

Analizler sonucu elde edilen tüm veriler SPSS 18.0 (IBM, Armonk, NJ, USA) istatistik programı kullanılarak hesaplandı. Semikantitatif analizler sonucu elde edilen parametrik olmayan veriler maksimum ve minimum değerler göz önüne alınarak median \pm %25-%75’lik interquartile range şeklinde hesaplandı. Gruplar arasındaki farklar kullanılarak non-parametrik Mann-Whitney U testi ile analiz edildi. (P değeri <0.05 anlamlı olarak seçildi).

5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü (15 puan)

Bu çalışmanın yenilikçi yönü herhangi önlenemeyen kalp pili tedavisine bağlı olarak gelişen kalp pili infeksiyonu oranlarını düşürmektedir. Bu kapsamda, altlık vakum buharlaştırma yöntemi kullanılarak kalp pili ve lead yüzeylerinde nanoboyutlu Ag katmanının soliton büyüme mekanizması ile gerçekleştirir. Bizim yöntemimizde ilk olarak, 300-100 K sıcaklık aralıklarında 25 K aralıklarla cam altlıklar yüzeyinde Ag katmanların üretilmesi, üretilen katmanlarda soliton büyüme mekanizmasının gerçekleştiği altlık sıcaklığının SEM görüntüleri ile tespit edilerek, belirlenen soliton sıcaklığında (200 K) kalp pili ve lead yüzeylerinin 10-15 nm çaplı Ag nano kümeleri ile kaplanması, SEM ve EDS analizlerinden Ag iyonlarının ve katman kalınlığının tespit edilerek kaplama sonrası kalp pili ve lead yüzeylerinde olası yapısal tahribatların deneysel olarak uygulanarak in vitro ortamında kaplanmış örneklerde Ag salınım miktarının (ICP), zon oluşum alanının ve bakteri tutunma sayısının belirlenerek infeksiyona karşı daha koruyucu ortam oluşturarak daha homojen ve pürüzsüz yüzeye sahip Ag ile kaplanmış bir teknolojik yenilik sağlayacaktır.

Günümüzde piyasada bulunan kalp pili ve lead sistemlerinde bizim yönetemimize benzer mevcut antibakteriyel bir kaplama teknolojisi bulunmamaktadır. Bunun yanında, diğer yöntemler ile Ag tıbbi cihazlarda soğuk altlık ve nanoteknolojik Ag kaplama metodolojisi ile pürüzsüz bir yüzeye sahip olarak doku uyumunu sağlayana herhangi bir ürün bulunmamaktadır.

Projemiz orjinal bir fikir olup, Türk Patent kurumuna, 2021/013570 sayılı “İnfektif endokardit kaynaklı infeksiyonların önlenmesi için gümüş kaplı kardiyak cihazlar ve bunların elde edilmesi için bir yöntem.” Başlığı altında patent başvurusu yapılmıştır. Ayrıca, Çalışmamız Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu Birimi tarafından 28.04.2021 tarihinde 2021/21 numarası ile onaylanmıştır.

6. Uygulanabilirlik (10 puan)

Yöntem kısmında ayrıntılı olarak anlatıldığı üzere soğuk altlık yöntemi kullanılarak Nanoteknolojik yöntemler ile Ag kaplanan kalp pilleri ve leadler kalp ritim bozukluklarının tedavisinde kullanılacaktır. Bu kapsamda; kimyasal olarak temizlenmiş kalp pilinde bağlantı için kullanılan lead (kablo) 2 cm boyutlarında kesildi ve soğuk altlık düzeneğinde vakum çemberinde basıncın 10-7 Torr basınç değerinde e özel olarak tasarlanmış gaz girişinden bakır borularla sıvı azot dolaşımı sağlandı ve örneklerin 200 K değerine kadar soğutulmuş örneklerin sıcaklık değerleri dijital termočift yardımı ile sıcaklık 200 K değerine ulaştığında Ag buharlaştırma işlemi

gerçekleştirildi. Buharlaştırma işleminde buharlaştırma kaynağı 750°C'ye yükseltildi ve buharlaştırma süresinin 30 dakika olarak devam edilmesi sağlandı, buharlaştırma esnasında reaktörde doymuş buharın oluşumu için ve soğutulmuş örneklerin buharlaştırma kaynağından gelen sıcaklıktan etkilenmemesi için pencere kapalı tutularak önlendi, Buharlaştırma esnasında örnek yüzeylerinin doymuş buharla teması düzeneğe yerleştirilmiş ayarlayıcı ile kontrol edilerek 10 saniye kapalı 5 saniye açık tutuldu, Film büyüme sürecinde altlık sıcaklığının önemli ölçüde (5-10 K) etkilenmediği termoçift yardımıyla kontrol edildi, Buharlaştırma işlemi tamamlandıktan sonra örnekler vakum ortamında bekletildi ve sıcaklığın 300 K değerine ulaşması sağlandı. Örneklerin vakum ortamında bekletilmesindeki amaç ısıl genişleme katsayısından kaynaklı Ag katmanlarında mikro çatlakların ve diğer yapısal kusurların olası oluşumunun önlenmesidir. Kalp pili ve lead örnekleri üzerinde oluşan Ag katmanlarının 240-250 nm kalınlıkta ve yüksek adezyon özelliğinde olduğu görüldü, Kaplama sonrası kalp pili örneğinin karakteristik özellikleri tekrar incelendi ve uygulanan teknolojik işlemlerden zarar görmediği tespit edilerek üretim aşaması sağlandı. Böylelikle elimizde prototipi üretilmiş ve deney hayvanında uygulanmış hayata geçirilmiştir. Bu aşamadan sonra protipin tam ürüne dönüştürülmesi için insan çalışmaları ile daha ergonomik hale getirilip sanayide seri üretim aşamasına getirilmesi hedeflenmektedir.

Sağuk altlık yöntemi ile nanoteknolojik Ag kaplama yöntemi ile tasarlanmış kalp pili ve lead kaplama tekniğimiz kalp infeksiyonlarını azaltma potansiyelinin göz önünde bulundurularak Kalp ritim bozuklukları tanısı almış hastalarda ticari bir ürün kullanım fırsatı sunmaktadır.

Hali hazırda prototipi üretilmiş ve deney hayvanında uygulanmış hayata geçirilen ürünümüz Bu aşamadan sonra protipin tam ürüne dönüştürülmesi için insan çalışmaları ile daha ergonomik hale getirilip sanayide seri üretim aşamasına getirilmesi etkinlik ve güvenlik testleri 10 ay içerisinde iş paketleri ve zamanla başlığı altında ayrıntılı sunulduğu gibi yapılması planlanmaktadır.

7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması (5 puan)

Projemiz halihazırda protipi üretilmiş ve deney hayvanlarının ilk etap çalışmaları tamamlanmıştır. Bunun yanında ileri testler için ayrı proje bütçesinin uygun göreceği oranda desteğe ihtiyaç bulunmaktadır.

Sıra No	İş Paketi Adı	Başlama-Bitiş Tarihleri
1	İş paketi 1/ Kalp pilinin nanoteknolojik yöntemlerle Ag ⁺ kaplanması için malzeme temini	01.07.2022-01.09.2022
2	İş paketi 2/ Kalp pilinin sanayide Ag ⁺ kaplanması ve prototipin geliştirilmesi	01.09.2022 - 01.11.2022
3	İş Paketi 3.Elde edilen prototip ile deney hayvanları (swine, domuz) çalışması yapılması ve Ag ⁺ kaplı kalp pilinin fonksiyon testlerinin değerlendirilmesi	01.11.2022 - 01.01.2023
4	İş paketi 4/ Deney hayvanlardaki Ag ⁺ ile kaplanmış kalp pilinin etkilerini, histopatolojik olarak ışık ve elektron mikroskopisinde, mikrobiyolojik analizler ile incelemelerin yapılıp, güvenlik etkinlik analizlerin değerlendirilmesi	01.01.2023-01.03.2023
5	İş paketi 5/ Ag ⁺ kaplı pilinin prototipi ile tedavi edilmesi ile ilgili izin ve ruhsatlar	01.03.2023 - 01.05.2023



8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar) (5 puan)

Projenin hedef kitesini oluşturan kalp hastalarında kalp ritim bozuklukları (bradikardiler, AV bloklar, Ventriküler taşikardi ve Ventriküler fibrilasyon... gibi taşikardiler) tanılarını alan hastalarda kalp pili takılması zorunlu bir tedavi yöntemidir. Bunun yanında, kalp pili takılması tedavisinde önemli bir komplikasyon olan kalp pili enfeksiyonu önemli bir sorundur.

Kalp pili komplikasyonlarından biri olan kalp pili lead enfeksiyonu ve infektif endokardit gelişimidir. Kalbin endokardiyal yüzeyinde ortaya çıkan infektif endokardit (İE), nadir görülmesine karşın, yol açtığı morbiditeler ve yüksek mortalite hızı nedeniyle halen önemini koruyan bir enfeksiyon hastalığıdır. Gelişmiş ülkelerde yapılmış epidemiyolojik çalışmalarda yaklaşık 6/100 000 olan İE sıklığının son yıllarda arttığı ve İE'nin, sepsis, pnömoni ve intraabdominal enfeksiyonlardan sonra yaşamı en çok tehdit eden 4. enfeksiyon olduğu görülmüştür. Bu ülkelerde İE'de sağkalım oranları hastane içinde %80, taburculuk sonrası 1. yıl sonunda %70 ve 5. yıl sonunda ise sadece %60'tır. Ülkemizde mortalite hızları daha yüksek olup, hastane yatışı sırasında bile %25-30'dur. Evre III A meme kanserinin 5 yıllık sağkalım hızının %70 olduğu günümüzde, İE'nin %60 olan 5 yıllık sağkalım hızıyla, nadir görülmesine karşın ne kadar önemli bir hastalık olduğu açıktır (39-42). Ortalama %25'lik mortalite hızı nedeniyle, ortalama yaşı 47 olan 1250 kişinin ölümüne neden olması söz konusudur. Tüm bu veriler, İE'nin ülkemizdeki önemini vurgulamaktadır. Ancak ne yazık ki, İE hem ülkemizde hem de dünyada hak ettiği ilgiyi görememekte, düşük araştırma bütçeleri ayrılmakta ve medyada hemen hemen hiç yer almamaktadır (43). Hastaların çoğuna ilk başvurularında tanı konulamamakta, yaklaşık yarısında tanı 3 aydan sonra konulabilmekte ve hastalık sıklıkla gözden kaçmaktadır (44). Endokardit tanısı konulmuş hastalarda, bu enfeksiyona neden olan mikroorganizmaların belirlenme oranı gelişmiş ülkelerde %90'dan fazlayken, ülkemizde %60 dolaylarındadır (45-46). İE'li hastaların tanısının konulmasında kullanılabilecek bazı önemli mikrobiyolojik (serolojik ve moleküler vb.) testler bu hastaları izleyen merkezlerin çoğunda yapılamamaktadır (47); tedavide kullanılan başta antistafilokoksik penisilinler olmak üzere önemli bazı antimikrobikler ülkemizde piyasada yoktur. İE tanısı konulduktan sonra uygulanan antimikrobiklerin türü, dozu ve kullanım süreleri de kılavuzlarda önerilenlerden önemli farklılıklar göstermekte; indikasyonu olan bazı hastalarda kardiyak cerrahi girişim yapılamamaktadır. Haftalarca devam eden antimikrobik tedavileri nedeniyle, hastaların hastanede uzun yatması gerekmekte, bu da özellikle cerrahi birimlerde sorun olabilmektedir. İE'yi önlemek için hangi hastalarda ve ne şekilde profilaksi yapılması gerektiği konusunda da önemli bilgi eksiklikleri vardır (48).

Kalp pili ve diğer kardiyak cihazlar ile ilişkili endokardit ilk kez 1970'lerde tanımlanmıştır. Kardiyak cihaz ile ilişkili endokardit elektrot uçlarından, kalp kapakçık veya endokardiyal yüzeye uzanan bir enfeksiyon olarak tanımlanır ve yerel cihaz enfeksiyondan ayırt edilmesi gereken bir durumdur. Önceki yayınlarda sıklığının, kalp içi cihaz enfeksiyonu olan hastalar arasında %10 ile

%23 arasında değiştiği bildirilmiştir. (44,49). Patogenezi ile ilgili hâkim hipotez infeksiyonun jeneratör bölgesinden başlayıp elektrot uçlarına kadar yayıldığı yönündedir. Uzak bir bulaşıcı odaktan hematojen yayılımın daha nadir bir olay olduğu düşünülmektedir (44,50).

Literatürde kalp pili endokarditleri, pile ilişkin son işlemde semptomların başlangıcına kadar geçen süreye göre, akut (erken) ve kronik (geç) olarak sınıflandırılmaktadır. Ancak bu süre ko- nusunda görüş birliği yoktur. Klug ve arkadaşlarına göre bu süre altı haftadan az ise infeksiyon akut, altı haftayı geçiyorsa kronik olarak değerlendirilmektedir (55). Cacoub ve arkadaşlarının (25) çalışmalarında ise erken ve geç endokardit ayırımında kullanılan zaman aralığı üç ay olarak rapor edilmektedir.

Kalp pili ile ilişkili endokardit oluşumuna katkıda bulunduğu bilinen faktörler içerisinde girişim sonrası ortaya çıkan hematoma, inflamasyon (25,51-56) ve bunlara yönelik cerrahi işlemler, implantasyon sonrası elektrotların erken dönemde manipulasyonu (57), pil cebi bölgesinde deri erozyonu, ileri yaş (65 yaş üzeri) yer almaktadır. Bununla birlikte vücudun bağışıklık mekanizmasını baskılayan diyabetes mellitus (DM), malign hastalıklar, kronik renal yetersizlik, steroid kullanımı, alkol kullanımı gibi sistemik faktörlerin de kalp pili ile ilişkili endokarditler için bir yatkınlık oluşturabileceği bildirilmiştir (8).

Kalp pili ile ilişkili endokarditte tıbbi tedavi tek başına nadiren başarılı olmaktadır. Optimal tedavi yaklaşımı yoğun antibiyotik tedavisinin başlanmasıyla, belirti ve bulguların gerilemesinden sonra mümkün olan en kısa süre içerisinde tüm kalp pili sisteminin total ekstraksiyonunu içerir. Ayrıca infeksiyonun tanı ve tedavisindeki güçlükler göz önüne alındığında profilaksinin önemi de ortaya çıkmaktadır.

9. Riskler (10 puan)

Sıra No	İş Paketi Riskleri	B planı
1	İş paketi 1/ Kalp pilinin nanoteknolojik yöntemlerle Ag ⁺ kaplanması için malzeme temini	Malzeme temin edilememesi durumunda farklı bir merkezden hizmet alınmasının yapılması
2	İş paketi 2/ Kalp pilinin sanayide Ag ⁺ kaplanması ve prototipin geliştirilmesi	Kalp pilinin Ag soğuk atık yöntemi ile kaplanması aşamasında gerekli sıcaklıklara çıkılamaması durumunda alternatif teknikler kullanılması
3	İş Paketi 3.Elde edilen prototip ile deney hayvanları (swine, domuz) çalışması yapılması ve Ag ⁺ kaplı kalp pilinin fonksiyon testlerinin değerlendirilmesi	Deney hayvanlarında uygulamaya bağlı olarak ortaya çıkabilecek komplikasyonlara bağlı ölümlerde yedek deneklerin üretilmesi ve bu kapsamda halihazırda etik kurulunun alınması.
4	İş paketi 4/ Deney hayvanlardaki Ag ⁺ ile kaplanmış kalp pilinin etkilerini, histopatolojik olarak ışık ve elektron mikroskopisinde, mikrobiyolojik analizler ile incelemelerin yapılp, güvenlik etkinlik analizlerin değerlendirilmesi	Verileri analizleri sırasında oluşabilecek hataları en azan indirmek için çift kontrolü olarak analizlenmesi.
5	İş paketi 5/ Ag ⁺ kaplı pilinin prototipi ile tedavi edilmesi ile ilgili izin ve ruhsatlar için teknik dosyanın toparlanması.	Bu kapsamda şirketlere aracılığıyla profesyonel destekler alınması

10. Kaynaklar (5 puan)

1. Lucas, A, Tholen G. van Oort. An intelligent system for pacemaker reprogramming. *Artificial Intelligence in Medicine*, 1990;17:249–269.
2. Chua JD, Wilkoff BL, Lee I, Juratli N, Longworth DL, Gordon SM: Diagnosis and management of infections involving implantable electrophysiologic cardiac devices. *Ann Intern Med* 2000;133:604-8.
3. Da Costa A, Kirkorian G, Isaaz K, Touboul P: Secondary infections after pacemaker implantation. *Rev Med Interne* 2000;21(3): 256-65.
4. Klug D, Lacroix D, Savoye C, et al: Systemic infection related to endocarditis on pacemaker leads. *Circulation* 1997;95:2098-107.

5. Amit Ghosh. Mayo Clinic Internal Medicine Board Review, 2010, New York, Oxford University Press.
6. Kaura A, Dworakowska D, Dworakowski R. Infective endocarditis - Cinderella in cardiology. *Kardiol Pol.* 2017;75(10):965-74.
7. Morga NG, Ginks W, Siddons QH, Letham A: Septicemia in patients with endocardial pacemaker. *Am J Cardiol* 1979;44:221-4.
8. Harcombe AA, Newell SA, Lidman PF, et al. Late complications following permanent pacemaker implantation or elective unit replacement. *Heart* 1998;80:240-244.
9. Trappe HJ, Pfitzner P, Klein H, et al. Infections after cardioverter defibrillator implantation: observation in 335 patients over 10 years. *Br Heart J* 1995;73:20-24.
10. Heiroburger TS, Duma RJ: Infections of prosthetic valves and cardiac pacemakers. *Infect Dis Clin North Am* 1989;3:221-45.
11. Baddour LM, Bettmann MA, Bolger AF, et al. Nonvalvular cardiac device-related infections. *Circulation* 2003;108:2015-2031.
12. Bluhm G. Pacemaker infections: a clinical study with special reference to prophylactic use of some isoxazoyl penicillins. *Acta Med Scand* 1985;699:1-62.
13. Beeler BA. Infections of permanent transvenous epicardial pacemakers in adults. *Heart Lung* 1982;11:152-156.
14. Borbola J, Denes P, Ezri MD, Hauser RD, Serry C, Goldin MD. The automatic implantable cardioverter-defibrillator. Clinical experience, complications and follow up in 25 patients. *Arch Intern Med* 1988;148:70-76.
15. Spratt KA, Blumber EA, Wood CA, Kutalek SP, Reboli AC. Infections of implantable cardioverter defibrillators: approach to management. *Clin Infect Dis* 1993;17:679-85.
16. Chaudhary R, Simmons RL. Pathogenesis of vascular graft infections. *J Vasc Surg* 1991;13:755-756.
17. Myers TJ, Khan T, Frazier OH. Infectious complications associated with ventricular assist systems. *ASAIO J* 2000;46:S28-S36.
18. Didisheim P, Rose EA, Long JW, et al. Infections with clinical ventricular assist devices: clinical therapy. *ASAIO J* 2001;47:195-196.
19. Chamis AL, Peterson GE, Cabell CN, et al. Staphylococcus aureus bacteremia in patients with permanent pacemakers or implantable cardioverter-defibrillators. *Circulation* 2001;104:1029-1033.
20. Paniagua D, Aldrich HR, Lieberman EH, et al. Increased prevalence of significant tricuspid regurgitation in patients with transvenous pacemaker leads. *Am J Cardiol* 1998;82:1130-1132.
21. Durack DT, Lukes AS, Bright DK, et al. New diagnostic criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. *Am J Med* 1994;96:200-209.
22. Victor F, De Place C, Camus C, et al. Pacemaker lead infection : echocardiographic features, management and outcome. *Heart* 1999;81:82-87.
23. Arber N, Pras E, Copperman Y, et al. Pacemaker endocarditis: report of 44 cases and review of the literature. *Medicine* 1994;73:299-305.
24. Bracke FA, Meijer A, van Gelder LM. Pacemaker lead complications: when is extraction appropriate and what can we learn from published data? *Heart* 2001;85:254-257.
25. Cacoub P, Leprince P, Nataf P, et al. Pacemaker infective endocarditis. *Am J Cardiol* 1998;82:480-484.

26. Furno, F, Morley, KS, Wong B, Barry L, Sharp BL, Arnold PL, Howdle SM, Bayston R, Brown PD, Winship. Silver nanoparticles and polymeric medical devices: A new approach to prevention of infection? *J. Antimicrob. Chemother.* 2004, 54, 1019–1024.
27. Rhim JW, Hong SI, Park HM, Perry KW. Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 5814.
28. Ivask A, Kurvet I, Kasemets K, Blinova I, Aruoja V, Suppi S, Visnapuu M. Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro. *PLoS ONE* 2014, 9, e102108.
29. Yamashita D, Machigashira M, Miyamoto M, Takeuchi H, Noguchi K, Izumi Y, Ban S. Effect of surface roughness on initial responses of osteoblast-like cells on two types of zirconia. *Dent. Mater. J.* 2009, 28, 461–470. [CrossRef] [PubMed] *Molecules* 2017, 22, 1681 14 of 14
30. Solá-Ruiz MF, Pérez-Martínez C, Martín-del-Llano JJ, Carda-Batalla C, Labaig-Rueda C. In vitro preliminary study of osteoblast response to surface roughness of titanium discs and topical application of melatonin. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 2015, 20, e88–e93. [
31. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv.* 2009;27(1):76–83. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.09.002
32. Burdusel AC, Gherasim O, Grumezescu AM, Mogoanta L, Ficai A, Andronescu E. Biomedical applications of silver nanoparticles: an up-to-date overview. *Nanomaterials (Basel, Switzerland).* 2018;8:9.
33. Klasen HJ. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. *Burns.* 2000;26(2):131–138. doi:10.1016/S0305-4179(99)00116-3
34. Nguyen TD, Nguyen TT, Ly KL, et al. In vivo study of the anti- bacterial chitosan/polyvinyl alcohol loaded with silver nanoparticle hydrogel for wound healing applications. *Int J Polym Sci.* 2019;2019:1–10. doi:10.1155/2019/7382717
35. Saidin S, Chevallier P, Abdul Kadir MR, Hermawan H, Mantovani D. Polydopamine as an intermediate layer for silver and hydroxyapatite immobilisation on metallic biomaterials surface. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2013;33(8):4715–4724. doi:10.1016/j.msec.2013. 07.026.
36. MacDougall C, Harpe SE, Powell JP, Johnson CK, Edmond MB, Polk RE. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and fluor- oquinolone use. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(8):1197–1204. doi:10.3201/eid1108.050116
37. Rhoads DD, Cox SB, Rees EJ, Sun Y, Wolcott RD. Clinical identi- fication of bacteria in human chronic wound infections: culturing vs. 16S ribosomal DNA sequencing. *BMC Infect Dis.* 2012;12:321. doi:10.1186/1471-2334-12-321
38. Dong D, Thomas N, Thierry B, Vreugde S, Prestidge CA, Wormald P-J. Distribution and inhibition of liposomes on *Staphylococcus aureus* and *pseudomonas aeruginosa* biofilm. *PLoS One.* 2015;10(6):e0131806. doi:10.1371/journal.pone.0131806.
39. Bin Abdulhak AA, Baddour LM, Erwin PJ, et al. Global and regio- nal burden of infective endocarditis, 1990-2010: a systematic re- view of the literature. *Glob Heart.* 2014; 9(1): 131-43. [CrossRef]
40. Cahill TJ, Prendergast BD. Infective endocarditis. *Lancet.* 2016; 387(10021): 882-93.
41. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, et al. Infective endocarditis in adults: diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: a scientific statement for healthcare professio- nals from the American Heart Association. *Circulation.* 2015; 132(15): 1435-86.

42. Şimşek-Yavuz S, Şensoy A, Kaşıkçıoğlu H, et al. Infective endocarditis in Turkey: aetiology, clinical features, and analysis of risk factors for mortality in 325 cases. *Int J Infect Dis.* 2015; 30: 106- 14.
43. Kaura A, Dworakowska D, Dworakowski R. Infective endocarditis - Cinderella in cardiology. *Kardiol Pol.* 2017; 75(10): 965-74.
44. Başaran S, Şimşek-Yavuz S, Alp E, et al. İnfektif endokarditin tanınmaması, tanısının gecikmesi ve sonuçları [Özet]. In: Tekin S, ed. XX. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (13-16 Mart 2019, Antalya) Kitabı. İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2019: 266-7.
45. Şimşek-Yavuz S, Şensoy A, Kaşıkçıoğlu H, et al. Infective endocarditis in Turkey: aetiology, clinical features, and analysis of risk factors for mortality in 325 cases. *Int J Infect Dis.* 2015; 30: 106- 14.
46. Hoen B, Duval X. Clinical practice. Infective endocarditis. *N Engl J Med.* 2013; 368(15): 1425-33.
47. Aydın M, Azap Ö, Şimşek-Yavuz S. İnfektif endokardit tanı ve tedavi olanaklarının belirlenmesi: neyi, ne kadar yapabiliyoruz [Özet]. In: Tekin S, ed. Klimik 2016 30. Yıl Kurultayı (9-12 Mart 2016, Antalya) Özet Kitabı. İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2016: 450-1.
48. Yılmaz-Karadağ F, Şimşek-Yavuz S, Karadeniz A, et al. Diş hekimlerinin infektif endokardit profilaksisi hakkında bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi: ön çalışma verileri [Özet]. In: Tekin S, ed. Klimik 2016 30. Yıl Kurultayı (9-12 Mart 2016, Antalya) Özet Kitabı. İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2016: 292-3.
49. K. L. Thanavaro and J. V. I. Nixon, "Endocarditis 2014: An update.," *Heart Lung*, pp. 2–5, Apr. 2014.
50. K. Y. Le, M. R. Sohail, P. a Friedman, D. Z. Uslan, S. S. Cha, D. L. Hayes, W. R. Wilson, J. M. Steckelberg, and L. M. Baddour, "Clinical predictors of cardiovascular implantable electronic device-related infective endocarditis.," *Pacing Clin. Electrophysiol.*, vol. 34, no. 4, pp. 450–9, Apr. 2011.
51. Bin Abdulhak AA, Baddour LM, Erwin PJ, et al. Global and regional burden of infective endocarditis, 1990-2010: a systematic review of the literature. *Glob Heart.* 2014; 9(1): 131-43.
52. Cahill TJ, Prendergast BD. Infective endocarditis. *Lancet.* 2016; 387(10021): 882-93.
53. Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, et al. Infective endocarditis in adults: diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation.* 2015; 132(15): 1435-86.
54. Gandelman G, Frishman WH, Wiese C, et al. İntravascular device infections: Epidemiology, diagnosis and management. *Cardiol Rev* 2007; 15:13-23.
55. Klug D, Lacroix D, Savoye C, et al. Systemic infection related to endocarditis on pacemaker leads: clinical presentation and management. *Circulation* 1997;95:2098-2107.
56. Erbel R, Robman S, Drexler M, et al: Improved diagnostic value of echocardiography in patients with infective endocarditis by transoesophageal approach. A prospective study. *Eur Heart J* 1988; 9: 43-53.
57. Beeler BA. Infections of permanent transvenous epicardial pacemakers in adults. *Heart Lung* 1982;11:152-156.