

Diyabetik Ayak İnfeksiyonlarından İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarındaki Virulans Genleri Diğer İnfeksiyonlardan İzole Edilenlerden Farklı mı?

M. Bülent Ertuğrul¹, Erman Oryasin², Benjamin A. Lipsky^{3, 4, 5}, Ayşe Willke⁶, Bülent Bozdoğan²

¹Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D.

²Adnan Menderes Üniversitesi REDPROM Araştırma Merkezi

³University of Oxford, ⁴University of Genova, ⁵University of Washington

⁶Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D.



Adriaen Van der Velde, (1636-1672) Amsterdam Historical Museum

❖ Tüm dünyada diyabetin ayak komplikasyonu nedeniyle 20* saniyede bir ayak kaybı yaşanmaktadır

❖ Ampütasyonların %60'ından fazlası infeksiyon nedeniyle

*Bakker K. 2014 (unpublished data)

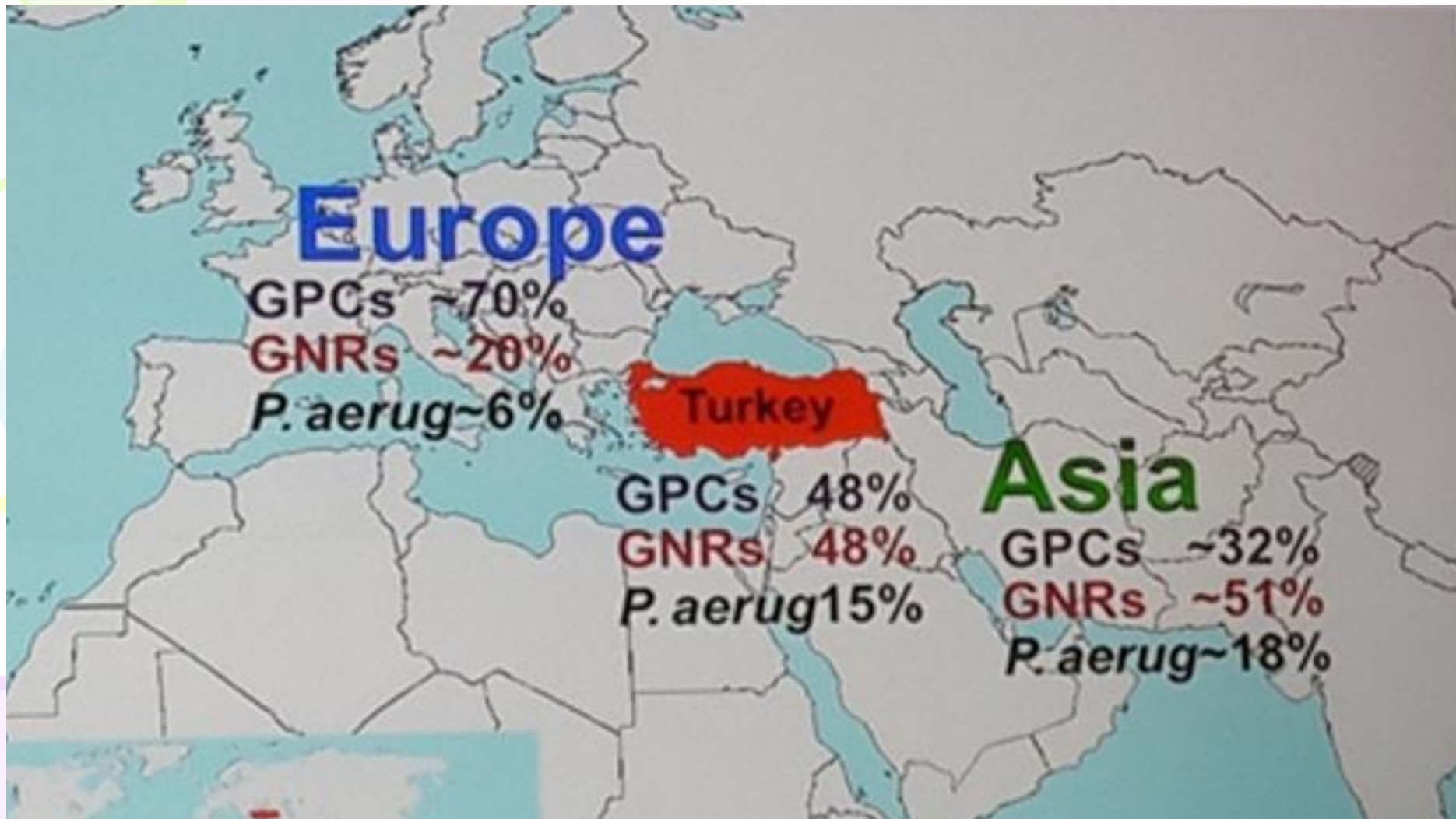
Lipsky BA. *Clin Infect Dis* 2004;39:885-910

Ertuğrul MB. ve ark. *Klimik Derg* 2004;17(1):3-12

Ertuğrul MB. *Klimik Derg* 2009;22(Ek sayı)



Amputation bags - Oxford Science Museum



Mikroorganizma Adı	Yumuşak Doku	Kemik Doku
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	14
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	13
Metisiline duyarlı	3	3
Metisiline dirençli	11	10
<i>Acinetobacter spp.</i>	8	5
Enterokok	4	2
Koagulaz-negatif stafilokok	5	5
Metisiline duyarlı	2	2
Metisiline dirençli	3	3
<i>Streptococcus spp.</i>	4	3
Nonhemolitik	1	2
Alfa Hemolitik	1	-
Beta Hemolitik	2	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1
<i>Puroteus vulgaris</i>	1	1
<i>Escherichia coli</i>	2	1
<i>Enterobacter spp.</i>	2	-
Peptostreptokok	3	1
<i>Serratia marsences</i>	1	1
<i>Candida spp.</i>	1	-
Toplam	69	47

Diyabetik Ayak İnfeksiyonu Etkenlerinin Yıllara Göre Dağılımları

Yıllar	2000-2004	2005-2009	2010-2014	P	2000-2014
Hasta Sayısı	207	442	1125		1774
N (%)	N (%)	N (%)	N (%)		N (%)
Toplam Gram pozitifler	139 (40,5)	227 (50,4)	476 (45,5)	0,020	842 (45,8)
<i>S.aureus</i>	101 (29,4)	130 (28,9)	189 (18,1)	<0,001	420 (22,8)
Koagülaz negatif stafilokoklar	6 (1,7)	36 (8)	110 (10,5)	<0,001	152 (8,3)
<i>Enterococcus spp.</i>	5 (1,5)	25 (5,6)	97 (9,3)	<0,001	127 (6,9)
<i>Streptococcus spp.</i>	15 (4,4)	30 (6,7)	71 (6,8)	0,262	116 (6,3)
Diğer Gram pozitifler	12 (3,5)	6 (1,3)	9 (0,9)	0,002	27 (1,5)
Toplam Gram negatifler	204 (59,5)	219 (48,7)	564 (53,9)	0,010	987 (53,7)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67 (19,5)	75(16,7)	164(15,6)	0,251	306 (16,7)
<i>Escherichia coli</i>	59(17,2)	55(12,2)	124(11,8)	0,033	238 (12,9)
<i>Proteus spp.</i>	15(4,4)	22(4,9)	56(5,3)	0,759	93 (5,1)
<i>Klebsiella spp.</i>	19(4,4)	14(3,1)	71(6,8)	0,018	104 (5,7)
<i>Acinetobacter spp.</i>	10(2,9)	23(5,1)	21(2)	0,005	54 (2,9)
<i>Enterobacter spp.</i>	14(4,1)	13(2,9)	49(4,7)	0,278	76 (4,1)
<i>Citrobacter spp</i>	0	1(0,2)	9(0,9)	0,097	10 (0,5)
<i>Morganella spp</i>	0	5(1,1)	27(2,6)	0,003	32 (1,7)
<i>S. maltophilia</i>	2	2(0,4)	2(0,2)	0,478	6 (0,4)
Diğer Gram negatifler (anaeroblar dahil)	18(5,2)	9(0,7)	41(3,9)	0,047	68 (3,7)
<i>Candida spp.</i>	0(0,0)	4 (0,9)	6 (0,6)	0,237	10 (0,5)
Toplam mikroorganizma	343	450	1046		1839

Etken	N (%)	
Gram pozitif	55 (47,8)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	16 (13,9)	
Metisilin dirençli		8
Çoklu ilaç dirençli		2
Koagülaz-negatif <i>staphylococcus</i>	8 (6,9)	
Metisilin dirençli		3
<i>Streptococcus</i> spp.	17 (14,8)	
<i>Enterococcus</i> spp.	14 (12,2)	
Betalaktam dirençli		1
Gram negatif	55 (47,8)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21(18,4)	
İBL pozitif		8
<i>Escherichia coli</i>	9 (7,8)	
GSBL pozitif		4
Çoklu ilaç dirençli		1
<i>Proteus</i> spp.	8 (6,9)	
GSBL pozitif		1
<i>Morganella</i> spp.	8 (6,9)	
Çoklu ilaç dirençli		3
<i>Klebsiella pneumonia</i>	3 (2,6)	
GSBL pozitif		2
<i>Acinetobacter</i> spp.	3 (2,6)	
Çoklu ilaç dirençli		3
<i>Enterobacter</i> spp.	3 (2,6)	
GSBL pozitif		2
Diğer	5 (4,4)	
Toplam	115 (100)	
Toplam dirençli bakteri		38 (33)

Etken	N (%)	
Gram pozitif	55 (47,8)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	16 (13,9)	
Metisilin dirençli		8
Çoklu ilaç dirençli		2
Koagülaz-negatif <i>staphylococcus</i>	8 (6,9)	
Metisilin dirençli		3
<i>Streptococcus</i> spp.	17 (14,8)	
<i>Enterococcus</i> spp.	14 (12,2)	
Beta-laktam dirençli		1
Gram negatif	55 (47,8)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21(18,4)	
İBL pozitif		8
<i>Escherichia coli</i>	9 (7,8)	
GSBL pozitif		4
Çoklu ilaç dirençli		1
<i>Proteus</i> spp.	8 (6,9)	
GSBL pozitif		1
<i>Morganella</i> spp.	8 (6,9)	
Çoklu ilaç dirençli		3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3 (2,6)	
GSBL pozitif		2
<i>Acinetobacter</i> spp.	3 (2,6)	
Çoklu ilaç dirençli		3
<i>Enterobacter</i> spp.	3 (2,6)	
GSBL pozitif		2
Diğer	5 (4,4)	

Toplam

115 (%100)

Toplam dirençli bakteri

38 (%33)

Olumsuz Tedavi Sonucu

- ❖ *P.aeruginosa*'yı da içeren birden çok bakteri üremesi
- ❖ Diğer Gram negatiflere bağlı infeksiyon
- ❖ Metisiline dirençli *S.aureus* infeksiyonu
- ❖ Hastanın başka bir hastaneden sevk edilmiş olması
- ❖ Başvuru sırasında yüksek lökosit düzeyinin olması
- ❖ İleri evre ayak infeksiyonu olması
- ❖ Major cerrahiye gereksinim duyulması

Lipsky BA. et al. *Int Wound J* 2007;4:30 - 8

Lipsky BA. et al. *Diabetologia* 2010;53:914-23

Varkadas KZ. et al. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;80:344-51

Olumsuz Tedavi Sonucu

- ❖ *P.aeruginosa*'yı da içeren birden çok bakteri üremesi
- ❖ Diğer Gram negatiflere bağlı infeksiyon
- ❖ Metisiline dirençli *S.aureus* infeksiyonu
- ❖ Hastanın başka bir hastaneden sevk edilmiş olması
- ❖ Başvuru sırasında yüksek lökosit düzeyinin olması
- ❖ İleri evre ayak infeksiyonu olması
- ❖ Major cerrahiye gereksinim duyulması

Lipsky BA. et al. *Int Wound J* 2007;4:30 - 8

Lipsky BA. et al. *Diabetologia* 2010;53:914-23

Varkadas KZ. et al. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;80:344-51

P. aeruginosa İzolasyonu İçin Risk Faktörleri

Değişken	P	OR	95% CI
Amputasyon öyküsü	<0,001	12,865	3,865 - 42,439
Özel yara örtüsü kullanımı öyküsü	0,018	5,993	1,364 - 26,328

Ertuğrul MB. Lipsky BA. et al *J Am Podiatr Med Assoc* 2017 (Article in press)



Pierre Julien Paulien (1731-1804)
Dying Gladiator (1779) - Louvre Museum

AMAÇ

- ❖ Çoğul dirençli bakterilerle oluşan diyabetik ayak infeksiyonlarının (DAİ) uygun antibiyotik kullanılmasına karşın kötü sonuçlandığı ve yüksek amputasyon oranlarına sahip olduğu gösterilmiştir.
- ❖ Bu durum virulans faktörlerinin rolünü düşündürmektedir.
- ❖ Çalışmamızda DAİ ve diğer infeksiyon etkeni olan *P. aeruginosa* suşları arasında virulans genleri açısından fark olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

❖ Adnan Menderes Üniversitesi ve Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kliniklerinde DAİ ve diğer infeksiyon hastalığı tanılı hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşları çalışmaya alınmıştır.

❖ *P.aeruginosa*'nın daha önceden bilinen virülans genlerine ait primerler kullanılarak infeksiyon etkeni suşlarda polimeraz zincir yöntemi kullanılarak bu genlerin olup olmadığı araştırılmıştır.

Gene	Primer	Nucleotide Sequence	Amplicon Size
<i>lasI</i>	forward	5' CGTGCTCAAGTGTTCAAGG 3'	295 bp
	reverse	5' TACAGTCGGAAAAGCCCCAG 3'	
<i>lasR</i>	forward	5' AAGTGGAAAATTGGAGTGGAG 3'	130 bp
	reverse	5' GTAGTTGCCGACGACGATGAAG 3'	
<i>lasA</i>	forward	5'GCAGCACAAAAGATCCCC'	1075 bp
	reverse	5'GAAATGCAGGTGCGGTC3'	
<i>lasB</i>	forward	5' GGAATGAACGAAGCGTTCTCCGAC 3'	153 bp
	reverse	5' TGGCGTCGACGAACACCTCG 3'	
<i>RhlI</i>	forward	5' TTCATCTCCTTTAGTCTTCCC 3'	155 bp
	reverse	5' TTCCAGCGATTCAGAGAGC 3'	
<i>rhIR</i>	forward	5' TGCATTTTATCGATCAGGGC 3'	133 bp
	reverse	5' CACTTCTTTTCCAGGACG 3'	
<i>toxA</i>	forward	5' CTGCGCGGGTCTATGTGCC 3'	270 bp
	reverse	5' GATGCTGGACGGGTCGAG 3'	
<i>aprA</i>	forward	5' GTCGACCAGGCGGGAGCAGATA 3'	993 bp
	reverse	5' GCCGAGGCCGCCGTAGAGGATGTC 3'	
<i>rhlAB</i>	forward	5' TCATGGAATTGTCAACCCGC 3'	151 bp
	reverse	5' ATACGGCAAAATCATGGCAAC 3'	
<i>plcH</i>	forward	5' GCACGTGGTCATCCTGATGC 3'	608 bp
	reverse	5' TCCGTAGGCGTCGACGTAC 3'	
<i>fliC</i>	CW45 forward	5' GGCAGCTGGTTNGCCTG 3'	1.02 kb (type a)
	CW46 reverse	5' GGCCTGCAGATCNCCAA 3'	1.25 kb (type b)
<i>plcN</i>	forward	5' TCCGTTATCGCAACCAGCCCTACG3'	481 bp
	reverse	5' TCGCTGTCGAGCAGGTGCAAC3'	
<i>exoS</i>	forward	5' GCGAGGTCAGCAGAGTATCG 3'	118 bp
	reverse	5' TTCGGCGTCACTGTGGATGC 3'	
<i>exoY</i>	forward	5' CGGATTCTATGGCAGGGAGG3'	289 bp
	reverse	5' GCCCTTGATGCACTCGACCA 3'	
<i>exoT</i>	forward	5' AATCGCCGTCCAATGCATGCG3'	152 bp
	reverse	5' TGTTCCGCGAGGTACTGCTC 3'	
<i>exoU</i>	forward	5' CCGTTGTGGTGCCGTTGAAG 3'	134 bp
	reverse	5'CCAGATGTTCCACCGACTCGC3'	
<i>phzII</i>	forward	5' GCCAAGGTTTGTGTCGG 3'	1036 bp
	reverse	5' CGCATTGACGATATGGAAC 3'	
<i>phzM</i>	forward	5' ATGGAGAGCGGGATCGACAG3'	875bp
	reverse	5' ATGCGGGTTTCCATCGGCAG3'	
<i>phzS</i>	forward	5' TCGCCATGACCGATACGCTC3'	1752bp
	reverse	5' ACAACCTGAGCCAGCCTTCC3'	
<i>phzI</i>	forward	5' CATCAGCTTAGCAATCCC3'	392bp
	reverse	5' CGGAGAACTTTTCCCTC3'	
<i>phzH</i>	forward	5' GGGTTGGGTGGATTACAC3'	1752 bp
	reverse	5' CTCACCTGGGTGTTGAAG3'	
<i>pvdA</i>	forward	5' GACTCAGGCAACTGCAAC3'	1281 bp
	reverse	5' TTCAGGTGCTGGTACAGG3'	

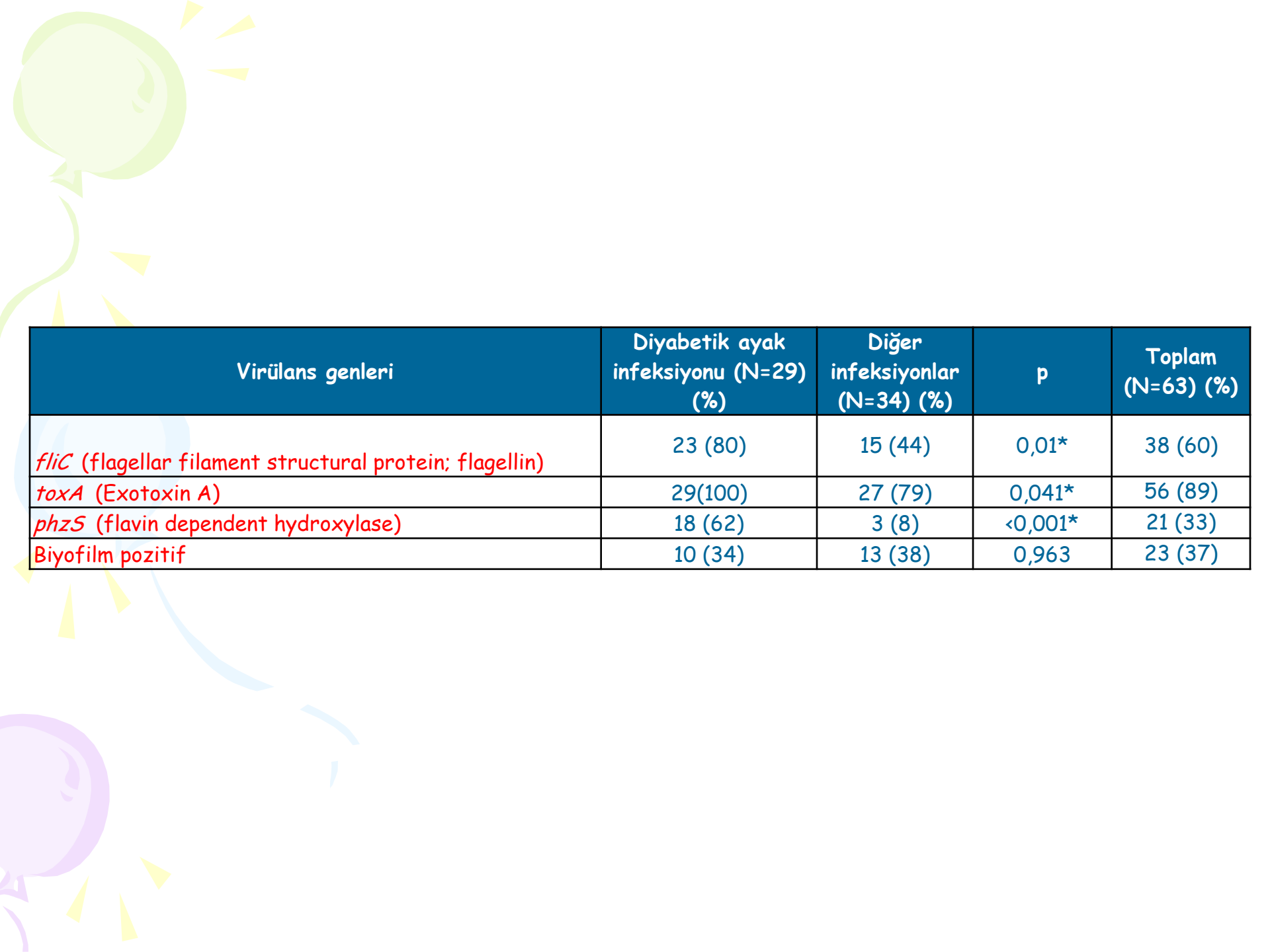
YÖNTEMLER

- ❖ Her iki gruptan bazı suşlara Multilocus sequence typing yapılmış ve tek bir klon ya da benzer klonlardan köken alıp almadığı araştırılmıştır. Bu amaçla *Pseudomonas aeruginosa* MLST Database sisteminde belirlenen 7 gen için spesifik primerler kullanılmıştır.
- ❖ Tüm suşların biyofilm oluşturup oluşturmadıkları Microtiter Plate yöntemi ile araştırılmıştır.
- ❖ İki grupta saptanan virulans genleri oranları istatistiksel olarak ki-kare testi ile karşılaştırılmış ve $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

- ❖ Nisan 2015 - Nisan 2016 tarihleri arasında hastalardan izole edilen infeksiyon etkeni 63 *P.aeruginosa* suşu çalışmaya alındı.
- ❖ Bu suşların 29'u diyabetik ayak infeksiyonu (doku biyopsisinden elde edilen), 34'ü ise diğer infeksiyonlardan (6'sı üriner sistem, 20'si pnömoni, 8'i bakteremi) elde edilmişti.
- ❖ Virulans genlerinden 7'si (*lasI, lasR, lasB, rhII, rhIR, rhIAB, Exo T*) tüm suşlarda pozitif, biri ise (*aprA*) tüm suşlarda negatif olarak bulundu.

Virülans genleri	Diyabetik ayak infeksiyonu (N=29) (%)	Diğer infeksiyonlar (N=34) (%)	p	Toplam (N=63) (%)
lasI (autoinducer synthesis protein)	29 (100)	34 (100)	1	63 (100)
lasR (transcriptional activator protein)	29 (100)	34 (100)	1	63 (100)
lasA (Protease)	22 (76)	27 (79)	0,973	59 (94)
lasB (Elastase)	29 (100)	34 (100)	1	63 (100)
rhlI (acyl-homoserine-lactonesynthase)	29 (100)	34 (100)	1	63 (100)
rhlR (transcriptional regulator)	29 (100)	34 (100)	1	63 (100)
rhlAB (rhamnosyl transferase)	29 (100)	34 (100)	1	63 (100)
aprA (alkaline metalloproteinase)	0	0	1	0
fliC (flagellar filament structural protein; flagellin)	23 (80)	15 (44)	0,01*	38 (60)
toxA (Exotoxin A)	29(100)	27 (79)	0,041*	56 (89)
plcH (hemolytic phospholipase C)	17 (59)	34 (100)	<0,001*	51 (81)
plcN (non-hemolyticphospholipase C)	27 (93)	34 (100)	0,208	61 (97)
ExoS (exoenzyme S)	19 (66)	30 (88)	0,063	49 (78)
ExoT (exoenzyme T; transport protein)	29 (100)	34 (100)	1	63 (100)
ExoU (phospholipase)	10 (34)	4 (12)	0,063	14 (22)
ExoY (exopolysaccharideproduction protein; adenylatecyclase)	27 (93)	31 (91)	1	58 (92)
phzI (phenazine operon)	28 (97)	29 (76)	0,205	57 (90)
phzII(phenazine operon)	16 (55)	12 (35)	0,184	28 (44)
phzM (phenazine-specific methyltransferase)	28 (97)	29 (76)	0,205	57 (90)
phzS (flavin dependent hydroxylase)	18 (62)	3 (8)	<0,001*	21 (33)
pvdA (L-ornithine N5-oxygenase)	11 (38)	9 (26)	0,482	20 (32)
pilA (fimbrial protein)	4 (14)	3 (8)	0,234	7 (11)
pilB (type IV fimbrial biogenesis protein)	1 (3)	2 (5)	1	3 (5)
Biyofilm positive	10 (34)	13 (38)	0,963	23 (37)



Virülans genleri	Diyabetik ayak enfeksiyonu (N=29) (%)	Diğer enfeksiyonlar (N=34) (%)	p	Toplam (N=63) (%)
<i>fliC</i> (flagellar filament structural protein; flagellin)	23 (80)	15 (44)	0,01*	38 (60)
<i>toxA</i> (Exotoxin A)	29(100)	27 (79)	0,041*	56 (89)
<i>phzS</i> (flavin dependent hydroxylase)	18 (62)	3 (8)	<0,001*	21 (33)
Biyofilm pozitif	10 (34)	13 (38)	0,963	23 (37)

Sample	ST	Allele Types						
		<i>acsA</i>	<i>aroE</i>	<i>guaA</i>	<i>mutL</i>	<i>nuoD</i>	<i>ppsA</i>	<i>trpE</i>
DFI	new	48	150	115	11	21	6	31
DFI	new	70	78	83	11	21	4	15
DFI	new	39	75	1	11	21	12	29
DFI	new	82	39	59	13	93	2	35
DFI	new	82	39	59	13	13	2	35
DFI	new	70	78	83	79	21	4	15
DFI	new	63	10	129	21	52	112	34
DFI	new	63	3	94	138	73	1	10
DFI	new	33	140	112	13	93	40	26
DFI	new	109	150	11	73	3	49	15
DFI	new	109	48	11	73	3	49	15
DFI	new	82	39	59	13	93	2	35
DFI	new	63	10	129	21	103	112	34
DFI	new	33	164	115	21	12	104	35
DFI	new	33	75	59	6	40	33	19
non-DFI	new	99	78	11	138	93	4	60
non-DFI	new	99	48	11	11	15	4	21
non-DFI	new	39	48	26	164	27	4	29
non-DFI	new	48	78	11	61	13	4	35
DFI; Diabetic foot infection non-DFI	new	48	78	94	138	3	6	31

DFI; Diabetic foot infection
ST; Sequence type

İRDELEME

- ❖ *fliC*, flagellar filament yapısal proteininin (flagellin) sentezinden sorumlu olup bakterilerin yaranın yüzeye yapışmasını kolaylaştıran bir virulans faktörüdür.
- ❖ İnfeksiyon gelişimi ve biyofilm oluşumu yara ortamında bakteri yapışmasına bağlıdır.
- ❖ Kutanöz yara infeksiyonunun ilk aşamalarında bakteri hücreleri subkutan doku ile etkileşime girer ve translokasyon veya eklenme olmak üzere iki ayrı yüzey ilişkili davranış gösterir.
- ❖ Bakterinin doku içinde toplanması ve hücreler arasında hareketi flagellum bağımlıdır ve *FliC*, flagellum filamentinin temel yapısal bileşenidir.
- ❖ Roberts ve arkadaşları manuka balı içerikli yara örtülerinin *P. aeruginosa*'da *fliC*'nin bastırılmasını ve bu şekilde bakterinin motilitesinin azaltıldığını göstermişlerdir.

Caiazza NC, et al. *J Bacteriol* 2007;189:3603-12.
Burrows LL. *Annu Rev Microbiol* 2012;66:493-520.
Kearns DB. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:634-44.
Roberts AE, et al. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:716-25.

İRDELEME

- ❖ *ToxA* Eksotoksin A'nın üretiminden sorumlu virulans genidir ve çalışmamızda tüm diyabetik ayak infeksiyonu etkenlerinden izole edilmiştir.
- ❖ Yapılan çalışmalarda yara infeksiyonlarından izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında bu genin saptanma oranı %90-100 arasındadır.
- ❖ Gram negatif bakterilerde 6 sekretuar sistem (T1SS to T6SS) bulunmaktadır ve *P.aeruginosa*da bulunan T2SS and T3SS bir çok farklı virulans faktörünü sekrete eder.
- ❖ Eksotoksin A tip iki sekretuar sistemin temel üyesidir ve yara iyileşmesinin durdurulması ile inflamatuvar reaksiyonun gelişmesinden sorumludur.
- ❖ Eksotoksin A üreten suşların üretmeyenlere göre 20 kat daha fazla virulan suşlar olduğu gösterilmiştir.

Wolf P, Elsasser-Beile U. *Int J Med Microbiol* 2009;299:161-76.
Amirmozafari N, et al. *Arc Iran Med* 2016;19:353-8.
Nikbin VS, et al. *Iran J Microbiol* 2012;4:118-23.
Bleves S, et al. *Int J Med Microbiol* 2010;300:534-43.
Miyazaki S, et al *J Med Microbiol* 1995;43:169-75.
Yousefi-Avarvand A, et al. *Int J Mol Cell Med* 2015;4:167-73.

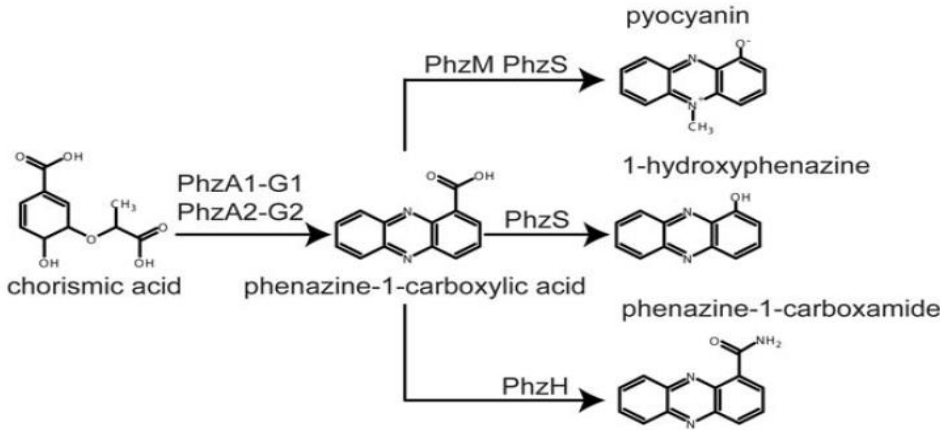
İRDELEME

- ❖ Exotoxin A bir ADP-riboziltransferazdır.
- ❖ Konak hücrelerinde elangelasyon faktör 2'yi baskılayarak konak hücrenin protein sentezini translokasyon aşamasında durdurur ve hücrenin ölümüne yol açar.
- ❖ Ek olarak bu virülans faktörü çoğul direnç ile ilişkili bulunmuştur.
- ❖ Yakın zamanda yapılan bir in-vitro çalışma, negatif basınçlı yara tedavisinin *ToxA* genini baskıladığı ve buna bağlı olarak Eksotoksin A üretimini azalttığını göstermiştir.

Wolf P, Elsasser-Beile U. *Int J Med Microbiol* 2009;299:161-76.
Amirmozafari N, et al. *Arc Iran Med* 2016;19:353-8.
Yousefi-Avarvand A, et al. *Int J Mol Cell Med* 2015;4:167-73.
Fito-Boncompte L, et al. *Infec Immun* 2011;79:1176-86.
Lee VT, et al. *Infec Immun* 2005;73:1695-705.
Rumbaugh KP, et al. *J Surg Res* 1999;82:95-105.
Khosravi AD, et al. *Burns* 2016;42:1116-20.
Wang GQ, et al. *BioMed Res Int* 2016:7986234.

İRDELEME

- ❖ *phzS* flavin bağımlı hidroksilaz enziminin sentezini sağlar.
- ❖ Bu gen *phzM* ile beraber fenazin 1 karboksilik asitten pyosiyenin sentezlenmesinde görev alır.
- ❖ Ayrıca *phzS* tek başına 1-hidroksifenazin sentezinde rol oynar.
- ❖ Pyosiyenin *P.aeruginosa*'nın önemli virulans faktörüdür ve reaktif oksijen radikallerinin (süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi) üretilmesine yol açan mekanizmaları harekete geçirerek konakta doku hasarının oluşmasına neden olur.
- ❖ Pyosiyenin üretiminin azaltılması bakterinin oluşturduğu patolojik tablonun hafifletilmesine yol açabilir.



Greenhagen BT, et al. *Biochemistry* 2008;47:5281-9.
Lau GW, et al. *Trends Mol Med* 2004;10:599-606.
Lau GW, et al. *Infec Immun* 2004;72:4275-8.
Look DC, et al. *J Immunol* 2005;175:4017-23.
Sinha S, et al. *Chem Res Toxicol* 2015;28:175-81.

İRDELEME

❖ *phzS* nin tek başına üretilmesinde rol oynadığı 1-hidroksifenazin de NADPH veya NADPH ve sitokrom P450 redüktaz ile birlikte fizyolojik koşullarda süperoksit radikallerinin üretilmesine yol açarak doku hasarına neden olur.

❖ Glasser ve arkadaşları 1-hidroksifenazin, pyosiyenin ve fenazin 1-karboksilik asidin elektron taşıyıcı sistem olarak çalışarak *P.aeruginosa*'nın anaerobik koşullarda yaşamasını sağladıklarını göstermişlerdir.

❖ Diyabetik ayak patolojisinin önemli mekanizması doku beslenmesinin bozulmasıdır ve bu faktörler yeterli oksijenasyon sağlanamayan diyabetik ayak yarasında bakterinin yaşamasını kolaylaştırabilir.

Diyabetik Ayak Ülserlerinde Biyofilm

- Diyabetik ayak yaralarında mikroorganizmaların biyofilm üretimi %26,5 - 82,5

James GA, et al. *Wound Repair Regen* 2008;16:37-44

Malik A, et al. *Diabetes Metab Syndr* 2013;7:101-7

Öztürk B, Ertuğrul MB., Çörekli E. 17. Klimik Kongresi 2015 Poster bildiri

- Biyofilm varlığı kronik yaraların iyileşmesinde birincil engeldir
- Matür biyofilm içindeki bakterilerin MİK değerleri in-vitro sonuçlarından 100 - 1000 kat daha yüksektir
- *P.aeruginosa* ve *S.aureus* kronik yaralardaki biyofilmden sorumludur

Hoiby N, et al. *Int J Antimicrob Agents* 2010, 35(4):322-32

SONUÇ

- ❖ Çalışmamız sonucunda diyabetik ayak infeksiyonlarından izole ettiğimiz *P.aeruginosa* suşlarında üç virulans geni diğer infeksiyonlardan izole edilenlerden istatistiksel olarak daha fazla bulunmuştur.
- ❖ Bunlardan *fliC* yara dokusuna bakterinin penetrasyonundan, *phzS* doku hasarı ve bakterinin anaerobik koşullarda yaşamını sürdürmesinden ve *toxA* ise hücre ölümünden sorumludur.
- ❖ Çoğul dirençli bakterilerle oluşan DAI'nın yüksek amputasyon oranlarına ve tedavi başarısızlığına yol açtığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.
- ❖ *P.aeruginosa*'nın virulans genlerinin baskılanmasına yol açacak yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi tedavi başarısını yükseltebilir ve buna bağlı olarak bu hastalardaki amputasyon oranlarını düşürebilir.

Etik Standartlara Uyum

❖ Çalışma için mali destek alınmamıştır

❖ Çalışma ekibinin herhangi bir çıkar ortaklığı ya da çatışması bulunmamaktadır

❖ Çalışma ekibinin görevleri;

MBE: Örneklerin toplanması, çalışmanın planlanması ve yapılandırılması, taslak sunumun hazırlanması, son metnin hazırlanması ve sunumu

EO: Laboratuvar çalışmasının gerçekleştirilmesi

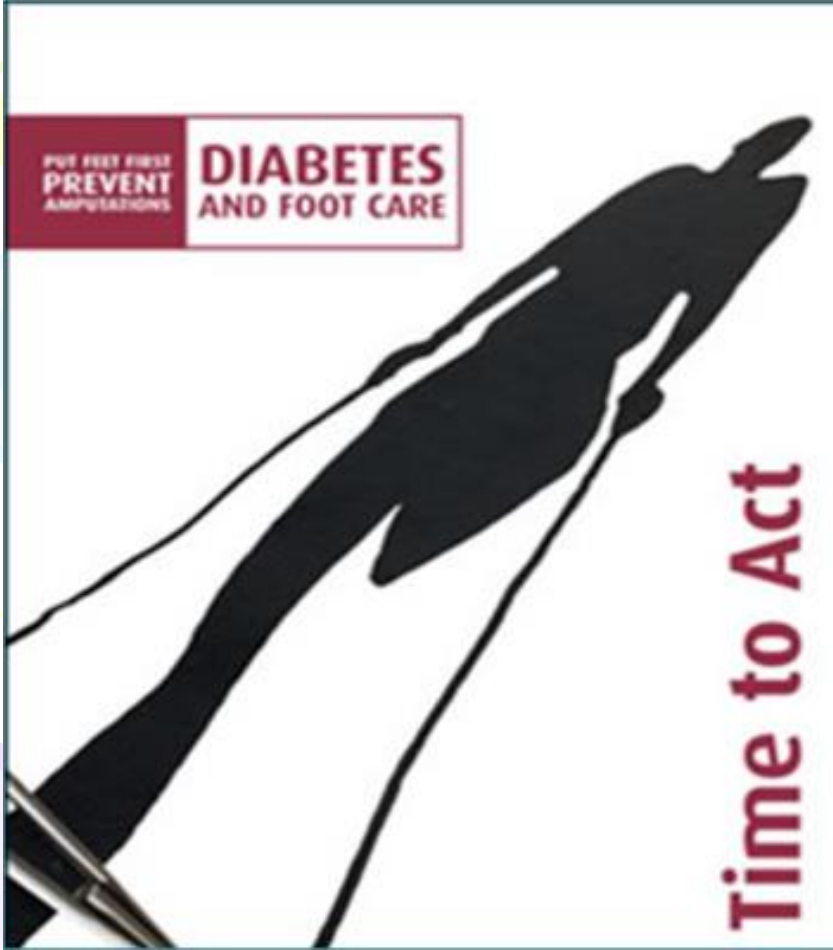
BAL: Çalışmanın yapılandırılması, taslak sunumun hazırlanması, son metnin hazırlanması

AW: Örneklerin toplanması, son metnin hazırlanması

BB: Çalışmanın yapılandırılması, laboratuvar çalışmasının gerçekleştirilmesi, son metnin hazırlanması

❖ Bu çalışma yayımlanmak üzere değerlendirilmesi için *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* adlı dergiye gönderilmiştir ve halen hakem incelemesi aşamasındadır.

Teşekkür Ederim



**KLİMİK DERNEĞİ DİYABETİK AYAK İNFEKSİYONLARI
ÇALIŞMA GRUBU**

<http://www.klimik.org.tr>



INTERNATIONAL WORKING GROUP ON THE DIABETIC FOOT

<http://www.iwgdf.org>