

T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

**KARBAPENEM GRUBU ANTİBİYOTİK TEDAVİSİ ALAN
DİYABETİK AYAK ENFEKSİYONLU HASTALARDA YARA
SIVISI ANTİBİYOTİK KONSANTRASYONU VE İYİLEŞME
SÜRESİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Oktay DEMİRTAŞ
Hv.Tbp.Yzb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakóltesi'nin
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Programı İçin Öngördüğü

TIPTA UZMANLIK TEZİ

olarak hazırlanmıŐtır.

TEZ DANIŞMANI
Doç.Hv.Tbp.Alb. Ömer COŞKUN

ANKARA
2016

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığına:

“Karbapenem grubu antibiyotik tedavisi alan diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalarda yara sıvısı antibiyotik konsantrasyonu ve iyileşme süresi arasındaki ilişki” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Doç.Hv.Tbp.Alb. Ömer COŞKUN
GATA Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji AD.



Üye : Prof.Tbp.Tuğg. Bülent A. BEŞİRBELLİOĞLU
GATA Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji AD.



Üye : Prof.Hv.Tbp.Alb. Vedat TURHAN
GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Servisi



Üye : Prof.Dr. Hürrem BODUR
Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Servisi



ONAY:

Hv.Tbp.Yzb. Oktay DEMİRTAŞ'ın 27 Haziran 2016 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.



Hayati BILGIÇ
Prof. Tbp. Tümamiral
Askeri Tıp Fakóltesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, GATA Etik Kurulu'nun 27 Mayıs 2015 (Son değerlendirme tarihi: 24 Aralık 2015) gün ve KLN.ARŞ.ETK.KRL.:50687469-1491-01-15/SEK 1677 sayılı yazısı ile ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumunun 93189304-514.05.01 sayılı kararı gereği Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı ve Tıbbi Farmakoloji Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanlığında yapıldı.

Çalışmamda bana her türlü yardım ve desteği sağlayan ve eğitimim süresince bilgi ve becerimin artmasında değerli katkıları bulunan, başta Anabilim Dalı Başkanım Sayın Prof.Dr. Bülent Ahmet BEŞİRBELLİOĞLU ve tez danışmanım Doç.Dr. Ömer COŞKUN'a teşekkürü borç bilirim.

Eğitimim süresince değerli katkılarıyla emeği geçen değerli hocalarım Prof.Dr. Can Polat EYİĞÜN, Prof.Dr. İsmail Yaşar AVCI, Prof.Dr. Hakan ERDEM, Prof.Dr. Hanefi Cem GÜL, Doç.Dr. Gürkan MERT, Doç.Dr. Ahmet KARAKAŞ, Yrd.Doç.Dr. Cumhur ARTUK, kliniğimiz uzmanları; Uzm.Dr. Yavuz ÇEKİLİ, Uzm.Dr. Handan İLHAN, Uzm.Dr. Duran TOK ve Uzm.Dr. Emre GÜVEN'e, uzmanlık öğrenciliğim süresince beraber çalıştığım Uzm.Dr. Kazım KIRATLI, Uzm.Dr. Serhat KEŞÇİOĞLU, Uzm.Dr. Gonca FİDAN, Uzm.Dr. Demet EGE, Uzm.Dr. Ertuğrul YAZICI uzmanlık öğrencisi arkadaşlarım, Dr. Pınar Yürük ATASOY ve Dr. Mutahher AKÇAER'e, kliniğimiz hemşireleri ve personeline,

Çalışmamda bilgilerini ve tecrübesini hiç esirgemeyen Tıbbi Farmakoloji Toksikoloji Bilim Dalı Bşk. Prof.Dr. Hüsamettin GÜL ve özellikle değerli vaktini bana harcamaktan çekinmeyen güler yüzlü insan Svİ.Me.Kim.Müh. Ramazan Taner TÜRBE'ye ,

Tezimin değerlendirilmesinde büyük katkısı olan Halk Sağlığı Anabilim Dalından Svİ.Me Volkan TÜRKMEN'e,

Tez çalışmam süresince hayatta iyi-kötü her günümde yanımda olan ve bana hayatı kolaylaştıran biricik eşim Hande DEMİRTAŞ'a, oyun arkadaşım, canım oğlum Yusuf Efe ve ailemizin yeni üyesi kızım Defne'ye, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen tüm aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Karbapenem grubu antibiyotik tedavisi alan diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalarda yara sıvısı antibiyotik konsantrasyonu ile iyileşme süresi arasındaki ilişkinin irdelenmesi

Bu çalışma ile diyabetik ayak enfeksiyonu (DAE) nedeniyle yatarak tedavi gören ve akıntılı açık yarası olan hastalarda kullanılan antibiyotiğin (karbapenem) yara sıvısına ne oranda geçtiği, bu geçişi etkileyebilecek faktörler ile iyileşme süresine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma, GATA Eğitim Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği ve diğer kliniklerde yatarak tedavi gören 18 yaş ve üzeri 20 diyabetik ayak enfeksiyonlu hastada yapıldı. Çalışmamızdaki 20 hastanın 13'ü meropenem, 4'ü ertapenem ve 3'ü imipenem tedavisi almıştı. Serum antibiyotik kararlılık düzeyine (72 saat) ulaştıktan sonraki ilk tedavi dozundan 30 dakika sonra analizler için yara sıvısı ve serum örnekleri alındı. Alınan örneklerdeki antibiyotik konsantrasyonu Farmakoloji ve Toksikoloji laboratuvarında LC-MS/MS cihazında kantitatif (meropenem) ve kalitatif (imipenem ve ertapenem) olarak ölçüldü. Yapılan analizlerde serum ve yara sıvısındaki meropenem konsantrasyonu arasında doğrusal bir ilişki saptandı. Serum ve yara sıvısı meropenem konsantrasyonu üzerine etkili olabilecek değişkenlerin belirlenmesi amacıyla periferik vasküler hastalık, cinsiyet, komorbid hastalık, hiperbarik oksijen tedavisi (HBOT) ve yara ciddiyeti (Wagner evresi) belirlendi. Wagner evresi düşük olan ve HBOT alanlarda meropenemin yara sıvısındaki konsantrasyonu daha yüksek bulundu. Eşlik eden kronik hastalığı olan hastalarda olmayanlara göre meropenem yara sıvısı konsantrasyonu istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.034$). Yara sıvısına antibiyotik geçişini etkileyecek faktörleri daha iyi değerlendirebilmek için daha çok sayıda hasta ile çalışmalar yapılmasının uygun olacağı değerlendirildi. Sonuç olarak; DAE nedeniyle uzun süre antibiyotik tedavisi alan hastalarda klinik iyileşmenin teyidi ve uygulanan tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesi açısından, gereksiz yere uzun süre antibiyotik kullanımının önüne geçmek, maliyeti azaltmak ve cerrahi tedavi gerekiyorsa gecikmeden uygulanması

açısından yara sıvısında antibiyotik konsantrasyonu bakılmasının önemli olduğu değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler : Yara sıvısı, Diyabetik ayak enfeksiyonu, Karbapenem

Yazar Adı : Hv.Tbp.Yzb Oktay DEMİRTAŞ

Danışman : Doç.Hv.Tbp.Alb. Ömer COŞKUN



SUMMARY

Relation between the wound fluid antibiotic concentration and recovery time in diabetic foot infection patients treated with carbapenem.

The aim of this study was to determine the antibiotic (carbapenem) concentration in wound fluid, the factors affecting this antibiotic passage and the relation with recovery time in patients who had hospitalized for diabetic foot infection with open wound. In the study, 20 diabetic foot infection patients (ages $18 \leq$) hospitalized in Gulhane Military Hospital infectious diseases and other clinics were included. Among the 20 patients, 13 had received meropenem, 4 had received ertapenem and 3 had received imipenem. After three days antibiotic treatment (for serum levels of the antibiotic stability), wound fluid and serum samples of patients were collected 30 minutes after the first dose on fourth day. Quantitative meropenem concentration and qualitative imipenem and ertapenem concentrations of serum and wound fluid in samples were calculated by LC-MS/MS device in toxicologic pharmacology laboratory. The analysis of meropenem concentration in wound fluid and serum was a linear relationship. Factors affecting the meropenem passage to the patient serum and wound fluid (peripheral vascular disease, gender, comorbid disease, hyperbaric oxygen therapy (HBOT), Wagner grade) were identified and statistical analysis of the variables were performed. Wound fluid meropenem concentration was higher in patients who has lower Wagner grade and received HBOT. Also wound fluid meropenem concentration was higher in patients with comorbid diseases when compared with patients without comorbid diseases and it was statistically significant ($p=0.034$). To assess the factors that may influence antibiotic passage to wound fluid, future studies with more patients should be done for a better evaluation. As a result, assessing the wound fluid antibiotic concentration is important to determine the treatment efficiency and clinical improvement in diabetic foot infection patients receiving long-term antibiotic treatment. It is also important to avoid unnecessarily long-term antibiotic use, to save costs and to perform surgery without delay (if needed).

Keywords : Wound fluid, Diabetic foot infection, Carbapenems
Author : Capt. Oktay DEMİRTAŞ, M.D.
Counselor : Assoc. Prof. Ömer COŞKUN, M.D.



İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diyabetes Mellitus	3
2.2. Diyabetik Ayak Yarası	4
2.2.1. Epidemiyoloji	5
2.2.2. Patofizyoloji.....	5
2.2.3. Tanı	10
2.2.4. Sınıflama	14
2.2.5. Tedavi	17
2.2.6. Önleme	27
3. GEREÇ ve YÖNTEM	28
3.1. Çalışma Grubu ve Örneklerin Toplanması	28
3.1.1. Hasta Grubu	28
3.1.2. Kontrol Grubu	29
3.2. Gerekli Cihaz ve Kimyasal Maddeler	29
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.2.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	30
3.3. Yöntemler.....	31
3.3.1. Çözeltilerin Hazırlanması	31
3.3.2. Hastalardan Örneklerin Alınması ve Yapılan Ölçümler	32
3.3.3. Quadropole Mod Taramaları	32

3.3.4. Analiz Parametreleri.....	35
3.3.5. İstatistiksel Analizler.....	36
4. SONUÇLAR	37
4.1. Kromatogramlar	37
4.2. Metod Validasyonu	42
4.2.1. Doğruluk (Accuracy).....	42
4.2.2. Seçicilik (Selectivity).....	42
4.2.3. Tekrarlanabilirlik	42
5. BULGULAR.....	43
5.1. Hastaların Yara Sıvısı ve Serum Konsantrasyonları	43
5.2. Hastaların Demografik ve Epidemiyolojik Özellikleri	44
5.3. Hastaların Klinik ve Laboratuvar Özellikleri.....	45
6. TARTIŞMA.....	48
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
8. KAYNAKLAR	54

SİMGELER VE KISALTMALAR

AGE	:	İleri Glikasyon Son Ürünleri
BT	:	Bilgisayarlı Tomografi
°C	:	Celsius Derecesi
cm²	:	Santimetre Kare
CRP	:	C-Reaktif Protein
DAE	:	Diyabetik Ayak Enfeksiyonu
DM	:	Diyabetes Mellitus
DUSG	:	Doppler Ultrasonografi
EGF	:	Epidermal Büyüme Faktörü
ESH	:	Eritrosit Sedimentasyon Hızı
eV	:	Elektron Volt
GATA	:	Gülhane Askeri Tıp Akademisi
gr	:	Gram
HBOT	:	Hiperbarik Oksijen Tedavisi
HPLC	:	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
Hz	:	Hertz
IDF	:	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IDSA	:	Amerikan Enfeksiyon Hastalıkları Derneği
IS	:	Uluslararası Standart
LC_MS/MS	:	Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi Sıralı Kütle Spektrometresi
LOD	:	Tayin Limiti
LOQ	:	Ölçüm Limiti
MBK	:	Minimum Bakterisid Konsantrasyon
MİK	:	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
µg	:	Mikrogram
ml	:	Mililitre
MRG	:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRM	:	Çoklu Reaksiyon İzleme
ng	:	Nanogram
PVH	:	Periferik Vasküler Hastalık

PBP	:	Penisilin Bağlayıcı Protein
rpm	:	Dakikada devir sayısı
RT	:	Alıkönma Zamanı
UFLC	:	Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi
USG	:	Ultrasonografi
UV	:	Ultraviolet
VAC	:	Vakum Yardımlı Kapama Sistemi
V	:	Volt



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
3.1. Q1,Q2 ve Q3 sisteminin LCMS/MS cihazında şematizasyonu	33
3.2. Meropenem metodunun MS/MS parametreleri	34
3.3. Meropenem metodunun LC parametreleri	34
3.4. Meropenem metodunun LC gradient eğrisi	35
4.1. Kontrol serumunda (meropenem kullanmayan hasta serumu) meropenem ve IS kolşisine ait kromatogram	37
4.2. Meropeneme ait alan hesaplaması yapılmış kromatogram	38
4.3. IS Kolşisine ait alan hesaplaması yapılmış kromatogram	38
4.4. Boş seruma ait kromatogram	39
4.5. Meropenem tedavisi uygulanan bir hastadan damar içi enjeksiyon sonrası 30.dk da alınan serumda meropenem ve IS kolşisin piki.	40
4.6. Yara sıvısı emdirilmiş Whatman filtre kağıdı meropenem piki.	40
4.7. Meropenem standartına ait kalibrasyon eğrisi.	41
5.1. Hastaların meropenem yara sıvısı ve serum konsantrasyonları eğrisi	43

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
2.1. Diyabetik ayak ülserlerinin özellikleri	6
2.2. Wagner sınıflaması	15
2.3. Teksas sınıflaması	15
2.4. PEDIS ve IDSA sınıflaması	16
2.5. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında etiyoloji	18
2.6. Diyabetik ayak enfeksiyonları klinik şiddetine göre önerilen ampirik antibiyotik rejimleri	20
5.1. Hastaların yara sıvısı ve serum konsantrasyonları	43
5.2. Hastaların demografik ve epidemiyolojik özellikleri	45
5.3. Hastaların klinik, laboratuvar özellikleri ve meropenem konsantrasyonları	45
5.4. Diyabet dışı kronik hastalık varlığı ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi	46
5.5. Wagner evresi ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi	46
5.6. Cinsiyet ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi	46
5.7. Periferik vasküler hastalık ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi	47
5.8. HBOT ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi	47

GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM) hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde yaşam tarzındaki hızlı değişim, obezite ve fiziksel inaktivitenin artmasıyla birlikte giderek daha sık görülen multisistemik bir hastalıktır. Diyabet hastalarının çoğu Tip 2'dir. Dünya genelinde 1980 yılında 108 milyon DM hastası varken bu sayı 2014 yılında 422 milyona ulaşmıştır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre DM'li kişilerin %50'sinin hastalıklarının farkında olmadığı sonucuna varılmıştır. Diyabet ve komplikasyonlarının hastalara ve sağlık hizmetleri sistemine ekonomik yükü oldukça yüksektir (1).

Diyabetik ayak ise DM'li hastalarda sıklıkla yetersiz ayak bakımına bağlı olarak meydana gelen, uzun ve ciddi tedavilere gereksinim gösteren önemli bir komplikasyondur. Diyabetik ayak nedeni ile yatırılan hastaların hastanede kalış süreleri diğer hastalara göre iki kat, yatış maliyeti ise üç kat fazladır (2).

Diyabetik ayak ülserlerinin zemininde periferik nöropati ve iskemi yatmaktadır. Diyabetli hastalarda görülen komplikasyonların yaklaşık %5'ini diyabetik ayak ülseri oluşturmaktadır. Bununla birlikte hastaların %15-25'inin yaşamları boyunca bir ayak ülserasyonu gelişebileceği ve bu yaraların %50'den fazlasında enfeksiyon oluşabileceği tahmin edilmektedir. Ülser oluşuktan sonra sonuçları ciddi olabilmektedir. Non-travmatik ekstremitte amputasyonlarının %50-70'inin sebebi diyabettir (3, 4). Dünyada her 30 saniyede bir, diyabetik ayak ülseri nedeniyle bir hastanın ayağının kesildiği tahmin edilmektedir. Diyabetli hastalar çeşitli nedenlerle enfeksiyonlara daha yatkındırlar. Diyabet hastalarında primer immün sistem bozukluğu (otoimmünite) olduğu bilinmektedir. İnflamatuvar yanıtta bozukluklar olduğu gösterilmiştir. Vasküler yetersizlik ve nöropati diyabetli hastalarda enfeksiyon gelişimini kolaylaştırmaktadır (5).

Çalışmamızda diyabetik ayak enfeksiyonu (DAE) nedeniyle hastanemizde yatarak tedavi gören hastalarda; (i) yara sıvısında antibiyotik (karbapenem grubu) konsantrasyonunun ölçülmesi, (ii) antibiyotiğin yara sıvısına geçişini etkileyen faktörlerin saptanması, (iii) yara sıvısı antibiyotik

konsantrasyonu ile yara iyileşmesi arasındaki ilişkinin belirlenmesi, (iv) antibiyotik tedavisinin etkinliğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.



GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus, insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, akut ve kronik komplikasyonları olan bir hastalıktır. Pankreastan salınan insülin hormonunun etkin kullanılmadığı durumlarda glikoz hücrelerde kullanılmaz ve kan glikozu hiperglisemik seyreder.

Hiperglisemiye bağlı olarak gelişen poliüri, polidipsi, kilo kaybı, görmede bulanıklık gibi semptomlar DM tanısı için alarm semptomlardır (6). DM, tip 1 ve tip 2 olarak ikiye ayrılmaktadır.

Tip 1 DM; pankreasın insülin üreten beta hücrelerine karşı otoimmün yanıt gelişmesi sonucu oluşur. İnsülin üretilemez ve biyoregülatör uygun olarak dışarıdan insülin desteği gereklidir. Her yaştan insanı etkilemesine rağmen genellikle genç erişkin ve çocukluk çağında görülür. Tip 2 DM; en sık görülen diyabet tipidir. İnsülin direnci ya da insülin sekresyon bozukluğu nedeniyle olur. İleri yaş, obezite, fiziksel aktivite azlığı, gestasyonel diyabet öyküsü, hipertansiyon ve dislipidemisi olan kişilerde daha sık görülür. Tip 1 DM'e göre hiperglisemi yavaş gelişir ve diyabet semptomlarının ortaya çıkması uzun zaman alabilir. Hatta tanı makro-mikrovasküler hastalıkların varlığı ile konabilir (7).

Diyabetes mellitus özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunudur. Dünya genelinde DM görülme sıklığı ülkeden ülkeye değişmekle beraber %1-55 arasında bildirilmektedir (8).

Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) tahminlerine göre 2014 yılında bozulmuş glukoz intoleransı olan 316 milyon kişi de diyabet açısından risk altındadır. Türkiye Avrupada DM prevalansının %14.8 ile en yüksek seyrettiği ülkedir. Ülkemizde 2035 yılında 20-79 yaş aralığındaki nüfusta 11.8 milyon diyabetli hasta olacağı ve bu oranla dünyada ilk 20 ülke arasında yer alacağı öngörülmektedir (9).

Diyabetes mellitusun metabolik sorunlarının yanı sıra, bu hastaların uzun dönem hiperglisemiye maruz kalmaları; nefropati, nöropati, retinopati ve

ateroskleroz gibi mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların gelişmesine de neden olmaktadır. Kanda yüksek seyreden şeker düzeyleri sonucu oluşan ileri glikasyon son ürünlerinin (advanced glycation end products, AGE) bu komplikasyonların gelişiminde rol aldığı düşünülmektedir.

Diyabetes Mellitusun Akut Komplikasyonları:

- Hipoglisemi
- Diyabetik hiperozmolar non-ketotik koma
- Diyabetik ketoasidoz
- Laktik asidoz

Diyabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları:

- Makrovasküler komplikasyonlar
 - ✓ Hipertansiyon
 - ✓ Koroner arter hastalığı
 - ✓ Serebrovasküler hastalık
- Mikrovasküler komplikasyonlar
 - ✓ Diyabetik nefropati
 - ✓ Diyabetik retinopati
 - ✓ Diyabetik nöropati
- Diğer kronik komplikasyonlar
 - ✓ Gastrointestinal (gastroparezi, diyare)
 - ✓ Genitoüriner (üropati, seksüel disfonksiyon)
 - ✓ Dermatolojik
 - ✓ Kemik ve mineral metabolizma bozuklukları
 - ✓ Diyabetik ayak yarası
 - ✓ Psikolojik problemler ve psikiyatrik bozukluklar

2.2. Diyabetik Ayak Yarası

Diyabetik ayak yarasının gelişmesinin pek çok nedeni olmakla birlikte başlıca neden diyabetle ilişkili vasküler hastalığın ve nöropatinin kombine etkisidir. Diğer nedenler dışlandıktan sonra, ayak lezyonunda kızarıklık,

sıcaklık artışı, şişlik, duyarlılık veya ağrı gibi inflamasyonun klasik bulgularının en az ikisinin varlığında ya da pürülan akıntı varlığında DAE düşünülmelidir (10). Diyabetik ayak ülseri periferik nöropati, periferik damar hastalığı, arteriyel yetmezlik, travma ve enfeksiyona yatkınlık gibi çeşitli risk faktörlerinin karmaşık bir sonucudur. Periferik nöropatiler sonucu gelişen tekrarlayıcı travma oluşumu, basınç noktalarında değişim ve vücut ağırlığının asimetrik iletimi de diyabetik ayak oluşumuna neden olmaktadır (11, 12). Ayrıca hastalarda “çekiç parmak”, “topuk diken”, “Charcot eklemi”, “hallux limitus” gibi ayak deformitelerinin bulunması da diyabetik ayak riskini arttırmaktadır (13).

Diyabetik ayak tanısı alan hastalar, genellikle ayaklarında; karıncalanma, yanma, hiperestezi, sıcak-soğuk duyu kaybı, dokunma duyusu kaybı, kas atrofisi veya ayak yarası yakınması ile başvurmaktadır. Muayene esnasında sırası ile ayağın derisi, duyusu, vasküler yapısı, kemik ve tendonlarının durumu değerlendirilmelidir (2).

2.2.1. Epidemiyoloji

Diyabetik ayak problemleri tüm dünyada yaygın olarak görülür ve hastalar, aileleri ve toplum açısından önemli sosyo-ekonomik yük nedenidir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde diyabeti olan bir kişide hayatı boyunca diyabetik ayak gelişme ihtimali %25’tir. Diyabetli hastaların hastaneye başvuru nedenleri incelendiğinde %20-25 oranında diyabetik ayağın neden olduğu görülmektedir (14, 15).

2.2.2. Patofizyoloji

Diyabetes mellitus hastalarında kronik komplikasyon olarak görülen DAE, genellikle mikroorganizmaların dokulara invazyonu ve dokularda üremesiyle birlikte görülen çoğu zaman travma ya da ülserasyonla başlayan doku yıkımının eşlik ettiği bir durumdur (16). DAE otuz günden uzun süren açık ülserler, kemik prob testi pozitif ülserler, önceki ülser hikâyesi, nöropati varlığı, amputasyon hikâyesi ve periferik arter hastalığı öyküsü gibi birçok faktörle ilişkilidir (17).

Tüm DAE önceden varolan bir ülserin enfekte olması sonucunda gelişmez. Fakat ayak ülseri mevcudiyeti ile ayak enfeksiyonu gelişimi arasında doğrudan bir ilişki vardır. Nöropatik ve nöro-iskemik ülserlerin varlığı enfeksiyon gelişiminde yüksek risk oluşturmaktadır (18). Diyabetik ayak ülserlerinin özellikleri Tablo 2.1’ de görülmektedir.

Tablo 2.1. Diyabetik ayak ülserlerinin özellikleri

Ülser sınıflandırması	Alt ekstremité-ayak ve ülser özellikleri
Nöropatik	• Otonomik, duyu ve motor fonksiyon azalmış/yok • Zayıf ayak nabazanı ile sıcak ve iyi perfüze ayak • Vezikül oluşumuna eğilimli kuru cilt • Yüksek ayak bileği / brakiyal basınç indeksi (>1.3) • Aşırı sürtünme ve basınca bağlı nöropatik ülser oluşumuna meyilli plantar deri • Büyümeye meyilli nasır plakların altında ağrısız nöropatik ülserler • Kenarları sık sık zarar gören ülser • Tabanı derin yapılara ulaşan ülser
Nöroiskemik	Nöropatik karakterli fakat iskemik komponenti de olan ülserler; • Otonomik, duyu ve motor fonksiyon azalmış/yok • Vezikül oluşumuna eğilimli kuru cilt • Azalmış ya da palpe edilemeyen ayak nabazanları • Düşük ayak bileği / brakiyal basınç indeksi (<0.7)
İskemik	• Normal nörolojik fonksiyon • Azalmış ya da palpe edilemeyen ayak nabazanları • Soğuk ve atrofik periferik dokular • Bilek / brakiyal basınç indeksi [ABPI]<0.7 • Kritik ekstremité iskemisi [dorsalis pediste veya tibialis posterior da sistolik kan basıncı <50mmHg] • Ekstremité ve ayak arterlerinde monofazik ve tıkalı dUSG

Tablo 2.1.(Devam) Diyabetik ayak ülserlerinin özellikleri

	• Kemik çıkıntılarının travma ve basınca bağlı oluşturduğu iskemik ülserler (interfalangeal eklem birleşim yerleri, stiloid ve malleol lateralinde) • Küçük ve çok ağrılı iskemik ülserler (nöropatik olmayan hastada)
--	--

Diyabetik ayak ülseri nöropati, iskemi veya her ikisinden kaynaklanabilir. Diyabetik ayak ülser fizyopatolojisinde periferik nöropati, vasküler hastalıklar (arteriyel dolaşım), inflamatuvar sitokinler ve enfeksiyona yatkınlık gibi birçok faktör rol oynar (19). İyi regüle olmayan diyabetin yanında eşlik eden yine diyabetin neden olduğu nöropati, periferik vasküler hastalık, enfeksiyon gibi nedenlere zamanında müdahale edilmezse osteomyelite ve amputasyonlara neden olabilir (20).

Nöropati: Diyabetik hastalarda nöropati motor, otonomik ve duysal olarak gelişir. Nöropati ve hiperglisemi özellikle lökosit diapedezini, kemotaksisini, fagositozunu ve intrasellüler lizisi bozar; buna kollajen metabolizmasındaki bozulmanın da eklenmesi, enfeksiyonun ve yaranın iyileşmesini güçleştirir. Diyabetik sensorimotor nöropati Diyabetik ayak yaralarının en sık nedenidir. Nöropati daha çok metabolik polinöropati şeklinde görülür. Simetrik, kronik ve distal yerleşimli olup alt ekstremitelerde daha belirgindir; çorap şeklinde tutulum gösterir. Duyusal tutulum ağrı ve sıcaklık algısının bozulmasına yol açar, ayağı travmalara açık hale getirir (14).

Hastalar özellikle alt ekstremitelerinde meydana gelen duyu kaybının farkında değildir. Ağrı duyusunun kaybı nedeniyle ayaklarında oluşan nasır, yanık gibi lezyonları ihmal eder ve diyabete ikincil gelişen retinopati nedeniyle de görmeleri azaldığı için gangrene kadar ilerleyebilen lezyonları geç fark edebilirler (21).

Nöropati duyuları, hareketi ve etkilenen sinire bağılı olarak işlevleri etkileyen bir durumdur. Diyabetli hastaların %66 kadarı alt ekstremitesinde periferik nöropati ile karşı karşıyadır (22, 23).

Motor nöropati nedeniyle ayak içindeki kaslarda meydana gelen atrofi, anatomik deformitelere ve yük taşıyan bölgelerin değişmesine neden olur. Charcot ayağı, çekiç ve pençe ayak gibi deformiteler gelişir. Ayrıca ayak kaslarında atrofiye neden olup anatomiye etkilediği için osteomyelit gelişimine de neden olabilir (24).

Duyusal nöropati ekstremitelerde bulunan duyu sinirlerini harab eder. Ayakta tekrarlayan yaralanmalar deri bütünlüğünü bozar ve kronik ülser oluşturan iyileşmemiş yaralarda mikrobiyal invazyon artar. Koruyucu olan duyunun kaybı ülsera yol açar. Uygunsoz ayakkabı kullanımı, ısıya maruz kalma ya da çeşitli yabancı ajanlar yaralanmalara neden olabilir (25).

Otonom nöropati ayakta ter ve yağ bezlerinin fonksiyonlarının kaybına, deride çatlaklara ve kurumaya neden olabilir. Sonuçta, ayağın doğal nemlendirici özelliği kaybolur enfeksiyon gelişimine karşı daha savunmasız hale gelir.

Motor, duysal ve otonomik nöropati deri bütünlüğünün bozulmasına, enfeksiyona yatkınlığa ve anjiopatiye neden olarak sonuçları etkiler. Enfeksiyon diyabetik ayakların yaklaşık %60'ında görülür.

Periferik Vasküler Hastalık: DM'li hastalarda kapiller bazal membranında kalınlaşma, arteriyoler hiyalinoz ve endotel proliferasyonu sonucu ortaya çıkan ateroskleroz kaynaklı periferik arter hastalığı ekstremitelerde hem küçük hem de büyük damarları etkiler. Nöropatinin de etkisiyle kanlanma azalmaktadır. Büyük damarlardan posterior tibial arter, anterior tibial arter ve peroneal arterde kan akımı azalır. Diyabet ilerledikçe bu arterlerin bozulma şiddeti artar. Diyabetlilerde diyabeti olmayanlara göre periferik arter hastalığı riski 4 kat artmıştır. Ayrıca bu risk diyabet süresi ve yaşla birlikte artış gösterir. Diyabetli hastalarda sıklıkla erken yaşlarda başlayan arteriyoller ve kılcalları içeren mikroarteriyel tıkaçıcı olmayan disfonksiyon gelişebilir. Mikroarter basıncı artar ve endotel hasarına yol açan

akış sınırlı kılcal kapasitesi ile sonuçlanan skleroza neden olur. Bu durum vazokonstriksiyon yanıtı da dâhil olmak üzere otoregülasyon fonksiyonunun kaybına neden olur, lökosit migrasyonu ve oksijen difüzyon kapasitesi bozulur. Otonomik nöropatiye bağlı arterio-venöz şantlar artış gösterir. Isı ve inflamasyona karşı hiperemik cevap bozulur. Posterior vazokonstriksiyon cevabının azalması ve kapiller permeabilite artışı ödeme yol açar. Diğer düzenleyici nörojenik cevapların kaybı diyabetik hastaların hasara yanıtını değiştirir. Bunun yanı sıra, diyabetik damar intima ve media tabakaları sıklıkla aşırı kalsiyum (Mönckeberg sklerozu) içerir, damarlar katı hal alır (26).

Periferik arter hastalığıyla birlikte yara oluşabilir ve kan akımının yetersiz olması nedeniyle hızla gangrene dönüşür. Ayrıca kapiller beslenme, kutanöz arteryovenöz kaçaklarla arteriyel obstrüksiyon olmadan da bozulur. Bu durum nöropatik ödeme ve sıcaklık artışına neden olur, interlöklinlerin de saliverilmesiyle inflamatuvar bir yanıt ortaya çıkar. Tüm bunlarla birlikte osteoklastik aktivite artar ve bu olaylar Charcot ayağı olarak bilinen nöroartropatiyle sonlanır. Nöropatiye eşlik eden iskemi varlığı, metabolik artıkların uzaklaştırılmasına engel olarak yaranın iyileşmesini zorlaştırır (14).

Enfeksiyon: Diyabetik ayak patofizyolojisinde yer alan bir diğer faktördür. Bakteriyel ya da özellikle tırnaklardan kaynaklanan fungal enfeksiyon neden olabilir. Ayak tırnağındaki ve/veya parmak arasındaki mantar enfeksiyonları bakterilerin girişi için kolaylaştırıcı bir faktör ve giriş kapısı olarak rol oynar. Enfeksiyon ekstremitayı ya da hayatı tehdit eder duruma gelene kadar farkedilmeyebilir. Diyabetik ayak ülserlerinde aktif ya da pasif (biyofilm) enfeksiyon olabilir. Aktif enfeksiyonda eritem, ödem, pürülan akıntı, kötü koku gibi klasik bulgular vardır. Taşikardi, ısı artışı, lökosit artışı gibi bulgular diyabetlilerde geç döneme kadar hissedilmeyebilir. İlk bulgu kan glikoz seviyelerinin artışı ya da grip benzeri bulgular olabilir (27).

Kronik ayak ülseri kolayca aerobik cilt florası ile kolonize olabilir. Genel olarak, çoğu DAE polimikrobiyaldir. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* ve *Bacteroides fragilis* DAE en sık nedenleri

arasındadır. Diğer mikroorganizmalar özellikle nöro-iskemik ayak ya da nekrotik yaralarda subdermal dokuları kolonize ve invaze eden Enterokok türleri gibi fakültatif anaerobik bakterilerdir (18).

Biyofilm; bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanır. Kronik yara ve ülserlerin iyileşmemesinde önemli rol oynar ve yüzeyinde bakteri kolonileri oluşur. Biyofilm bakterilere fiziksel bir koruma sağlar, antimikrobiyal ajanlar etkisizdir. Biyofilm kronik yaraların %60'ında mevcut iken akut yaraların %6'sında görülebilir. Biyofilm debridmandan 10 saat sonra yeniden oluşmaktadır. Tekrar oluşmasını engellemek için acil antimikrobiyal tedavi ile biyofilm tabakasını bozmak için yaranın debridmanı gerekmektedir (28, 29).

Diğer Nedenler: DAE gelişiminde diğer faktörler düşük sosyo-ekonomik düzey, ileri yaş, uzun süreli kontrolsüz diyabet, eğitim düzeyi ve özbakım eksikliği sayılabilir. Kan şekerinin kontrolsüz olması ve nötrofil işlevlerinin bozulması, yara iyileşmesi ve kollajen yapımında yetersizliğe neden olarak yaranın kronikleşmesine neden olur (30).

2.2.3. Tanı

Ayak derisi normal şartlarda yumuşak ve nemlidir. Üst kısmında kıllar bulunmaktadır. Kuruma ve çatlaklar diyabetik nöropatiyi düşündürmelidir. Ayak derisinin renk durumu, parmak aralarında mantar ve yara mevcudiyeti inspeksiyonla incelenmelidir. Vasküler yapının değerlendirilmesinde, inspeksiyon ile cilt rengi ve kıl durumuna dikkat edilmelidir. Sonrasında bilateral ısı değerlendirilmesi yapılır. Eğer dolaşım problemi mevcut ise ayak soğuk, soluk, kurudur ve kıllar dökülmüştür. Palpasyon ile Arteria Dorsalis Pedis, Arteria Femoralis, Arteria Tibialis Posterior palpe edilir. Gerekli görülürse dUSG için hasta yönlendirilmelidir.

DAE'nin değerlendirilmesi dikkatli bir şekilde, sistematik olarak yapılmalıdır. İlk müdahale yaranın temizlenmesi, nekrotik veya gangrenöz materyalin debridmanı ve kör uçlu steril bir prop kullanılarak kemik ile

temasın araştırılmasından oluşur. Bu aşamada elde edilen derin doku örneği kültür için değerlendirilebilir. Poş varlığında aspirasyon kültürü alınır. Yüzeysel sürüntü kültürleri kolonizasyonu yansıtmaması nedeniyle önerilmemektedir. Yüzeysel yaralarda kültür materyeli küretaj veya biyopsi yolu ile elde edilebilir. Hemogram, temel biyokimyasal tetkikler, serum inflamatuvar belirteçleri (eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP)) izlemde ve tedavi modifikasyonunda yararlıdır (31).

Kemik enfeksiyonu tanı ve tedavisi zor bir klinik problemdir. Klinik olarak kemik açıkta ise ya da prop ile palpe edilebiliyorsa çoğunlukla osteomiyelit mevcuttur (32).

Serum İnflamatuvar Belirteçleri: İnflamasyon göstergeleri olan lökosit sayısı, CRP, ESH ve prokalsitonin gibi belirteçler, enfeksiyonla kolonizasyonun ayırt edilmesinde kullanılabilir. Bu belirteçler tek başına DAE tanısı koydurmaz; ancak hem tanıya katkı sağlar hem de enfeksiyonun ciddiyeti hakkında bilgi verir. Diğer lokal enfeksiyonlarda olduğu gibi inflamatuvar belirteçleri kronik vaka olan DAE'nunda sıklıkla yüksek değildir. Osteomiyelitte yumuşak doku enfeksiyonlarına göre CRP, ESH ve akyuvar seviyeleri daha yüksek saptanmaktadır (33).

Serolojik testler tek başına kullanılamaz, ESH >60-70 mm/saat olması osteomiyeliti düşündürmektedir (34). Serum prokalsitonin düzeyi (daha sık komplike enfeksiyonlarda yükselmiş olan) hastalık sınıflaması, enfeksiyon klinik seyri ve inflamasyonun diğer laboratuvar belirteçleri ile birlikte değerlendirilmelidir. Prokalsitonin enfekte diyabetik ülserlerde yüksek saptanmasına rağmen CRP ve ESH kadar karakteristik değildir.

Histopatoloji: Bazı durumlarda osteomiyelit sadece ameliyat sırasında veya perkütan biyopsi yoluyla elde edilen kemik örneği incelenerek teşhis edilebilir. Çoğu kemik enfeksiyonu tanısı için standart kültür ve kemik histopatolojik incelemesiyle olumlu sonuç alınmaktadır. Ne yazık ki, yumuşak doku derin aspirasyon kültürleri, kemik örnekleri ile karşılaştırıldığında yeterince doğru sonuçlar vermemektedir (35).

Kültür: Diyabetik ayak yarasında kültür örneği, yalnız klinik olarak enfeksiyon düşünüldüğü zaman ve mümkünse antibiyotik tedavisi başlamadan önce alınmalıdır. Sadece enfeksiyon varlığını tanımlamak için değil, optimum tedavi yaklaşımını da seçmek için gerekli bir adımdır. Sürüntü kültürü, kolay ve ucuz olmasına rağmen, doku kültürüne göre daha az duyarlı ve özgüldür. Yeni moleküler araçlar cilt dâhil olmak üzere çeşitli kolonize yüzeyler üzerinde mikrobiyota oluşturan mikroorganizmalarda >500 türün algılanmasını sağlar. Kültür için derin doku örnekleri alınmadan önce yara temizlenmeli ve eğer varsa ölü dokular mutlaka debride edilmelidir. Yara temizliğinde steril serum fizyolojik kullanılabilir (36).

Osteomyelit tanısı için altın standart kemik biyopsi materyalinin histopatolojik ve mikrobiyolojik olarak incelenmesidir. Yara kültürleri çoğunlukla kemikteki etken organizmayı yansıtmadığı için kemiğin cerrahi debridman materyali veya perkütan biyopsi materyali tercih edilmelidir (37). Bazen açık yaralar mikroorganizmalarla hatta virülan mikroorganizmalarla kontamine olabilir kültür tek başına enfeksiyonu tanımlamada yetersiz olabilir. Kantitatif mikrobiyoloji kullanarak (örneğin $\geq 10^5$ koloni/gram doku) enfeksiyondan kolonizasyonun ayrımı yapılabilir (38).

Görüntüleme Yöntemleri: Enfekte diyabetik ayak tanı ve tedavi yönetiminde görüntüleme önemli rol oynar. Bütün görüntüleme tekniklerinin amacı enfeksiyon varlığını teyit etmek ve kemik enfeksiyonu (osteomyelit), yumuşak doku enfeksiyonu ve nöro-osteoartropati ayrımını yapmaktır.

Radyolojik Görüntüleme Yöntemleri:

- **Direkt Grafi**

En az iki farklı açıdan çekilen ayak grafisi, hemen her zaman ilk görüntüleme testi olmalıdır. Yaygın olarak kullanılabilir, ucuzdur ve büyük kemiklerde yapısal değişikliklerin yanı sıra doku gazı ve yabancı cisimleri algılayabilir. Genel olarak enfekte diyabetik ayak osteomyelit tanısında duyarlılığı %60 ve özgüllüğü %80'dir (39, 40).

- **Manyetik Rezonans Görüntüleme**

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yaygın kemik ve yumuşak doku tutulumunun varlığını ve kapsamını tespit etmek için mevcut olan en iyi radyolojik görüntüleme tekniği olarak kabul edilir. MRG osteomiyelit varlığında etkilenen kemikte T1 ağırlıklı sekanslarda azalmış kemik iliği sinyali ve T2 ağırlıklı görüntülerde artmış sinyal yoğunluğu gösterir. Diyabetik ayak osteomiyelit tanısı için MRG duyarlılığı ~%90 ve özgüllüğü ~%80'dir (39).

- **Ultrasonografi / Bilgisayarlı Tomografi**

Ultrasonografi (USG) ve bilgisayarlı tomografi (BT), diyabetik ayak hastalıklarının değerlendirilmesinde sınırlı bir rol oynar ve diyabetik ayak kılavuzlarında tavsiye edilmez. Diğer ve daha iyi teknikler mevcut değilse, ultrasonografi yumuşak doku sıvısı koleksiyonları, eklem efüzyonu ve yabancı cisimlerin varlığını tespit etmek için kullanılabilir. BT kortikal erozyon, kemik nekrozu ve yumuşak doku gazının değerlendirilmesi için direkt grafiden daha doğru tercihtir. MRG ile karşılaştırıldığında, yumuşak doku kontrastı daha düşüktür ve sağlıklı ve enfekte doku ayırımı daha zordur (39).

- **Doppler USG**

Periferik arter hastalığı diyabetik hastalarda sıklıkla gelişen ayak sorunlarından biridir. Periferik vasküler hastalık prevalansı diyabetiklerde %10 ve non-diyabetiklerde %2.6'dır. Diyabetiklerde hastanın hikâyesi ve fizik muayenesiyle dUSG kombine kullanımı periferik damar hastalığını ortaya koymakta yeterlidir. Diyabetik hastaların dUSG ile %31'inde semptomsuz periferik arter hastalığı saptanmış. Bununla birlikte, dUSG sonucu patolojik olan hastalarda amputasyon oranları dört kat daha yüksek bulunmuş. Bu nedenle, bir dUSG muayenesi tüm diyabetik hastalar için geçerli olmasa da prognozu değerlendirmek için önerilir (41).

Nükleer Tıp Görüntüleme Teknikleri: Kemik enfeksiyonlarının direkt grafilerde tanınabilmesi için oluşumun üzerinden iki hafta geçmesi gereklidir. Nükleer tıp teknikleri düz grafilere göre daha duyarlı ancak relatif olarak daha az özgündür ve MRG ile karşılaştırıldığında doğruluk oranı düşüktür (42).

- **Kemik Sintigrafisi**

Üç fazlı kemik sintigrafisi kas-iskelet sistemi enfeksiyonlarının tanısında en çok kullanılan nükleer görüntüleme yöntemidir. Bu teknik, yüksek duyarlılık ama düşük özgüllüğe (yalancı pozitiflik) sahiptir. DAE tespiti için üç fazlı kemik sintigrafisi kullanımının duyarlılığı ~%90 özgüllüğü ~%50 tahmin edilmektedir (43).

2.2.4. Sınıflama

Diyabetik ayakların sınıflandırılmasında pek çok farklı yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin hiç biri tek başına tam manasıyla diyabetik ayak lezyonunu tanımlayamamaktadır. En çok kullanılan ve tüm dünyaca kabul gören sınıflama Wagner sınıflamasıdır. Wagner sınıflaması ilk kez 1970'lerde California da Rancho Los Amigos Hastanesinde tanımlanmıştır. Diyabetik ayağı altı gruba ayıran bu sınıflamada Wagner 0-1-2-3 ilk dört grubu oluşturur. Bu grup yumuşak dokudaki yaranın fiziksel derinliğine göre oluşturulmuştur. Wagner 0-1 lezyonu olan hastalar genelde ayakta tedavi edilir. Wagner 2-3 lezyonları olan hastalar genellikle hospitalizasyon gerektirir. Diğer iki grup Wagner 4-5 ise tamamen farklıdır ve ayakta genişlemiş perfüzyon kaybını gösterir. Wagner 4 ayakta lokalize gangren, Wagner 5 ise tüm ayağı saran gangren anlamına gelir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Wagner sınıflaması

Derece	Lezyon
0	Ülser yok- deformite ya da selülit
1	Yüzeyel ülser
2	Derin ülser-tendon/eklem kapsülünü içine alan
3	Derin ülser- abse/osteomyelit ile birlikte
4	Lokalize gangren
5	Generalize gangren

Wagner sınıflaması lezyonun derinliğini tanımlamasına karşın perfüzyon durumu ve enfeksiyon hakkında bilgi vermez.

- **Tektaş sınıflaması**

Diyabetik ayak ülserlerinin risk göstergesi olan Uluslararası Diyabetik Ayak Çalışma Grubu'nun (The International Working Group of The Diabetic Foot- IWGDF) "PEDIS" sınıflaması ya da Wagner sınıflamasının modifikasyonu olan "Derinlik-iskemi Sınıflaması" gibi birçok sınıflama görmek mümkündür (Tablo 2.3). Derinlik-iskemi sınıflandırma sisteminin amacı ayağın vaskülaritesinin ve yaranın ayrımını daha doğru ve dengeli hale getirmektir (44).

Tablo 2.3. Tektaş sınıflaması

Derece	0	1	2	3
Evre A	Epitelize Pre/postülseratif lezyon	Yüzeyel ülser	Tendon-eklem kapsülüne ilerleyen ülser	Kemik-ekleme ilerlemiş ülser
Evre B	A+enfeksiyon	A+enfeksiyon	A+enfeksiyon	A+enfeksiyon
Evre C	A+iskemi	A+iskemi	A+iskemi	A+iskemi
Evre D	A+enfeksiyon+ İskemi	A+enfeksiyon+ İskemi	A+enfeksiyon+ İskemi	A+enfeksiyon+ iskemi

Bir diğerk sık kullanılan sınıflama yöntemi PEDIS sınıflamasıdır. P (perfusion) perfüzyonu, E (extent) boyutu, D (depth) derinliğı, I (infection) enfeksiyonu, S (sensation) duyuyu gösterir. Perfüzyon fizik muayene ve girişimsel olmayan vasküler çalışmalar ile tespit edilir. Posterior tibial arter ve dorsalis pedisten nabız alınması klinik muayene kısmını oluşturur. Noninvaziv kriter olarak ankle-brachial indeks (ABI), toe-brachial indeks (TBI) ve transkutanöz oksijen basıncı (TCPO2) ölçümleri kullanılır. Yara boyutu; büyük çapın küçük çapa çarpılmasıyla elde edilir ve cm² olarak gösterilir. Ölçümleri standardize etmek için genellikle <1cm², 1-3cm², >3cm² gibi gruplamalar yapılır (45). Derinlik; steril sondanın yara içinde ilerlemesine göre ya da görüntüleme yöntemleri ile tespit edilir. Enfeksiyon klinik bulgular ya da beyaz küre değerleri gibi laboratuvar da gözlenen enfektif bulgularla saptanır. Duyu ise; 10 g monofilament veya ayağın bir veya daha fazla bölgelerinde 128-Hz diapozon hissi ile değerlendirilir. Uygulanabilirliğı zor olduğundan IDSA (Amerikan Enfeksiyon Hastalıkları Derneğı) kendi sınıflamaları ile PEDIS sınıflamasını birleştirerek ortak bir sınıflama yapmıştır (Tablo 2.4) (46, 47).

Tablo 2.4. PEDIS ve IDSA sınıflaması

Yaranın Klinik Görünümü	Enfeksiyon Derecesi	
	IDSA	PEDIS
İnflamasyona ait bulgu (eritem, ağrı, indürasyon, duyarlılık, ısı artışı) ve pürülan akıntının olmaması	Enfeksiyon Yok	1
İki veya daha fazla eritemli alan, ancak büyüklükleri 2 cm ² 'yi aşmamış ülsere lezyon, enfeksiyon deri ve/veya yüzeysel cilt altı doku ile sınırlı. Lokal veya sistemik belirti yok.	Hafif	2
Sistemik olarak iyi durumda, metabolik olarak stabil enfekte ayak yarası ve aşağıdaki bulgulardan en az	Orta	3

Tablo 2.4.(Devam) PEDIS ve IDSA sınıflaması

biri olan hasta; 2 cm ² 'den büyük selülit, lenfanjit, gangren, yumuşak dokuda apse ve fasia altına yayılmış kas, tendon, eklem ve/veya kemiği içeren enfeksiyon (sistemik inflamatuvar yanıt sendromu bulguları yok)		
Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu bulguları bulunan ve/veya metabolik olarak stabil olmayan enfekte ayak yarası bulunan hasta (ateş veya hipotermi, taşikardi, hiptansiyon, lökositoz veya lökopeni, asidoz vb.)	Ciddi	4

2.2.5. Tedavi

Diyabetik ayak, uzun süreli, ciddi tedavilere gereksinim göstermesi ve tedavisinin birçok uzmanlık alanını ilgilendirmesi nedeni ile multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Diyabetik ayak tedavisindeki başarı, genelde ileri evrede olan ve amputasyona aday diyabetik ayağın tedavisinden çok, erken evrede teşhis edilen hastaların geç kalınmadan tedavisinin sağlanmasıdır (7). Oksijenlenmeyen dokuların iyileşmesi mümkün değildir, bu nedenle doku perfüzyonunun sağlanması veya düzeltilmesi için çaba sarf edilir. Çoğu DAE ateş, lökositoz gibi sistemik bulgulara neden olmaz. Bu bulgular varsa kliniğin ağırlığına işaret eder (48).

Yara iyileşmesini sağlayabilmek ve bacağı kurtarmak için genel tedavi yaklaşımı; [1] acil ve agresif debridmanlarla ölü ve enfekte dokunun uzaklaştırılması, [2] uygun antibiyotik tedavisi, [3] metabolik kontrol, [4] ayağın yükten ve basıdan kurtarılması, [5] PVH'nin tanısı ve uygun şekilde tedavisi, [6] ayağın işlevinin kazandırılmasıdır (49).

Antibiyotik Tedavisi: Bütün diyabetik ayaklar enfektidir şeklindeki bir değerlendirme doğru olmasa da, enfeksiyon geliştiğinde hastanın ayağını belki de hayatını kaybetme riski mevcuttur. Yara enfeksiyonu olarak kabul gören klinik tanımlama; pürülan sekresyon varlığı ve inflamasyonun en az iki bulgusunun (kızarıklık, ısı artışı, endürasyon, ağrı, gerginlik) varlığıdır. Fakat iskemi ve nöropati de bu belirtileri gösterebildiğinden çok dikkatli olunmalıdır. DAE’de çoğunlukla, aerop ve anaerop bakterileri içeren polimikrobiyal etkenler mevcuttur (Tablo 2.5) (50, 51).

Tablo 2.5. Diyabetik ayak enfeksiyonlarında etiyoloji

Enfeksiyon	Mikroorganizmalar
Selülit	<i>S. aureus</i>
Erizipel	Beta-hemolitik streptokok (A, B, C, G)
Antibiyotik ile tedavi edilmemiş ülser	<i>S. aureus</i> Beta-hemolitik streptokok (A, B, C, G)
Antibiyotik tedavisi almış ya da uzun süreli ülser (genellikle polimikrobiyal)	<i>S. aureus</i> MRSA Koagulaz negatif stafilokok Streptokok türleri Enterokok türleri Enterobacteriaceae <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Diğer nonfermantatif gram(-) basiller <i>Corynebacterium spp.</i> <i>Candida spp.</i>

Tablo 2.5.(Devam) Diyabetik ayak enfeksiyonları etyolojisi

Nekrotizan fasiit veya miyonekroz (genellikle polimikrobiyal)	Anaerobik gram pozitif koklar
	Enterobacteriaceae
	Fermente Gram negatif basiller
	Anaeroblar

DAE sorumlu patojenler; *S.aureus* başta olmak üzere gram (+) koklar, beta-hemolitik streptokoklar (genellikle grup B) ve koagülaz (-) stafilokoklar'dır. Gram (+) koklar genellikle tek etken olarak karşımıza çıksa da, kronik ülser zemininde ve yeni antibiyotik tedavisi almış olanlarda, polimikrobiyal patojenler (aerop gram (+) basil ve gram (+) kok karışımı) enfeksiyondan sorumludur. Diğer patojen bakteriler seyrek de olsa izole edilmektedir.

DAE antimikrobiyal tedavisinde herkes tarafından kabul gören standart bir tedavi rejimi yoktur. Antimikrobiyal tedavi seçimi, enfeksiyonun ekstremitayı tehdit edip etmediği, yaraya ve enfeksiyona ait özelliklere, alınmış kültür ve duyarlılık sonuçlarına göre yapılır. Kültür ve duyarlılık sonuçlarının belli olmasından önce ampirik tedavi başlanır. Çünkü yumuşak dokulardaki enfeksiyon hızla derin dokulara yayılabilir. Kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçları geldikten sonra gerekirse tedavi tekrar düzenlenebilir (47).

Başlangıç antibiyoterapisi, geniş spektrumlu ampirik olarak seçilmelidir (Tablo 2.6). Yaradan alınan kültür ve antibiyotik duyarlılık sonuçlarına ve klinik cevaba göre tedavi modifiye edilmelidir. Antibiyotik seçimi aşamasında, muhtemel enfeksiyon kaynağı olan bakteriler, antibiyotik rezistans paternleri (MRSA, VRE vs), hepatik ve renal yetmezlik durumu, ilaç alerjisi gibi durumlar göz önünde bulundurulmalıdır (31, 52).

Tablo 2.6. Diyabetik ayak enfeksiyonları klinik şiddetine göre önerilen ampirik antibiyotik rejimleri

Enfeksiyonun Şiddeti	Muhtemel patojenler	Antibiyotik
Hafif (genellikle oral ajanlarla tedavi)	<i>S. aureus</i> (MSSA) Streptokok spp	Klindamisin Levofloksasin Amoksisilin-klavunat
	Metisilin-dirençli <i>S. aureus</i> (MRSA)	Doksisiklin Trimethoprim/sulfamethoksazol
Orta (oral ya da parenteral tedavi edilebilir)	MSSA Streptokok spp; Enterobacteriaceae; Zorunlu anaerob	Levofloksasin Seftriakson Ampisilin-sulbaktam Moksifloksasin Ertapenem Tigesiklin Levofloksasin/siprofl oksasin+klindamisin İmipenem
	MRSA	Linezolid Daptomisin Vankomisin
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Piperasilin-tazobaktam
Şiddetli (genellikle parenteral tedavi)	MRSA, Enterobacteriaceae, Pseudomonas ve Zorunlu anaeroblar	Vankomisin + Seftazidim, Sefepim, Piperasilin-tazobaktam, Aztreonam veya Karbapenem

Hafif hatta bazen orta şiddetli enfeksiyonların çoğu monomikrobiyaldir. Sıklıkla *S. aureus* başta olmak üzere gram (+) bakterilerin etken olduğu bu durumda aerobik gram (+) kokları kapsayan dar spektrumlu oral antibiyotiklerle tedavi verilebilir. Bu amaçla ayaktan takip edilen hastalarda amoksisilin-klavulonik asit, sefalekssin, klindamisin, levofloksasin önerilebilir. Anaerobik mikroorganizmalar, hafif ve orta dereceli enfeksiyonlarda nadiren etkindirler. Hasta 48-72 saat içerisinde yeniden değerlendirilir. Eğer iyileşme yok ise parenteral tedavi düşünülmeli ve hastaneye yatırılarak izlenmelidir. Şiddetli sellülitli olan ve hastaneye yatması gereken hastalarda, sefazolin gibi parenteral birinci kuşak sefalosporin tercih edilebilir. Derin ülserlerde verilen tedavinin enterik gram(-) basilleri ve anaerobları da kapsamı uygundur.

Ağır/orta-şiddetli enfeksiyonlarda, tedaviye geniş spektrumlu ajanlarla başlanmalıdır. Seçilen antibiyotiğin, gram (+) koklara, gram (-) basillere ve anaerob organizmalara etkili olmasına özen gösterilmelidir. Yeterli ve hızlı doku konsantrasyonları sağlamak için tedaviye başlangıçta B-laktam/B-laktamaz inhibitörleri (ampisilin/sulbaktam ve piperasilin/tazobaktam) ile parenteral olarak başlanmalıdır. Ampisilin/sulbaktam enterokoklara karşı etkili olup akut enfeksiyonu olan hastalarda en uygun seçenek olabilir (2).

Ciddi ve ekstremiteleri tehdit eden enfeksiyonlarda daima polimikrobiyal etiyoloji söz konusudur. Bu tür olguların tedavisi mutlaka hastaneye yatırılarak yapılmalı ve antibiyotik uygulamasında parenteral yol tercih edilmelidir. Genellikle *P.aeruginosa*'nın başlangıç ampirik tedavisinin etki alanı içerisine girmesinin şart olmadığı kabul gören bir görüştür. Çünkü *P. aeruginosa* bu tür enfeksiyonlarda sık saptanan etkenlerden değildir ve yaralarda kolonizan bir bakteri olarak kabul edilmektedir. Buna rağmen *P. aeruginosa* enfeksiyonunun lokal prevalansı yüksek ise, ayak suyla çok sık temas halindeyse, sistemik toksisite bulgularının bulunduğu hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyon var ise, uzun süreden beri hastanede yatan ve hastane florasıyla kolonize olabileceği düşünülen ve tekrarlayan enfeksiyonlar nedeniyle sık sık hastaneye yatarak tedavi gören hastalarda ve yüzeysel aşınmış yaralarda tedavi planlanırken göz önüne alınması gerekir. Yapılan

çalışmalarda %10'un altında etken olarak izole edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda %4-20 oranlarında etken olarak bildirilmiştir (47, 53).

Ciddi enfeksiyonların tedavisi tek ilaç veya kombinasyon tedavisi şeklinde yapılabilir. Parenteral siprofloksasin ve klindamisin kombinasyonu iyi bir seçenektir. Üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler, antianaerop etkinlikleri iyi olmadığından dolayı, ancak metronidazol, ornidazol veya klindamisin gibi antianaerop bir ajanla kombine olarak kullanılabilir. Nefrotoksisite ve bu hastalardaki diyabetik nefropati olasılığı nedeniyle zorunlu kalınmadıkça aminoglikozid kullanımından kaçınılmalıdır. Sistemik toksisite bulgularının olduğu ve hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyonlarda ise ampirik tedavide imipenem ve meropenem gibi karbapenemler tercih edilebilir.

Enfekte diyabetik ayak ülserlerinde MRSA insidansı son çalışmalarda %10-30 arasında değişmektedir. şiddetli veya uzuv tehdit eden enfeksiyonların başlangıç antimikrobiyal tedavisinde MRSA, B grubu streptokoklar, diğer streptokoklar, *S. aureus*, Enterobacteriaceae, anaerobik gram-pozitif koklar ve *Bacteroides spp.* karşı geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı gereklidir (54).

DAE antibiyotik tedavisi için optimal süre net olmamakla birlikte; hafif-orta dereceli enfeksiyonlar için 1-2 haftalık tedavi etkili iken, daha ciddi enfeksiyonlarda tedavi genellikle 2 hafta ve üzeri sürebilir. Bakteriyemi gelişen hastalarda tedavi süresi en az 2 hafta olmalıdır. Enfekte dokuların yeterli debridmanı, rezeksiyon veya amputasyonunun yapılması tedavi süresini kısaltabilir. Ancak enfeksiyon alanının çok geniş olması, şiddetli gangren/nekrotik doku varlığı, vasküler yapının yetersizliği gibi durumlar antibiyotik tedavisini devam etmeyi gerektirir. Antibiyotik tedavisini kesme kararında enfeksiyonun tüm belirti ve bulgularının gerilemesi yeterlidir, ülserin iyileştirilmesi koşulu aranmamalıdır. Osteomiyelit tedavisi başlangıçta parenteral olmalı ve en az 6 hafta olacak şekilde uzatılmalıdır. Kronik osteomiyelitte kür için genellikle enfekte kemiğin debridmanı veya rezeksiyonu önerilir. Enfekte kemiğin tamamı çıkarıldığı durumda ameliyat sonrası 5 gün gibi daha kısa süreli tedavi yeterli olabilir. DAE tedavisinde

unutulmaması gereken en önemli nokta multidisipliner yaklaşım gerekliliğidir. Enfeksiyonun en uygun antibiyotikle en doğru şekilde tedavisi bile tek başına yeterli değildir. Bu hastalarda tedavi; diyabetin regülasyonu, nekrotik dokuların uzaklaştırılması, cerrahi tedavi, topikal tedavi ve antimikrobiyal tedaviden oluşan bir bütündür (2, 47).

Karbapenemler ve Doku Konsantrasyonları: Karbapenemler ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerdir. Çeşitli kromatografik yöntemler plazma ve serumda karbapenem konsantrasyonlarını ölçmek için geliştirilmiştir (55).

Meropenem:

- **Farmakokinetik**

Meropenem, parenteral olarak kullanılan ve insanlardaki dehidropeptidaz-1 (DHP-1) karşında stabil olan bir karbapenem antibiyotiktir. Bakteri duvar sentezini bozarak bakterisid etki gösterir. Bakteri hücre duvarından kolayca penetre olabilmesi, bütün serin β -laktamazlara yüksek düzeyde stabilite göstermesi ve Penisillin Bağlayıcı Proteinlere (PBP) belirgin affinitesi mevcuttur. Minimum bakterisid konsantrasyonları (MBK) çoğunlukla minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) ile aynıdır.

- **Farmakokinetik**

Böbrek fonksiyonları normal olan deneklerde meropenemin yarı ömrü yaklaşık bir saattir. Plazma proteinlerine %2 oranında bağlanır.

Meropenemin sağlıklı deneklerde, tek dozunun 30 dakikalık intravenöz infüzyon sonucu pik plazma seviyeleri; 250 mg doz için 11 μ g/ml, 500 mg için 23 μ g/ml ve 1 gram için 49 μ g/ml civarındadır. 500 mg'lık intravenöz yoldan doz uygulamasından 6 saat sonra meropenem plazma seviyeleri 1 μ g/ml veya bunun daha altındaki değerlere düşer.

Meropenem, bakteriyel menenjitli olan hastaların beyin-omurilik sıvısı da dahil olmak üzere, vücut sıvılarının ve dokularının çoğuna iyi penetre olur

ve bakterilerin çoğunu inhibe etmek için gerekenden yüksek konsantrasyonlara ulaşır (56).

Debridman ve Pansuman: Metabolik kontrol ve stabilizasyon sağlandıktan sonra, diyabetik ayak tedavisinde ikinci basamak debridmandır. Debridmanın amacı nekrotik dokuların alınması gibi görünse de; yara derinliğinin saptanması, kemik tutulumunun belirlenmesi, drenajın sağlanmasıdır. Debridman sırasında cilt, cilt altı dokusunun canlılığı, fascia, kemik, tendon gibi az kanlanan yapılar da değerlendirilmektedir. Ana prensip bütün nekrotik, cansız, enfekte dokuların temizlenmesi temeline dayanmaktadır. Diğer önemli nokta yara kenarlarında oluşan keratotik kenarların alınmasıdır. Böylece yüzey epitelizeasyonu hızlanmış olmaktadır. Pansumanlar yara bakımının sürekliliğinde önemlidir (57). Diyabetik ayak tedavisinde faydalı olduğu ileri sürülen pansuman malzemeleri, merhemler, solüsyonlar, hücresel ya da doku tabanlı ürünler vardır. Ancak bu tedavilerin herhangi birinin yara iyileşmesi için tek başına yeterli olduğunu gösteren bilimsel kanıt yoktur. Debridman tek başına bu malzemelerden çok daha işlevseldir. Çünkü debridmanla birlikte ölü dokular ve biyofilm tabakası yok edilir ve kronik yara alanında akut travma yaratarak hücreler aktive edilir.

Cerrahi debridmandaki amaç, derin doku enfeksiyonunun kontrolü olup, pürülan materyalin drenajı, nekrotik veya enfekte dokuların temizlenmesi ve sağlıklı bir yara yatağı oluşmasıdır. Yapılacak cerrahi yaklaşım, iyileşme sürecini en uygun hale getirmeli ve ayağın yürüme yeteneğini olabildiğince korumaya yönelik olmalıdır (48).

Nöropatik yaralar nasır çevresi veya üzerinde oluşan ülserler agresif debridmana iyi yanıt verir. İskemik ve nöro-iskemik yaralar damar tutulumu nedeniyle agresif debridmandan fayda görmez. En şiddetli ayak yaralarında bile belli dereceye kadar debridman yaparak ölü doku ve enfekte dokuları kaldırarak yara iyileşmesine katkıda bulunulabilir. Pansuman; işi optimize etmek ve doğal şifa süreçlerini kolaylaştırmak ve daha fazla doku travmasını önlemek içindir. Ülser tipi ve iyileşme sürecine göre pansuman belirlenir (18).

Hiperbarik Oksijen Tedavisi: Hiperbarik oksijen tedavisi (HBOT); basınç odası adı verilen kapalı tedavi yerinde, basıncın artırılması ve hastalara %100 oksijen vermek suretiyle uygulanan tıbbi tedavi yöntemidir. Hastalar oksijeni maske, hood ya da endotrakeal tüp yöntemi ile solunum yolu ile alırlar. Yüksek basınç altında solunan oksijenin plazmada çözünmesiyle dokulara normalin 20 katına kadar daha fazla oksijen taşınır. Dokularda HBOT'nin antihipoksik etkisinin yanı sıra periferik vazokonstriksiyon yoluyla antiödem etkisi de vardır. Basınç odaları tek kişilik olabildiği gibi çok kişilik, taşınabilen, hayvan deneyleri için kullanılan çeşitli tipleri vardır (58).

HBOT plazmada çözünmüş halde taşınan oksijen miktarını artırarak dokularda hiperoksijenasyon sağlar. HBOT'nin olumlu etkileri hipoksi nedeniyle bozulmuş olan yara iyileşme süreçlerinin düzeltilmesine bağlıdır. Tekrarlayan tedaviler sonrasında yara dokusunda oluşan neovaskülarizasyon ile doku oksijenasyonu kalıcı olarak artar. Yeterli dolaşımın olmadığı iskemik yaralar HBOT'den fayda görecektir asıl hasta grubunu oluşturur. DAE'li hastalarda antibiyoterapi ile kombine edilen HBOT'nin yara iyileşmesine ve amputasyon oranlarının azaltılmasına olumlu katkıları vardır (59, 60).

Maggot Tedavisi: Maggot tedavisi, *Lucilia (Phaenicia) sericata* sineğinin steril hale getirilmiş larvalarının kronik yaraların tedavisinde kullanılması olayına verilen addır. Debridman, dezenfeksiyon ve büyüme destekleyici aktivite gibi üç temel süreci gerçekleştirerek yara iyileşmesini destekler. İyileşmeyen nekrotik yara, basınç ülserleri, venöz staz ülserleri, nöropatik ayak ülserleri ve ameliyat sonrası travmatik olmayan yumuşak doku yaralarının debridmanında kullanılabilir (61). Kurtçukların kronik yara tedavisinde nekrotik doku debridmanını hızlandırdığı, iyileşme hızını artırdığı, amputasyon oranını azalttığı ve antibiyotiksiz gün sayısını artırdığı gösterilmiştir. Ağrı ve kanama gibi yan etkileri vardır (62).

VAC Tedavisi: Vakum yardımcı yara kapama (VAC) yöntemi akut ve kronik yaralarda iyileşmeyi negatif basınç oluşturarak hızlandırmaktadır.

Yalnız yara tedavisi amacıyla geliştirilen bu tedavi biçiminde, yara steril bir sünger veya bezle uygun biçimde kapatıldıktan sonra aralıklı veya sürekli olarak negatif basınçla emilir ve yara eksüdası bir kaptan toplanır. VAC tedavisi ekspoze olmuş kemik ve tendon gibi yapıların mevcut granülasyon dokusunu kalınlaştırarak, kısmi kalınlıkta deri grefti ile onarılan defektin fonksiyonel rekonstrüksiyonunu başarılı kılar. VAC uygulaması yapılan hastalarda iyileşmenin yarada öncelikle lokal kan akımını artırması ile olup, yara alanına epitelyal migrasyonu artırması, bakteriyel kolonizasyonu azaltması, interstisyel doku ödemi azaltması ve yara etrafındaki hücrelerde mitozu artırması gibi mekanizmalar ile etki ettiği gösterilmiştir (63).

Büyüme Faktörü Tedavisi: Epidermal büyüme faktörü (EGF)'nin topikal uygulamayla diyabetik ayak yaralarında kapanma oranını artırdığı, kapanma süresini kısalttığı ve güvenli bir uygulama olduğu ortaya konmuştur. Büyüme faktörlerinin yan etkileri hakkında çalışmaların yetersizliği ve maliyet göz önüne alındığında seçilmiş olgularda kullanımında fayda vardır (64).

Cerrahi Tedavi: DM vücut biyokimyasında uzun dönemde geri dönüşümü olmayan birçok organda disfonksiyon veya yetmezliğe neden olabilen kronik bir hastalıktır. Diyabetik ayak nekrozu bütün tedavi yöntemlerinin denenmesine rağmen, doku canlılığın geri dönüşümsüz kaybıdır. Bu durum artık cerrahi müdahaleyi düşünmemiz gerektiğinin göstegesidir. Çünkü amputasyon yapılmayan nekroze doku vücutta septisemi yapma ihtimalini her geçen gün arttırmaktadır. DAE hastaların %25'ine kısmen veya total ayak ya da alt ekstremitte amputasyonu uygulanırken, diyabetle ilişkili amputasyonlu hastaların %50'den fazlası cerrahi sonrası beş yıl içerisinde kaybedilmektedir (18, 65).

Diyabetik popülasyonda alt ekstremitte amputasyon riski diyabetik olmayanlara göre 15-46 kat daha fazladır. İlk amputasyon sonrası, karşı taraftaki ekstremitte amputasyon riski ilk yıl içinde %9-17 arasındayken, 3-5 yıl içinde artarak %25-68 arasında değişmektedir. Kemik enfeksiyonları yumuşak dokudan direkt yayılım sonucu oluşmakta ve kronikleşmektedir. Bu

nedenle en kesin tedavi şekli enfekte ve nekrotik kemiğin rezeksiyonu olarak görünmektedir (37, 66).

2.2.6. Önleme

Diyabetik ayak ülserlerinin önlenmesi risk grubundaki hastaların belirlenmesi ile başlar. Diyabetli tüm hastalara anatomik deformiteler, cilt tahrişi, tırnak bozuklukları, his kaybından koruma, azalmış arteriyel beslenme ve uygunsuz ayakkabı değerlendirmesini içeren yıllık ayak muayenesi yapılmalıdır. Ayak lseri riski yüksek olan hastalar daha sık muayene edilmelidir. lserasyonu önlemek için etkili müdahaleler, doğru ayak bakımı ve kendi ayaklarının peryodik muayeneleri konusunda hasta ve yakınları eğitilmelidir. Diğer etkili klinik müdahaleler glisemik kontrol, sigara bırakma, nasır debridmanı ve profilaktik ayak cerrahisini içerir (67).

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız üçüncü basamak tedavi kuruluşu olan ve Ankara'da hizmet veren 1000+200 yatak kapasiteli Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) Eğitim Hastanesinde gerçekleştirildi. "Karbapenem grubu antibiyotik tedavisi alan diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalarda yara sıvısı antibiyotik konsantrasyonu ve iyileşme süresi arasındaki ilişkinin irdelenmesi" başlığı altında yapılan çalışma için GATA Etik Kurulu'ndan 27 Mayıs 2015 (Son değerlendirme tarihi: 24 Aralık 2015) gün ve KLN.ARŞ.ETK.KRL.:50687469-1491-01-15/SEK 1677 sayılı yazı ile ve T.C SAĞLIK BAKANLIĞI Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 93189304-514.05.01 sayılı yazı ile onay alındı. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylere çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi verildi. Bireylerin hepsinden "Gönüllüleri Bilgilendirme ve Olur (Rıza) Formu" imzalatılarak izinleri alındı.

3.1. Çalışma Grubu ve Örneklerin Toplanması

3.1.1. Hasta Grubu

Çalışmaya 18 Temmuz 2015 – 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında hastanemiz çeşitli kliniklerinde akıntılı DAE tanısıyla yatarak tedavi alan hastalardan, tedavisinde en az 3 gün karbapenem (ertapenem, imipenem, meropenem) kullanılan 20 hasta alındı.

Araştırmaya katılmayı kabul etmeyen, 18 yaşından küçük olanlar, karbapenem tedavisini tolere edemeyen veya β -laktam antibiyotik allerjisi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hastalar yattıkları klinikte en az 3 gün süreyle intravenöz yoldan karbapenem tedavisi aldıktan sonra değerlendirmeye alındı. Değerlendirmede gerekli kriterleri taşıyan hastaların serum antibiyotik kararlılık düzeyine (72 saat) ulaştıktan sonraki ilk dozunun en az 30 dakikalık intravenöz infüzyonu sonrası tedavi bitiminden sonra otuzuncu dakikada yara sıvıları ve serum örnekleri eş zamanlı toplandı.

Hastaların hastaneye yatışlarından sonraki ilk tam kan, rutin biyokimya, HbA1c, ESH, CRP, protrombin zamanı düzeyleri ile yara boyutları (WAGNER sınıflamasına göre), diyabet süreleri, eşlik eden komorbid

hastalıkları, kullandıkları ilaçlar, ayaktaki yaralarının süresi, osteomyelit varlığı (varsa direkt grafi, MRG veya sintigrafi ile), alınmışsa yara kültürü (derin doku, aspirasyon vs.) sonuçları, eşlik eden periferik vasküler hastalık varlığı (palpasyon veya doppler USG ile), HBOT alıp almadıkları ve tedavi sonrası akıbetleri (ampütasyon, şifa vs.) kayıt altına alındı.

Hastalar üç gün süreyle antibiyotik dozunu aldıktan sonraki ilk intravenöz antibiyotik uygulaması sonrası (en az 30 dakika süren) otuzuncu dakikada yara akıntı bölgesine yara sıvısı toplamak için steril şekilde Whatman® filtre kağıdı yerleştirildi. Akıntının miktarına bağlı olarak değişmekle beraber ortalama 30-40 dakika süreyle hastanın açık yarasına steril şartlarda Whatman® filtre kağıdı emdirildi ve yara sıvısı filtre kağıdının her noktasını kaplayacak şekilde işleme devam edildi. Whatman® filtre kağıdı ile toplanan yara sıvısı steril tüplere ve serum örnekleri (1600 rpm'de 10 dakika santrifüj edilen) eppendorf tüplerine alınarak çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Bu örnekler çalışma gününe kadar gün ışığından korundu. Çalışma sırasında örnekler oda ısısında çözündürüldü.

3.1.2. Kontrol Grubu

Polikliniğimize DAE tanısıyla başvuran akıntılı yarası olup karbapenem tedavisi almayan hastalar kontrol grubu olarak seçildi. Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden kendilerine yöneltilecek sorular ve yapılacak işlemler konusunda bilgilendirilmiş ve tüm deneklerden “hasta onam belgesi” alınmıştır.

3.2. Gerekli Cihaz ve Kimyasal Maddeler

Kullanılan sarf malzemeleri, cihaz ve ekipmanlar aşağıda listelenmiştir.

3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- | | |
|-----------------------------|------------------------------|
| • Meropenem (saflık> %99.5) | Aurobindo Pharma (Hindistan) |
| • Kolşisin (saflık> %99.5) | Merck (Almanya) |
| • Metanol (HPLC grade) | Merck (Almanya) |
| • Asetonitril (HPLC grade) | Merck (Almanya) |

- Amonyum Asetat Merck (Almanya)
- Formik Asit Merck (Almanya)

3.2.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi (UFLC) Sıralı Kütle Spektrometresi (MS/MS) Cihazı ve Ekipmanları

- Otomatik Örneklem Sistemi: Shimadzu Prominence SIL-20AC HT, Shimadzu Technologies, Japonya.
- Paralel Tipte Çiftli Pompa: Shimadzu Prominence, LC-20AD Shimadzu Prominence, Shimadzu Technologies, Japonya.
- Degasser: Shimadzu Prominence, DGU-20A5, Shimadzu Technologies, Japonya.
- Kolon Fırını: Shimadzu Prominence, CTO-10 AS VP, Shimadzu 1200, Shimadzu Technologies, Japonya.
- Mikroişlemci: AB SCIEX for LC.
- Yazıcı: Xerox Phaser 3140.
- Sıralı Kütle Spektrometresi: Applied Biosystems Sciex API 3200 QTrap mass spectrometer (Applied Biosystems Sciex, Ontario, Kanada)
- İyonizasyon Modu: Elektrospray İyonizasyon (ESI).
- Kolonlar:
 - Analitik Kolon: C18 hidrokarbon zincirine bağlı silika içeren, partikül büyüklüğü 5 µm olan 4.6x50 mm boyutlarındaki ODS-3 ters faz kolon (ACE C18 kolon 5 µm, 50 mmx4.6 mm i.d., Agilent Technologies).
 - Guard Kolon: Phenomenex ODS-3, C18 5 µm koruyucu kolon
- Vorteks (Heidolph, Almanya)
- Santrifüjler:
 - Soğutmalı santrifüj (Eppendorf 5420, Almanya)
 - Normal santrifüj (Labofuge 200, Thermo Scientific, İngiltere)
- Milli-Q Su Arıtma Cihazı (Elga, Almanya)
- Millex-HV Örnek Süzme Filtresi (Sellüloz asetat 0.2 ve 0.45 m)

- Pipetler:
 - Otomatik pipetler (Eppendorf, ABD)
 - Cam pipetler
 - Pastör pipeti
- Whatman Nylon Membrane Filters (47mm, 0.45um, 100/PK, Tayland)
- Derin dondurucu (Uğur, Türkiye)
- Buzdolabı (Sanyo)
- Derin dondurucu, -80°C (Snijders Scientific, Hollanda).

3.3. Yöntemler

3.3.1. Çözeltilerin Hazırlanması

Sulu Mobil Faz Çözeltisi 1:

1 gr amonyum asetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) tartılarak, 500 ml distile su ile karıştırılıp manyetik karıştırıcı sayesinde çözülür. Daha sonra 1 ml %0.1'lik formik asit ile çözelti 1000 ml ye tamamlandı.

Mobil Faz 2: 1 lt Metanol + %0.1 Formik Asit (1 ml)

Meropenem Standart Stok Çözeltisi:

1 mg meropenem 1 ml distile su ile çözülür. Porsiyonlanarak çalışma zamanına kadar 4°C'de muhafaza edildi.

İnternal Standart (Kolşisin) Stok Çözeltilerinin Hazırlanması:

İnternal standart olarak kolşisin 1 mg/ml Metanol: Su (2:8, v/v) ile hazırlanmış çözeltide çözülür. Porsiyonlanarak çalışma zamanına kadar 4°C'de muhafaza edildi.

3.3.2. Hastalardan Örneklerin Alınması ve Yapılan Ölçümler

1. DAE nedeniyle yatarak tedavi gören ve tedavisinde karbapenem kullanılan ve akıntılı yaraları olan hastalar belirlendi. Hastalar üç gün süreyle standart antibiyotik dozunu aldıktan sonra ilk intravenöz antibiyotik

uygulaması sonrası (en az 30 dakika süren) otuzuncu dakikada yara akıntı bölgesine yara sıvısı toplamak için steril şekilde Whatman® filtre kağıdı yerleştirildi. Akıntının miktarına bağlı olarak değişmekle beraber ortalama 30-40 dakika süreyle hastanın açık yarasına steril şartlarda Whatman® filtre kağıdı emdirildi ve yara sıvısı filtre kağıdının her noktasını kaplayacak şekilde işleme devam edildi.

2. Alınan Whatman® filtre kağıtlarını steril cam tüplere ve eş zamanlı alınan serum örnekleri eppendorf tüplerine koyularak çalışma zamanına kadar -80°C'de muhafaza edildi. Çalışma zamanı örnekler değerlendirilmek üzere soğuk zincirde GATA Farmakoloji Anabilim Dalı Toksikoloji Bilim Dalı laboratuvarına ulaştırıldı. Çalışma öncesi LC-MS/MS cihazı bilinen kolşisin ve meropenem konsantrasyonları ile kalibre edildi.

LC-MS/MS ile Meropenem Ölçümü:

Çalışma sırasında serum örneklerini deproteinize etmek için 100 µL örnek üzerine 200 µL asetonitril ilave edilerek 1 dk vortekslendi. Soğutmalı santrifüjde +4°C'de 5,000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant ölçüm için insert viallere alındı. Yara sıvısı filtre kağıtları 5 mikron genişliğinde steril ortamda kesilerek cam tüplere alındı ve üzerine 1 ml asetonitril ilave edilerek 1 dk vortekslendi. Soğutmalı santrifüj kullanılarak +4°C'de 5,000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant ölçüm için alındı.

3.3.3. Quadropole Mod Taramaları

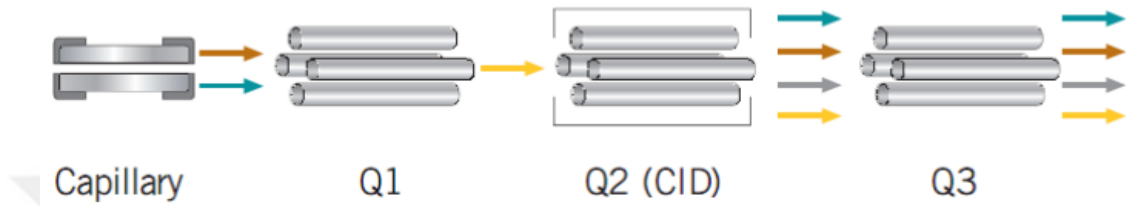
Üçlü quadropole sahip cihazlar, yüksek hassasiyetli Çoklu Reaksiyon İzleme (MRM) kapasitelerine sahiptirler. Bu yüksek MRM kapasitesi kantitatif analizlerin yapılabilmesi için önemli bir gerekliliktir. Ek olarak, bu cihazların prekürsör iyon ve nötral kayıplar gibi yüksek özel tarama modları bulunmaktadır. Bu şekilde tarama özellikleri sayesinde örneklerde ve bir takım matrikslerde daha ileri düzey araştırma özelliği kazanılmaktadır.

Q1 taraması (Q1 MS): İlk quadropole kullanılarak yapılan tam bir tarama işlemidir. İstenen tarama aralığında ve yoğunluğunda özel olarak

tarama yapılabilen bir kısımdır.

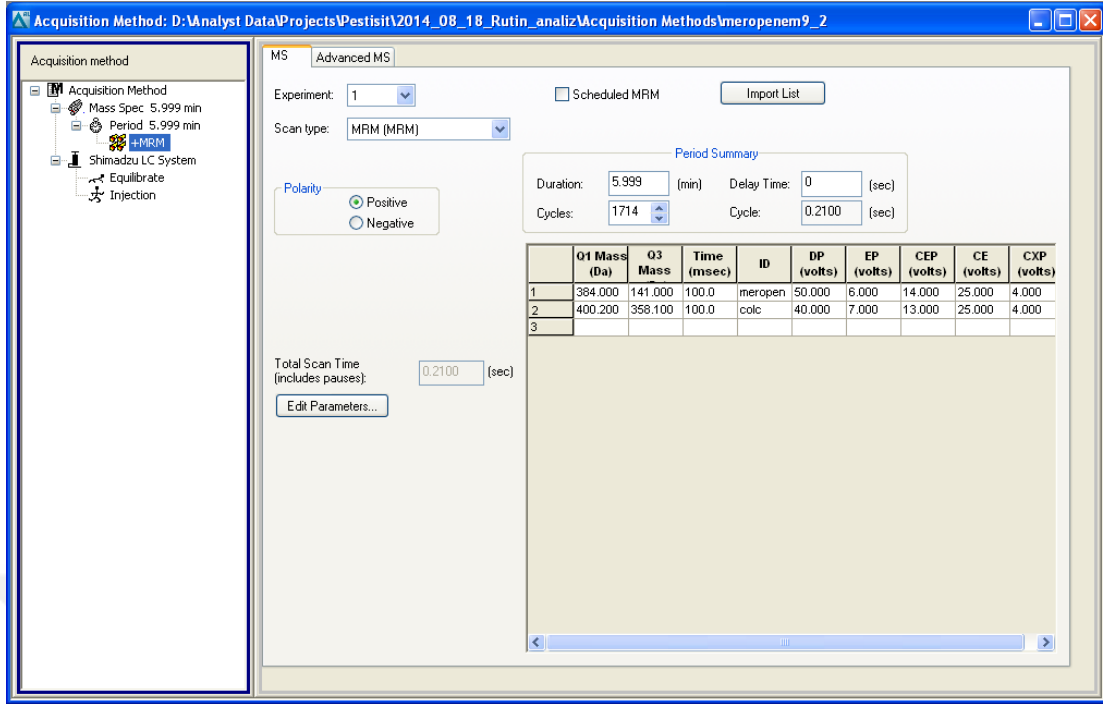
Q3 taraması (Q3 MS): İstenilen özel aralıktaki iyonun tam bir taramasını yapmak için kullanılan kısımdır.

Çoklu Reaksiyon İzleme (MRM) taraması: Q1 ile ayrıştırılan fragmentleri kesin bir cevap verilmesi için Q3 tarafından ürün iyon verilerek, tespit edilmesi yöntemidir. Bu tarama yöntemi özel hedeflenmiş bileşiklerin analizinde kullanılabilmektedir.

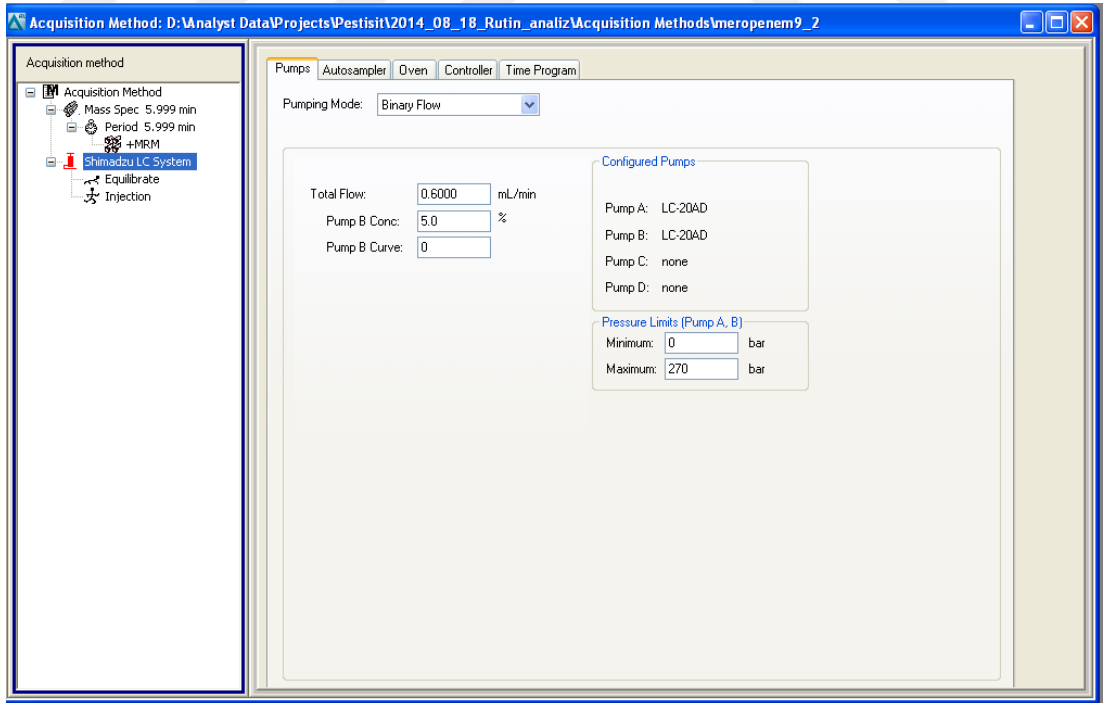


Şekil 3.1. Q1, Q2 ve Q3 sisteminin LC-MS/MS cihazında şematizasyonu

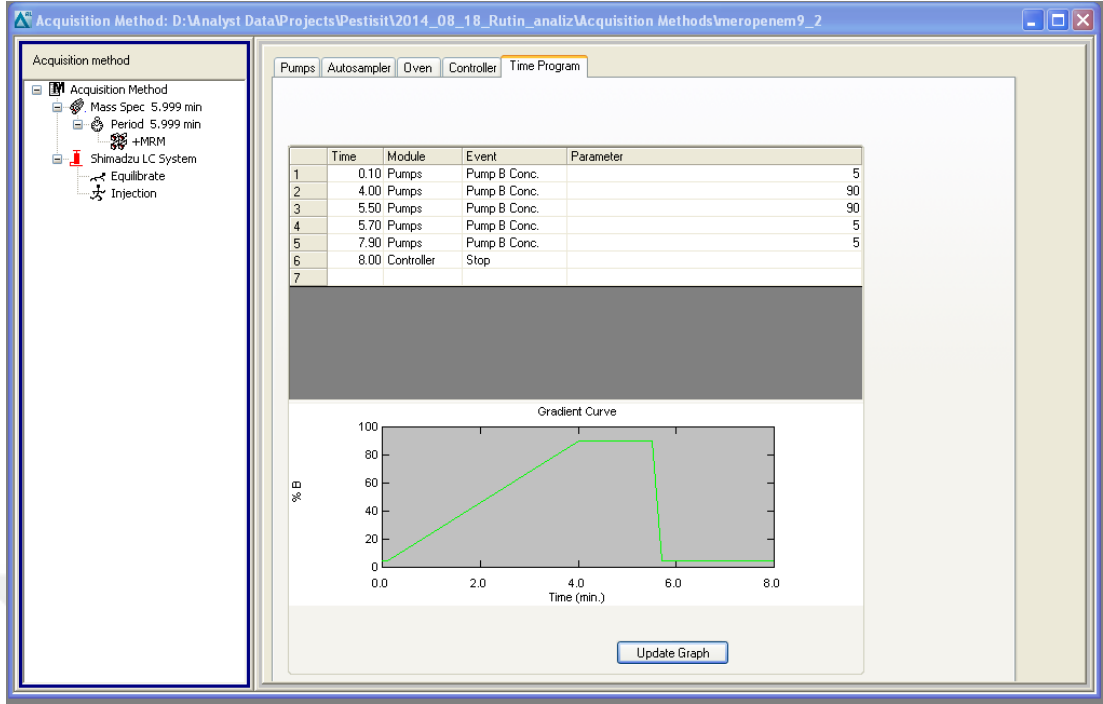
Faz A olarak amonyum asetat, formik asit ve distile su içeren çözelti, Faz B olarak metanol ve (%1 lik formik asit) kullanıldı. Akış hızı 0.6 mL/dk idi. 4.6 x 50 mm boyutlarında, ACE, C18 5 µm ters faz analitik kolon ve Phenomenex ODS-3, C18 5 µm koruyucu kolon kullanıldı. Dedektör Multiple Reaction Monitoring (MRM) modunda birim çözünürlükte çalıştırılmıştır. Meropenem protonlandığında m/z 384,0→141,0 iyonla dönüştüğünden bileşiği tanımlamak için bu değerler kullanıldı. Kolşisin değişiminde m/z 400,2→358,1 değerleri ile izlendi. Kütle spektrometrisi parameterini optimize etmek için, analit ve internal standartın bir karışımla cihaza verilmesi sağlandı. Optimizasyon parametreleri: Curtain gaz, gaz 1 ve gaz 2 (nitrogen) 20, 50 ve 50 birim, sırasıyla; bekleme süresi: 100 ms; kaynağın sıcaklığı: 650°C; Ion Spray voltage: 3500 V, Declustering potential: Meropenem için 50 V ve Kolşisin için 40 V'dur. Collision energy: Meropenem molekülü için 25 eV ve Kolşisin için 25 eV'dur.



Şekil 3.2. Meropenem metodunun MS/MS parametreleri



Şekil 3.3. Meropenem metodunun LC parametreleri



Şekil 3.4. Meropenem metodunun LC gradient eğrisi

3.3.4. Analiz Parametreleri

- LC Modeli: Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi (UFLC) Sıralı Kütle Spektrometresi (MS/MS) Cihazı ve Ekipmanları
- Otomatik örnekleme sistemi: Shimadzu Prominence SIL-20AC HT, Shimadzu Technologies, Japonya.
- Paralel Tipte Çiftli Pompa: Shimadzu Prominence, LC-20AD Shimadzu Prominence, Shimadzu Technologies, Japonya.
- Degasser: Shimadzu Prominence, DGU-20A5, Shimadzu Technologies, Japonya.
- Kolon Fırını: Shimadzu Prominence, CTO-10 AS VP, Shimadzu 1200, Shimadzu Technologies, Japonya.
- Mikroişlemci: AB SCIEX for LC series
- Analitik Kolon: 4.6 x 50 mm, ACE, C18 5 µm ters faz kolon (Advanced Chromatography Technologies1, Berry Street Aberdeen, İskoçya).
- Koruyucu Kolon: Phenomenex ODS-3, C18 5 µm cartridge (Phenomenex, A.B.D.).

- Enjeksiyon hacmi: 20 µL
- Kolon ısısı: 45°C
- Çalışma süresi: Meropenem metodu: 7,999 dk
- Kalibrasyon: Eksternal standartlar kullanılarak yapıldı

Çalışma AB SCIEX 3200 Q-TRAP LC-MS/MS cihazları (düşük konsantrasyonlara inebilme özelliklerine sahip, LLOQ (ölçülebilen en küçük değer; 2.5 ng/ml)) ile gerçekleştirip hastaların serum ve yara sıvısı antibiyotik konsantrasyonları belirlendi. Elde edilen veriler tanımlayıcı istatistiksel analiz ile değerlendirilecektir. %90 güven aralığında, $p = 0.05$ hata payıyla evreni temsil edebilecek örnekleme ulaşılması hedeflenmektedir.

3.3.5. İstatistiksel Analizler

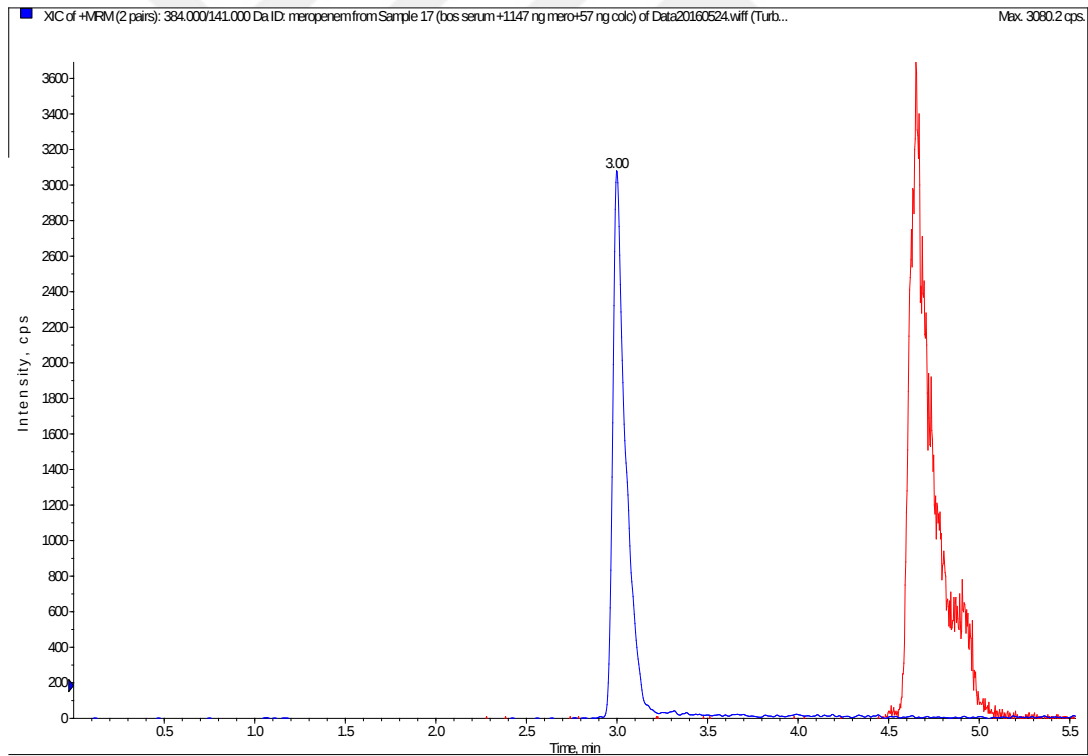
İstatistik analizler SPSS 21.0 programı ile gerçekleştirilmiştir. Tanımlayıcı istatistiklerde kategorik veriler için; sıklık ve yüzde, sürekli veriler için; ortalama, ortanca, minimum, maksimum, standart sapma ve aralık kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile iki sürekli değişken arası ilişki Spearman korelasyon katsayısı ile değerlendirilmiştir. Normal dağılıma uyanlar için bağımsız gruplarda T-testi, normal dağılıma uymayanlar için Man-Whitney U testi ile analiz yapılmıştır. İstatistiksel önemlilik için $p < 0.05$ değeri kabul edilmiştir.

SONUÇLAR

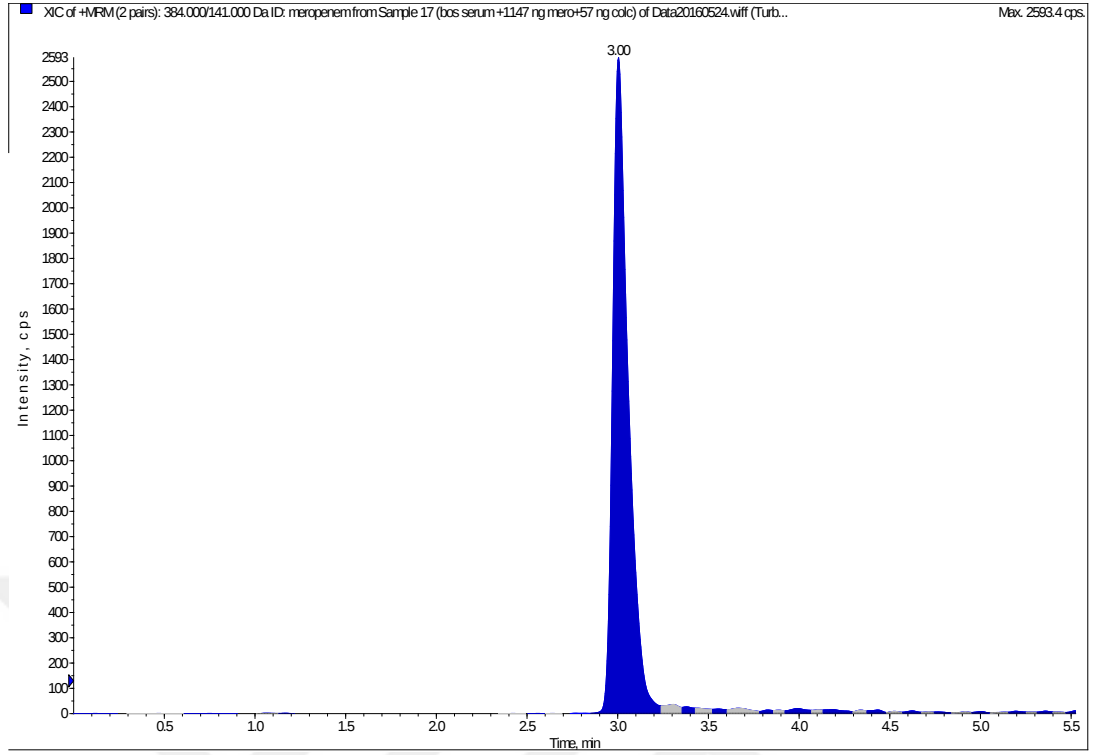
4.1. Kromatogramlar

LC-MS/MS meropenem metodu ile yapılan meropenem ölçümü 1147 ng/ml'lik standart meropenem çözeltisinin ve 157 ng/ml'lik kolşisin çözeltisinin boş serum örneğine spike edilerek elde edilen kromatogramlar Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'de görülmektedir.

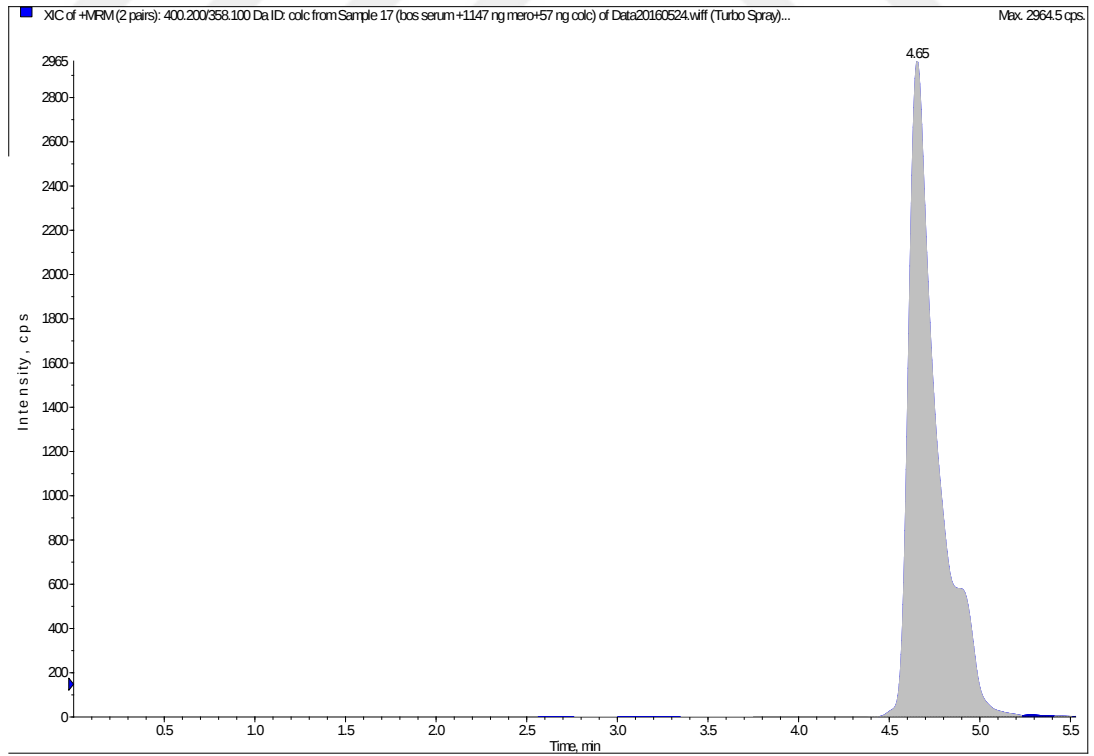
Meropenem metodu ile yapılan ölçüm sonucu, meropenemin alıkonma zamanı (retention time: RT) 3.00 dk olduğu tespit edilmiştir. Meropenem metodu ile IS olarak kullanılan kolşisin alıkonma zamanı (RT) 4.65 dk olduğu tespit edilmiştir. Mobil faz olarak amonyum asetat, formik asit ve distile su içeren çözelti kullanıldı. Akış hızı 0.6 mL/dk idi. Kolon 4.6 x 50 mm, ACE , C18 5 µm ters faz kolon analitik kolon ve Phenomenex ODS-3, C18 5 µm koruyucu kolon idi.



Şekil 4.1. Kontrol serumunda (meropenem kullanmayan hasta serumu) meropenem ve IS kolşisine ait kromatogram (soldaki pik meropeneme sağdaki kolşisine aittir)

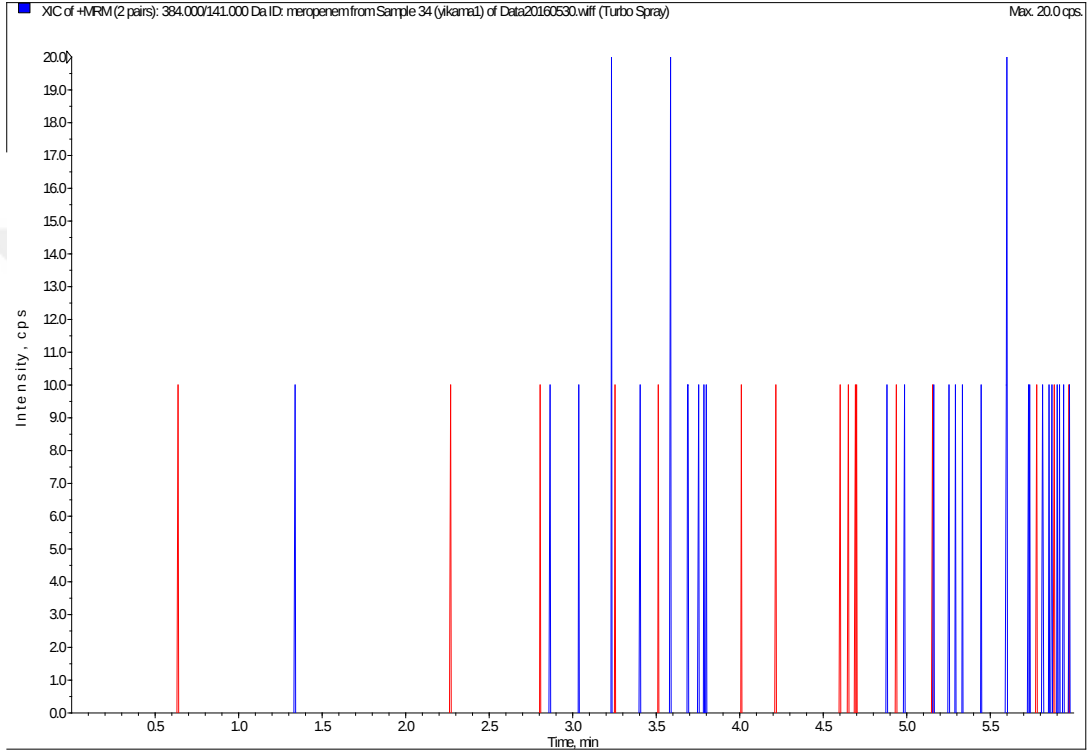


Şekil 4.2. Meropeneme ait alan hesaplaması yapılmış kromatogram (RT: 3.00 dk)

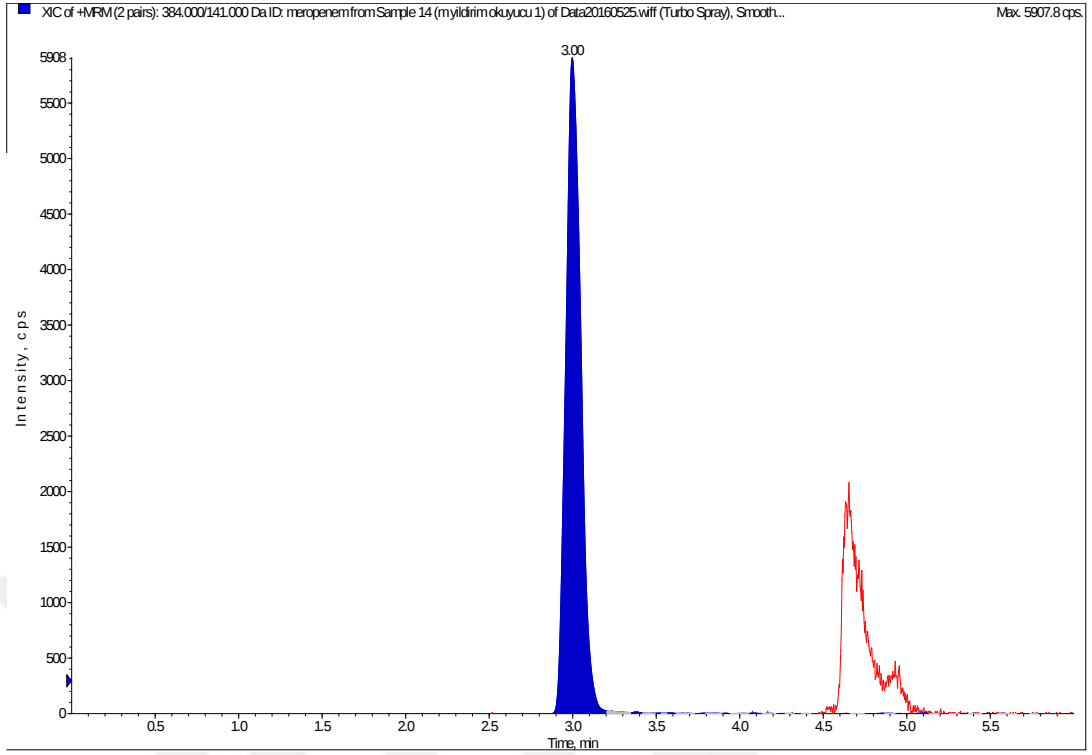


Şekil 4.3. Kolşisine ait alan hesaplaması yapılmış kromatogram (RT:4.65 dk)

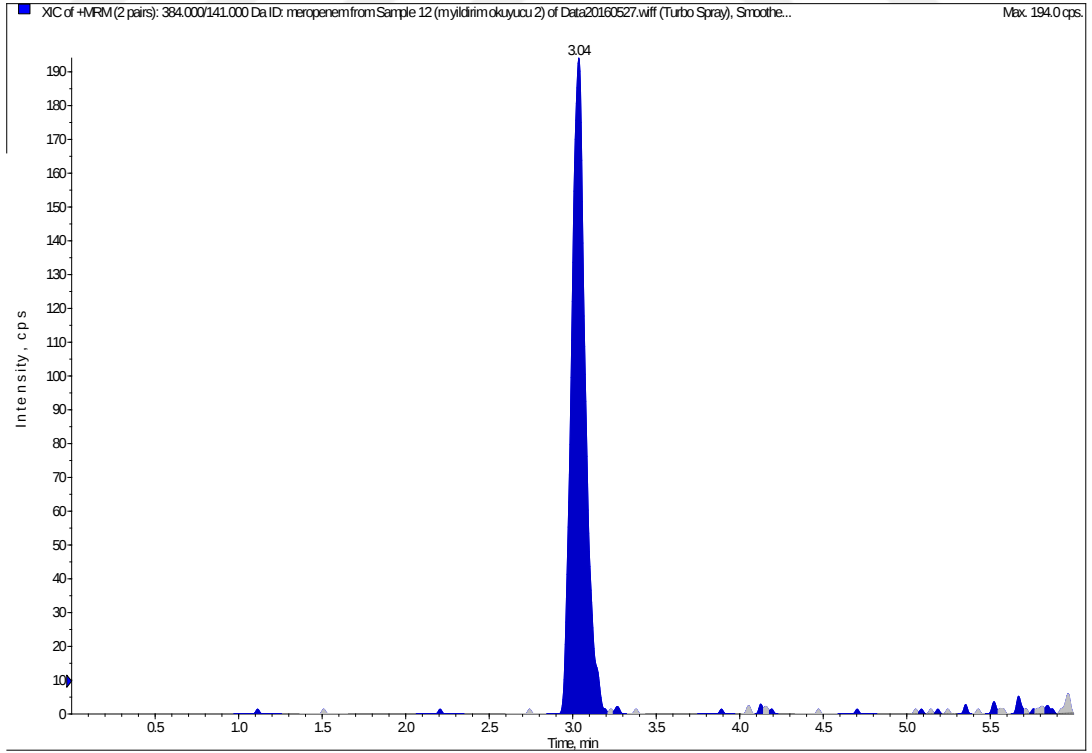
Meropenem metoduna göre elde edilen kromatogramlarda, meropenem pikini kanıtlamak yani duyarlılığı göstermek için boş serum çalışıldı (Şekil 4.4). Meropeneme ait pik gözlenmedi. Bu durum ölçüm metodunun duyarlı olduğunu göstermektedir. Meropenem metoduna göre hasta serum ve yara sıvısı kromatogramları Şekil 4.5 ve 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.4. Boş seruma ait kromatogram

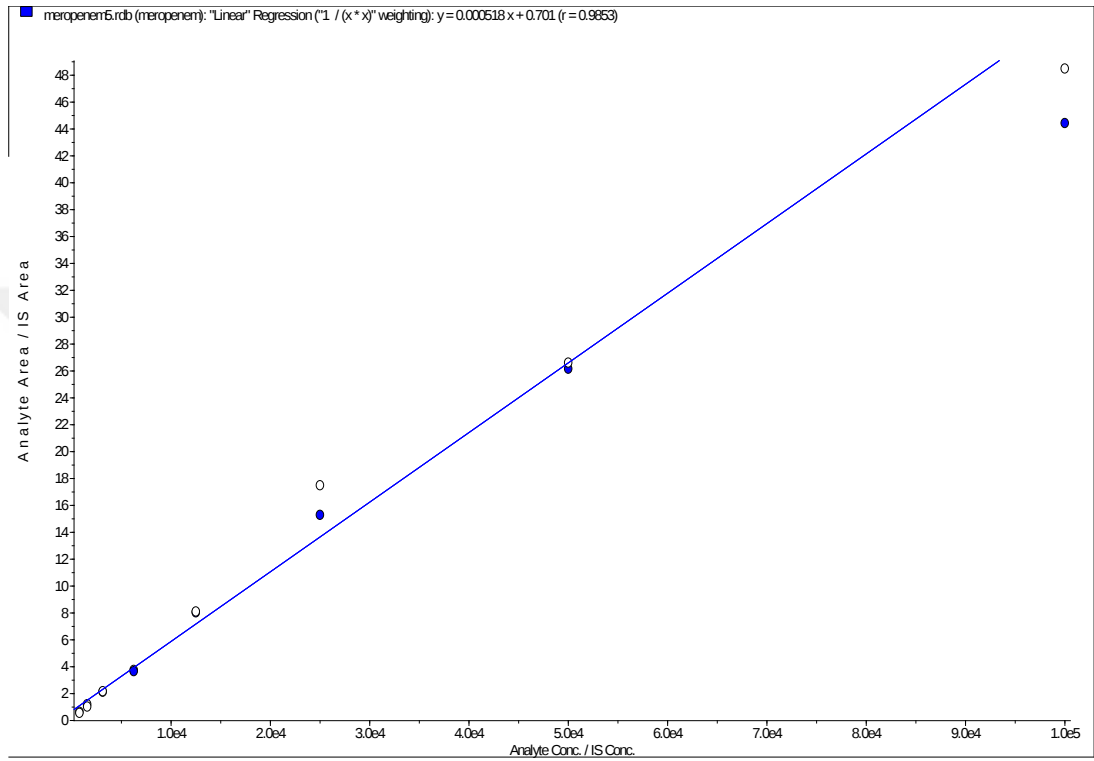


Şekil 4.5. Meropenem tedavisi uygulanan bir hastadan damarıçi enjeksiyon sonrası 30.dk da alınan serumda meropenem ve IS kolşisin piki.



Şekil 4.6. Yara sıvısı emdirilmiş Whatman filtre kağıdı meropenem piki.

Meropenem ait kalibrasyon çalışmaları için 781 1562 3125 6250 12500 25000 50000 100000 ng/mL'lik meropenem standart çözeltileri kullanıldı. Meropenem standartlarına ait kalibrasyon çalışmasına ait grafikler Şekil 4.7'da verilmiştir.



Şekil 4.7. Meropenem standartına ait kalibrasyon eğrisi.

Kalibrasyon eğrisinde görüldüğü üzere meropenem metodu ile yapılmış olan meropenem standardı ve IS kolşisin pik alanlarının oranı ile meropenem ve kolşisinin konsantrasyon oranları arasında yüksek derecede korelasyon saptanmıştır ($r^2=0,99$).

4.2. Metod Validasyonu

4.2.1. Doğruluk (Accuracy)

Bir yöntemin doğruluğu elde edilen değer gerçeğe veya referans kabul edilmiş olan değere yakınlığının ölçüsüdür. Doğruluktan sapmanın en yüksek olduğu konsantrasyonlar 781 ve 3125 ng/mL konsantrasyonlarında saptanmıştır (Doğruluk: %122).

4.2.2. Seçicilik (Selectivity)

Yöntemin seçiciliği, analizi yapılacak numunede var olan ve analizi yapılacak maddeye girişim yapabilen diğer bileşenlerden ayrı olarak ölçebilme kabiliyetidir. Seçiciliğin olmadığı veya yetersiz olduğu analiz yöntemlerinde diğer parametrelerin değerlendirilmesi anlamsızdır.

4.2.3. Tekrarlanabilirlik (Repeatability)

Belli zaman aralığındaki aynı işlem koşulları altındaki kesinliği tanımlar. Numune hazırlamadan gelebilecek hataları gösteren bir kesinlik parametresidir. Meropenemin günüçi ve günler arası tekrarlanabilirlik çalışmaları amacıyla standart çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan standart çözeltileri porsiyonlanarak +4°C'de muhafaza edildi.

BULGULAR

Çalışmamıza 18 Temmuz 2015 – 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında hastanemizin çeşitli kliniklerinde ve kliniğimizde DAE tanısıyla yatarak tedavi alan hastalardan, tedavisinde karbapenem (ertapenem, imipenem, meropenem) grubu antibiyotik kullanılan 18 yaş üstü 20 hasta alındı.

5.1. Hastaların Yara Sıvısı ve Serum Konsantrasyonları

Çalışmamızdaki 20 hastanın 13'ü meropenem, 4'ü ertapenem ve 3'ü imipenem tedavisi almıştı. Karbapenem grubu antibiyotiklerden standartını elde ettiğimiz meropenemin kantitatif, imipenem ve ertapenemin ise kalitatif olarak serum ve yara sıvısındaki konsantrasyonları belirlendi. İmipenem ve ertapenem kullanan toplam 7 hastanın yara sıvısı ve serumunda etken maddenin varlığı saptandı. Standardı ile kalibrasyon işlemi sonrası meropenem kullanan 13 hastanın yara sıvısı ve serum konsantrasyonları kantitatif olarak belirlendi (Tablo 5.1). Meropenem serum ve yara sıvısı konsantrasyonu arasında doğrusal bir ilişki saptandı. Hasta serumu ve yara sıvısına meropenem geçişine etkisi olabilecek faktörleri belirleyerek değişkenlerin istatistiksel analizi yapıldı.

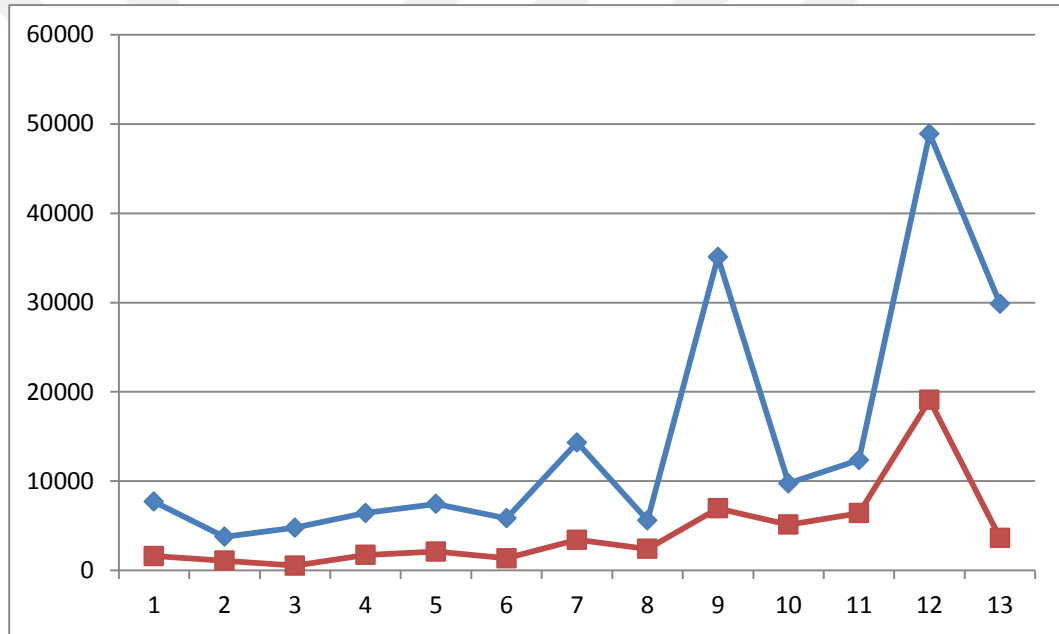
Tablo 5.1. Hastaların meropenem yara sıvısı ve serum konsantrasyonları

Hasta	Meropenem Serum Konsantrasyonu (ng/ml)	Meropenem Yara Sıvısı Konsantrasyonu (ng/ml)
1	7700	1620
2	3780	1106
3	4800	553
4	6430	1734
5	7460	2120
6	5840	1374
7	14333	3430
8	5620	2414
9	35100	6960

Tablo 5.1.(Devam) Hastaların meropenem yara sıvısı ve serum konsantrasyonları

10	9760	5142
11	12366	6420
12	48900	19100
13	29866	3660

Şekil 5.1. Hastaların meropenem yara sıvısı ve serum konsantrasyonları eğrisi



- Meropenem serum konsantrasyon eğrisi
- Meropenem yara sıvısı konsantrasyon eğrisi

5.2. Hastaların Demografik ve Epidemiyolojik Özellikleri

Hastaların yaşları 49-75 yıl arasında değişmekteydi. Yaş ortalaması 59.6 yıl olarak saptandı. Hastaların 10'u (%76,9) erkek, 3'ü (%23,1) kadındı. Hastaların 10'u (%76,9) yatış öncesi ayaktan antibiyotik tedavisi almıştı. Hastaların diyabet süreleri 1-25 yıl arasında değişmekle beraber ortalama 11,5 yıl olarak saptandı (Tablo 5.2). Hastaların DM ve diğer ek hastalıkları için kullandıkları ilaçlar ile karbapenem etkileşimleri araştırıldı. Herhangi bir etkileşim bulunamadı.

Tablo 5.2. Hastaların demografik ve epidemiyolojik özellikleri

	Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum	Range
Yaş	59,6	6,7	60	49	75	26
Diyabet Süresi (Yıl)	11,5	6,5	10	1	25	24

5.3. Hastaların Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

Hastaların 11'inde (%84,6) tedavi öncesi alınan doku kültüründe üreme olmuştu. Hastaların takipleri süresince bakılan inflamatuvar belirteçleri, HbA1c ve meropenem serum ve yara sıvısı konsantrasyon ortalamaları Tablo 5.3'te verilmiştir. Hastalardan üçünün HbA1c değeri normal sınırlarda, ESH ve CRP değerleri bütün hastalarda normal sınırların üzerinde saptandı. Hastaların ayaklarındaki yara oluşma süresi 1 hafta ile 10 ay arasında değişiklik göstermekle beraber ortalama 62,4 gündü. Hastaların 9'unda (%69,2) görüntüleme yöntemleri ile ortaya konmuş osteomyelit tanısı mevcuttu.

Tablo 5.3. Hastaların laboratuvar özellikleri ve meropenem konsantrasyonları

	Ortalama	Std Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum	Range
HbA1c	8,3	2,4	7,3	5,6	13,9	8,3
ESH	90	30	92	47	135	88
CRP	159	177	103	4	600	596
Meropenem Serum Konsantrasyonu (ng/ml)	14765	14123	7700	3780	48900	45120
Meropenem Yara Sıvısı Konsantrasyonu (ng/ml)	4279	4893	2414	553	19100	18547

DM dışında kronik hastalığı (hipertansiyon, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği) olan hasta sayısı 9'du. Bu hastaların yara sıvısı meropenem konsantrasyon ortalaması 5548 ng/ml saptandı. DM dışında kronik hastalığı

olmayan 4 hastada yara sıvısı meropenem konsantrasyon ortalaması 1423 ng/ml saptandı. Her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 5.4).

Tablo 5.4. DM dışı kronik hastalık varlığı ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi

Kronik Hastalık	Hasta Sayısı	Ortalama	Std. Sapma	p değeri	Man-Whitney U test değeri
Var	9	5548	5458	0,034	4
Yok	4	1423	791		

Hastaların Wagner evreleri 3-4 olarak belirlendi. Wagner evre 3 olan 7 hastanın yara sıvısı meropenem konsantrasyon ortalaması 5593 ng/ml, evre 4 olan 6 hastanın yara sıvısı meropenem konsantrasyon ortalaması 2746 ng/ml saptandı (Tablo 5.5). Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 5.5. Wagner evresi ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi

Wagner	Hasta Sayısı	Meropenem Konsantrasyon(ng/ml) Ortalama	Std. Sapma	p değeri
Evre 3	7	5593	6344	0,316
Evre 4	6	2746	1983	

Hastaların cinsiyeti ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi kadın sayısının az olması ve grupların homojen dağılmaması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 5.6).

Tablo 5.6. Cinsiyet ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi

Cinsiyet	Hasta Sayısı	Ortalama	Std. Sapma	p değeri	Man-Whitney U test değeri
Kadın	3	2166	1330	0,469	10
Erkek	10	4913	5440		

Hastaların yattıkları süre içerisinde fizik muayene ve dUSG ile alt ekstremitte vasküler yapıları değerlendirildi. Hastalarda periferik vasküler hastalık varlığı ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi grupların homojen dağılmaması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 5.7).

Tablo 5.7. Periferik vasküler hastalık ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi

PVH	Hasta Sayısı	Ortalama	Std. Sapma	p değeri	Man-Whitney U test değeri
Yok	3	2393	1277	0,692	12
Var	10	4845	5479		

Hastaların 8'i HBOT alıyordu. HBOT alanların meropenem yara sıvısı konsantrasyon ortalaması 5262 ng/ml, HBOT almayan hastaların ise 2706 ng/ml saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 5.8).

Tablo 5.8. HBOT ve meropenem yara sıvısı konsantrasyon ilişkisi

HBOT	Hasta Sayısı	Ortalama	Std. Sapma	p değeri	Man-Whitney U test değeri
Alıyor	8	5262	6058	0,622	16
Almıyor	5	2706	1605		

Klinik takiplerinde 4 hastaya (%30) amputasyon (ayak, diz altı, diz üstü) uygulanı. Amputasyon uygulanan hastaların yara sıvısı meropenem konsantrasyon ortalaması 1911 ng/ml, uygulanmayan hastaların 5332 ng/ml saptandı.

TARTIŞMA

Diyabetik ayak tüm dünyada yaygın olarak görülen; hastalar, aileleri ve toplum açısından önemli sosyo-ekonomik yük nedeni olan DM'nin %5 oranıyla sık görülen kronik komplikasyonlarından biridir. DM'li hastaların hastaneye başvuru nedenleri arasında %20-25 oranında DAE görülmektedir (14,15). DM hastaların %15-25'inde yaşamları boyunca bir ayak ülserasyonu gelişebileceği ve bu yaraların %50'den fazlasında enfeksiyon oluşabileceği tahmin edilmektedir. Diyabetik ayak ülseri periferik nöropati, periferik damar hastalığı, arteriyel yetmezlik, travma ve enfeksiyona yatkınlık gibi çeşitli risk faktörlerinin karmaşık bir sonucudur (3,11). DAE uzun süreli, ciddi tedavilere gereksinim göstermesi ve tedavisinin birçok uzmanlık alanını ilgilendirmesi nedeni ile multidisipliner bir yaklaşım gerektirmektedir (7).

Yara iyileşmesini sağlayabilmek ve uzvu kurtarmak için; debridmanlarla nekrotik ve enfekte dokunun uzaklaştırılması, uygun antibiyotik tedavisi, metabolik kontrol, ayağın yükten ve basıdan kurtarılması, PVH tanısı ve uygun şekilde tedavisi, ayağın işlevinin kazandırılması gibi tedavi yöntemleri uygulanmalıdır (49).

Son yıllarda yara iyileşmesi değerlendirilmesi açısından teorik olarak kolayca erişilebilir olması ve noninvaziv yöntemlerle toplanabilmesinden dolayı yara sıvısı kullanılmaktadır. Lokal yara mikroçevresi hakkında serum veya plazma belirteçleri ile değerlendirme yapılamamasına rağmen yara sıvısı ile değerlendirme yapılabilmektedir. Yara sıvısı içeriği yaranın durumundan ve iyileşme fazından etkilenir. Yara sıvısı genellikle endojen ve ekzogen kaynaklardan homojen olmayan bir karışımından oluşur. Kan kaynaklı olup eksuda veya transuda vasıflı, patolojik ve fizyolojik birçok faktörden etkilenmektedir. Yara sıvısında iyileşme açısından laktat, sitokinler, büyüme faktörü, proteaz inhibitörleri vs. bakılan çalışmalar mevcuttur (68).

Löffler ve diğ. DAE ve ülseri ayırımında yara sıvısı laktat miktarını değerlendirmiştir (69). Çalışmamızda literatürde rastlayamadığımız yara sıvısında antibiyotik konsantrasyonunu belirlemeyi amaçladık. Karbapenem grubu üzerinde çalışmayı hedefledik. Çeşitli kromatografik yöntemler plazma ve serumda karbapenem konsantrasyonlarını ölçmek için geliştirilmiştir (55).

Biz de çalışmamızda düşük konsantrasyonlara ulaşabilmek için Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi Sıralı Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemini kullanarak karbapenemlerden standartını elde ettiğimiz meropenemin, bakteriyel menenjitli olan hastaların beyin-omurilik sıvısı da dahil olmak üzere, vücut sıvılarının ve dokularının çoğuna iyi penetre olması ve bakterilerin çoğunu inhibe etmek için gerekenden yüksek konsantrasyonlara ulaşmasını göz önüne alarak, hasta serumu ve yara sıvısında kantitatif, ertapenem ve imipenemin ise kalitatif ölçümünü gerçekleştirdik.

Meropenemin sağlıklı deneklerde, tek dozunun 30 dakikalık intravenöz infüzyon sonucu pik plazma seviyeleri; 250 mg doz için 11 µg/ml, 500 mg için 23 µg/ml ve 1 gram için 49 µg/ml civarındadır (56). Bizim çalışmamızda meropenemin 30 dakikalık infüzyon sonrası hasta serumlarında konsantrasyonları 3,78-48,9 µg/ml aralığında, hasta yara sıvısı konsantrasyonları ise 0,55-19,1 µg/ml olarak saptandı.

Huang ve diğ. meropenemin serum ve plazma konsantrasyonlarını iki farklı LC-MS/MS cihazında (AB Sciex API2000 ve API5000) belirledikleri çalışmalarında meropenem iyon parametrelerini 384-68 olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda bu sonuç 384-141 olarak bulundu. Farklı olarak Huang ve arkadaşları çalışmalarında internal standart olarak seftazidimi biz ise kolşisini kullandık. Haung'ın çalışmasında meropeneme ait kalibrasyon standartları 50, 100, 250, 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ve 25000 ng/ml olarak belirlenmişti. Bizim çalışmamızda hem serum hem de yara sıvısı değerlendirmesi yapmak ve daha düşük değerleri de saptayabilmek için 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 157, 350, 781, 1562, 3125, 6250, 12500, 25000, 50000, 100000 ng/ml olarak belirlendi. Huang ve arkadaşları çalışmaları sonucunda meropenem plazma ve serum konsantrasyonlarını 50-25000 ng/ml aralığında ortalamaları 44.2-18252 ng/ml saptamışlardı. Çalışmamızda hasta serumlarında meropenem konsantrasyonları 3780-48900 ng/ml saptandı. Çalışma sonunda LC-MS/MS yöntemi yüksek seçicilik ve kısa süreli çalışma avantajı sağladığından dolayı özellikle meropenem gibi ilaçlar için yararlı bulundu (70).

Dailly ve diğ. direkt olarak UV deteksiyonlu çeşitli kromatografik yöntemler kullanarak karbapenem (meropenem, doripenem, imipenem, ertapenem) plazma konsantrasyonu saptadıkları çalışmada meropenem 500 mg iv verildikten sonra plazma konsantrasyonunu 6.6 mg/l olarak ölçmüşler. Deproteinizasyon işlemini çalışmamızda olduğu gibi asetonitril ile yapmışlar. Karbapenemlerin plazma konsantrasyonlarının eş zamanlı belirlenmesi ve kısa kromatografik çalışma ile rutin tedaviye yönelik ilaç takibinin klinik ve laboratuvar verimliliği artırmaya katkıda bulunabileceğini belirtmişlerdir (55).

Ali ve diğ. 10 DAE'li hastada HPLC yöntemi kullanarak meropenemin doku ve plazma konsantrasyonunu ölçtüğü çalışmada meropenemi $T > MIC$ (Zamana bağlı MIC değeri) 77.5 ± 19.45 saptamışlar ve ayakta meropenemin iyi doku penetrasyonu gösterdiği bu nedenle diyabetik hastalarda ayak enfeksiyonlarının tedavisi için tavsiye edildiğini savunmuşlardır (71).

Rigo-Bonnin ve diğ. UPLC-MS/MS yöntemini kullanarak plazma, diyaliz filtratı ve idrarda meropenem konsantrasyonlarını ölçtüğü çalışmada klinik, laboratuvar ve günlük uygulamada farmakokinetik çalışmalar için yararlı olabileceğini belirtilmişlerdir. Sepsis, akut böbrek hasarlı yoğun bakım hastaları ve sürekli renal replasman tedavisinde meropenem uygulamasının izlemine savunmuşlardır (72).

Çalışmamızda hasta meropenem yara sıvıları serum oranları %12-52 arasında saptandı. Hastaların yara sıvısına meropenem geçişini etkileyebilecek nedenler ele alındığında hastaların çoğunda (9/13) ek komorbid hastalık varlığı olduğu ve bu hastalarda yara sıvısında meropenem konsantrasyonlarının yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Bu durum klinik olarak izah edilemedi. Ayrıca hastaların eş zamanlı kullandıkları ilaçlar ile karbapenem etkileşimleri araştırıldı ve karbapenemlerle etkileşim gösterecek ilaç kullanmadıkları saptandı.

Çalışmamızda Wagner evrelemesi yapılan hastaların 7'si evre 3, 6'sı evre 4 saptandı ve Wagner evre 4 olan grupta yara sıvısı meropenem konsantrasyon ortalaması 2746 ng/ml olarak diğer gruba göre daha düşük olarak bulundu. Bu grupta doku nekrozu ve dolaşım bozukluğu varlığı göz önüne alındığında bu hastaların yara sıvısı meropenem konsantrasyonlarının

düşük saptanması klinik açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

Çalışmamızda yara sıvısı konsantrasyonlarına etkisi açısından cinsiyet ve periferik vasküler hastalık varlığı değerlendirildi, fakat grupların homojen dağılmaması nedeniyle istatistiksel anlamlılık saptanmadı ($p>0.05$).

HBOT kullanımının etkisine baktığımızda; hastaların 8'i HBOT alıyordu. HBOT alan hastaların meropenem yara sıvısı konsantrasyon ortalaması (5262 ng/ml) almayan hastalara (2706 ng/ml) göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p>0.05$). HBOT'nin yara bölgesinde vazodilatasyon yara dışında vazokonstriksiyon yaptığı göz önüne alındığında tek başına değil diğer değişkenlerle etkisinin araştırılmasının gerektiği düşünüldü.

Hastaların takibinde 4 hastaya amputasyon uygulandığı görüldü ve bu hastaların yara sıvısı meropenem konsantrasyon ortalaması (1911 ng/ml) iyileşen gruba göre (5332 ng/ml) düşük düzeyde bulundu. Yara sıvısı antibiyotik konsantrasyon yüksekliğinin iyileşme üzerine olumlu etkisinin olduğu değerlendirildi.

SONUÇ VE ÖNERİLER

DAE uzun süreli, ciddi tedavilere gereksinim gösteren, tedavisinde birçok uzmanlık alanının ilgilendiği, sosyo-ekonomik boyutu önemli ve hastanede yatış süresini uzatan bir tablodur.

Çalışmamızda DAE nedeniyle antibiyotik tedavisi alan hastalarda antibiyotik tedavisinin asıl etkinliğinin beklendiği ayak yara bölgesinde noninvaziv bir yöntemle yara sıvısı toplayıp antibiyotik konsantrasyonunu saptamayı amaçladık. Tedavilerinde karbapenem grubu antibiyotik kullanılan hastaların serum ve yara sıvısı antibiyotik konsantrasyonları LC-MS/MS cihazında belirlendi.

Çalışmamızda 20 hastada serum ve yara sıvısında antibiyotik saptandı. Kantitatif olarak ölçüm yaptığımız meropenemde, hasta serum ve yara sıvısı konsantrasyonları arasında doğrusal bir ilişki saptandı. Yara sıvısına geçişi etkileyebilecek nedenlerden eş zamanlı kullanılan ilaçlar, PVH, HBOT, Wagner evresi, cinsiyet, DM'ye eşlik eden komorbid hastalık varlığı irdelendi. DM dışında kronik hastalığı (hipertansiyon, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği) olanların meropenem yara sıvısı konsantrasyonu olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p=0.034$). Bu durum klinik olarak izah edilemedi. Wagner evre 3 olanlarda ve HBOT alan hastalarda meropenem yara sıvısı konsantrasyonu yüksek saptandı. Wagner ileri evre olanlarda yara sıvısı meropenem konsantrasyonunun düşük saptanması klinik açıdan anlamlı bulundu. Klinik iyileşmeyi değerlendirmek için yapılan takip sonrası 4 hastanın amputé edildiği görüldü. Amputasyon uygulanan hastaların yara sıvısı meropenem konsantrasyon ortalaması iyileşen gruba göre düşük düzeyde bulundu. Yara sıvısı antibiyotik konsantrasyon yüksekliğinin iyileşme üzerine olumlu etkisinin olduğu değerlendirildi.

Çalışmamızdaki bağımsız değişkenler göz önüne alındığında ve çalışma süresi yetersizliği nedeniyle hasta sayısının azlığının sonuçları etkileyebileceği değerlendirildi. Literatürde yara sıvısında antibiyotik konsantrasyonu çalışmasına rastlanmamış olup, yara sıvısında antibiyotik

konsantrasyonu bakılmasının bundan sonraki çalışmalar için veri tabanı oluşturması açısından faydalı olacağı değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak DAE nedeniyle uzun dönem antibiyotik tedavisi alan hastalarda klinik iyileşmenin teyidi ve uygulanan tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesi açısından yara sıvısında antibiyotik konsantrasyonu bakılmasının, hastalarda gereksiz yere uzun dönem antibiyotik kullanımının önüne geçebileceği, maliyeti azaltacağı ve cerrahi tedavi gerekiyorsa gecikmeden uygulanması açısından önem arz ettiği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

1. WHO, 01/03/2016. Global Report Diabetes http://www.who.int/diabetes/globalreport/WHD2016_Diabetes_Infographic_v2.pdf?ua. [05/11/2015].
2. Aydoğan, Ü., Akbulut, H., Doğaner, YÇ., Diabetic foot, TAF Prev Med Bull., 9(4), 375-382, 2010.
3. Hobizal, KB., Wukich, DK., Diabetic foot infections: current concept review, Diabetic Foot Ankle, 3, 2012.
4. Lipsky, BA., Clin Infect Dis., 25, 1318-26, 1997.
5. Boulton, AJ., Vileikyte, L., Ragnarson-Tennvall, G. ve ark., The global burden of diabetic foot disease, Lancet. 366, 1719-24, 2005.
6. American Diabetes Association, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care, 27, 5-14, 2004.
7. Fındıkçioğlu, K., Demirtaş, Y., Kandal, S., Ayhan, S., Latifoğlu, O., Çelebi, C., Diyabetik Ayak Yaralarına Multidisipliner Yaklaşım: Diyabetik Ayak Konseyi, Türk Plast. Rekonstr. Est. Cer. Derg., 13(2), 119–120, 2005.
8. Yüksel, H., Bozulmuş Açlık Glukozu ve/veya glukoz toleransının tedavisi, Kardiyoloji Gündemi Sempozyum Dizisi, 64, 53-58, 2008.
9. Diabetes Atlas Sixth edition, International Diabetes Federation, <http://www.idf.org>. 2013. [11/11/2015].
10. Satma, I., Omer, B., Tutuncu, Y., ve ark., Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults, Eur J Epidemiol, 28(2), 80-169, 2013.
11. Khanolkar, MP., Bain, SC., Stephens, JW., The diabetic foot. Q J Med., 101, 685–95, 2008.

12. Frykberg, RG., Lavery, LA., Pham, H., Harvey, C., Harkless, L., Veves, A., Role of neuropathy and high foot pressures in diabetic foot ulceration, *Diabetes Care*. 21(10), 1714–19, 1999.
13. Yüksel, A., Diyabetik Ayak Yarasından Korunma, İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 67, 101–106, 2004.
14. Singh, N., Armstrong, DG., Lipsky, BA., Preventing foot ulcers in patients with diabetes, *JAMA*, 293(2), 217–28, 2005.
15. Zamboni, WA., Wong, HP., Stephenson, LL., Pfeifer, MA., Evaluation of hyperbaric oxygen for diabetic wounds: a prospective study, *Undersea Hyperb Med.*, 24, 175–9, 1997.
16. Lipsky, BA., Infectious problems of the foot in diabetic patients, In *The Diabetic Foot* (6th ed), Bowker JH, Pfeifer MA (eds). Mosby: St. Louis, 467–480, 2001.
17. Lavery, LA., Armstrong, DG., Wunderlich, RP., Mohler, MJ., Wendel, CS., Lipsky, BA., Risk factors for foot infections in individuals with diabetes, *Diabetes Care*, 29, 1288–1293, 2006.
18. Mooney, J., Foot infection and diabetes mellitus, *Podiatry Now* October, 13-21, 2013.
19. Alavi, A., ve ark., Diabetic foot ulcers, Part I. Pathophysiology and prevention, *J Am. Acad. Dermatol*, 1-18, 2014.
20. Loots, MA., Lamme, EN., Mekkes, JR., ve ark., Cultured fibroblasts from chronic diabetic wounds on the lower extremity (non-insulin-dependent diabetes mellitus) show disturbed proliferation, *Arch Dermatol Res.*, 291, 93–9, 1999.
21. Michael, E., Edmonds&Alethea, VM., Managing the Diabetic Foot, 2,

9, 2004.

22. Zubair, M., Malik, A., Ahmad, J., Clinico-microbial study and anti-microbial drug resistance profile of diabetic foot infections in North India, *Foot*, 21, 6–14, 2011.
23. Zochodne, DW., Diabetic polyneuropathy: an update, *Curr Opin Neurol.*, 21, 527–33, 2008.
24. Steed, DL., Diabetic wounds, assessment, classification, and management. In: Krasner, D., Rodeheaver, G., Sibbald, RG., (ed). *Chronic wound care: a clinical source book for healthcare professionals*, Wayne, PA: Health Management Publications, 575–81, 2001.
25. Gardner, SE., Frantz, RA., Wound bioburden and infection-related complications in diabetic foot ulcers, *Biol Res Nurs.*, 10, 44–53, 2008.
26. Ahmad, J., The diabetic foot. *Diab Met Syndr: Clin Res Rev* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsx.2015.04.002>. [04/01/2016].
27. Sommer, TC., Lee, TH., Charcot foot: the diagnostic dilemma, *Am Fam Physician*, 64, 1591–8, 2001.
28. James, GA., Swogger, E., Wolcoh, R., ve ark., Biofilms in chronic wounds, *Wound Repair Regen*, 16, 37–44, 2008.
29. Zubair, M., Malik, A., Ahmad, J., ve ark., A Study of biofilm production by gram negative organisms isolated from diabetic foot ulcer patients, *Biol Med.*, 3(2), 147–57, 2011.
30. Abbott, CA., Carrington, AL., Ashe, H., Bath, S., Every, LC., Griffiths, J., ve ark., The north- west diabetes foot care study: incidence of, and risk factors for, new diabetic foot ulceration in a community-based patient cohort, *Diabetes Med.*, 20, 377–84, 2012.

31. Cavanagh, PR., Lipsky, BA., Bradbury, AW., ve ark., Treatment for diabetic foot ulcers, *Lancet*, 366, 1725-1735, 2005.
32. Karr, JC., The diagnosis of osteomyelitis in diabetes using erythrocyte sedimentation rate, *J Am Podiatr Med Assoc.*, 92, 314-315, 2002.
33. Michail, M., Jude, E., Liaskos, C., Karamagiolis, S., Makrilakis, K., Dimitroulis., ve ark., The performance of serum inflammatory markers for the diagnosis and follow-up of patients with osteomyelitis, *Int J Low Extrem Wounds*, 12, 94–99, 2013.
34. Dinh, T., Snyder, G., Veves, A., Current techniques to detect foot infection in the diabetic patient, *Int J Low Extrem Wounds*, 9, 24–30, 2010.
35. Senneville, E., Morant, H., Descamps, D., Dekeyser, S., Beltrand, E., Singer., ve ark., Needle puncture and transcutaneous bone biopsy cultures are inconsistent in patients with diabetes and suspected osteomyelitis of the foot, *Clin Infect Dis.*, 48, 888–893, 2009.
36. Lipsky, BA., Napolitano, LM., Moran, GJ., Vo, L., Nicholson, S., Kim, M., Inappropriate initial antibiotic treatment for complicated skin and soft tissue infections in hospitalized patients: incidence and associated factors, *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 79, 273–279, 2014.
37. Demir, T., Akıncı, B., Yeşil, S., Diyabetik Ayak Ülserlerinin Tanı ve Tedavisi, *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 21, 63–70, 2007.
38. Uckay, I., Gariani, K., Pataky, Z., Lipsky, BA., Diabetic foot infections: state-of-the-art, *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 16, 305–316, 2014.
39. Teh, J., Berendt, T., Lipsky, BA., Rational Imaging. Investigating suspected bone infection in the diabetic foot, *BMJ.*, 339-490, 2009.

40. Ertugrul, BM., Lipsky, BA., Savk, O., Osteomyelitis or Charcot neuroosteoarthropathy? Differentiating these disorders in diabetic patients with a foot problem, Diabet Foot Ankle, 4(10), 3402, 2013.
41. Güzel Tunçcan, Ö., Dizbay, M., Hızal, K., Karakuş, K., Kanat, D., Ata, N., Diabetic Foot Infections and the Role of Doppler USG in Prognosis, Türkiye Klinikleri J Med Sci., 32, 32-8, 2012.
42. Becker, W., Imaging osteomyelitis and the diabetic foot, Q J Nucl Med., 43, 9-20, 1999.
43. Dinh, MT., Abad, CL., Safdar, N., Diagnostic accuracy of the physical examination and imaging tests for osteomyelitis underlying diabetic foot ulcers: meta-analysis, Clin Infect Dis., 47, 519–527, 2008.
44. Amit Kumar, JC., Joshi, S., Diabetic Foot Classifications: Review of Literature, Medicine Science, 2(3), 715-21, 2013.
45. Treece, KA., Macfarlane, RM., Pound, N., Game, FL., Jeffcoate, WJ., Validation of a system of foot ulcer classification in diabetes mellitus, Diabet Med., 21, 987–991, 2004.
46. Schaper, NC., Diabetic foot ulcer classification system for research purposes: a progress report on criteria for including patients in research studies, Diabetes Metab Res Rev., 20, 90–95, 2004.
47. Lipsky, BA., Anthony, R., Berendt, PB., Cornia, JC., Edgar, J., Peters, DG., Armstrong, H., Gunner, D., Joseph, WS., Adolf, W., Karchmer, MS., Senneville, E., 2012 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infections, Clinical Infectious Diseases, 54(12), 132–173, 2012.
48. Lipsky, BA., Berendt, AR., Deery, HG., ve ark., Diagnosis and treatment of diabetic foot infections, Clinical Infectious Diseases, 39,

885-910, 2004.

49. Eraksoy, H., Diyabetik Ayak Yarası ve İnfeksiyonu: Bir Uzlaşı Raporu, *Klimik Dergisi*, 28(1), 2-34, 2015.
50. Millington, JT., Norris, TW., Effective treatment strategies for diabetic foot wounds, *J. Fam. Prac.*, 49, 40-48, 2000.
51. Lozano, F., Clara, A., Consensus document on treatment of infections in diabetic foot, *Rev Esp Quimioter*, 24(4), 233-262, 2011.
52. IDSA Guideline for Diabetic Foot Infections, *Clinical Infectious Diseases*, 54, 2012.
53. Saltoglu, N., Yemisen, M., Ergonul, O., ve ark., Predictors for limb loss among patient with diabetic foot infections: an observational retrospective multicentric study in Turkey, *Clin Microbiol Infect.*, 21(7), 64-659, 2015.
54. Bennett, JE., Dolin, R., Blaser, MJ., Diabetic Foot and Chronic Superficial Skin Ulcers. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 8, 1207-1210, 2015.
55. Dailly, E., Bouquié, R., Deslandes, G., Jolliet, P., Le Floch, R., A liquid chromatography assay for a quantification of doripenem, ertapenem, imipenem, meropenem concentrations in human plasma: Application to a clinical pharmacokinetic study, *Journal of Chromatography B*, 1137–1142, 2011.
56. Astrazeneca, Meropenem, https://www.astrazeneca.com/content/dam/az/Country_Sites/Turkey/Medicines/Meronem-500-mg-IV-Flakon-KUB.pdf. [21.02.2016].
57. Brem, H., Sheehan, P., Boulton, AJM., Protocol for treatment of diabetic foot ulcer, *The American Journal of Surgery*, 187, 1-10, 2004.

58. Roeckl-Wiedmann, I., Bennett, M., Kranke, P., Systemic review of hyperbaric oxygen in the management of chronic wounds, *Br J Surg.*, 92, 24–32, 2005.
59. Uzun, G., Mutluoğlu, M., Ay, H., Diyabetik ayak ve hiperbarik oksijen tedavisi, *TAF Prev Med Bull.*, 10(3), 255–256, 2011.
60. Chen, CE., Ko, JY., Fong, CY., Juhn, RJ., Treatment of diabetic foot infection with hyperbaric oxygen therapy, *Foot Ankle Surg.*, 16(2), 91-5, 2010.
61. Shi, E., Shofler, D., Maggot debridement therapy: a systematic review, *Br J Community Nurs.*, 6-12, 2014.
62. Sherman, RA., Maggot therapy for treating diabetic foot ulcers unresponsive to conventional therapy, *Diabetes Care*, 26(2), 446-451, 2003.
63. Fırat, C., Aytekin, AH., Erbatur, S., Diyabetik Ayak Sağaltımında Vakum Destekli Kapama (VAC) Metodu ve Debridmanın Birlikte Etkinliği, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 19(3), 7-132, 2012.
64. Viswanathan, V., Pendsey, S., A phase III study to evaluate the safety and efficacy of recombinant human epidermal growth factor in healing diabetic foot ulcer, *Wounds*, 18(7), 96-186, 2006.
65. Kurup, H., Thomas, M., Orthopaedics and diabetes, *Acta Orthop Belg.*, 79, 483-487, 2013.
66. Lavery, LA., Armstrong, DG., Vela, SA., Quebedeaux, TL., Fleischli, JG., Practical criteria for screening patients at high risk for diabetic foot ulceration, *Arch Intern Med.*, 158, 157-62, 1998.
67. Mazen, SB., Diabetic Foot Infection, *American Family Physician*, 1(78), 72-78, 2008.

68. Löffler, M., Schmohl, M., Schneiderhan-Marra, N., Beckert, S. Wound Fluid Diagnostics in Diabetic Foot Ulcers, Intech, 48-70, 2011.
69. Löffler, M., Zieker, D., Weinreich, J., Northoff, H., Beckert, S. Wound fluid lactate concentration: a helpful marker for diagnosing soft-tissue infection in diabetic foot ulcers? Preliminary findings. Diabetic Medicine, 175-178, 2010.
70. Huang, L., Haagensen, J., Verotta, D., Lizak, P., Aweeka, F., Yang, K. Determination of meropenem in bacterial media by LC–MS/MS, Journal of Chromatography B, 961, 71–76, 2014.
71. Ali, MA., Ali, AN. Tissue and plasma concentrations of meropenem in diabetic foot infected patients, Middle East Journal of Medicine, 10(6), 35-40, 2013.
72. Rigo-Bonnin, R., Juvany-Roig, R., Leiva, E., Sabater, J., Xose, L., Colom, H., Alia, P., Measurement of meropenem concentration in different human biological fluids by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Anal Bioanal Chem., 406, 4997–5007, 2014.