

Olgularla antifungal direnç ve klinik yansımaları



Dr. A. Nedret KOÇ

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Kayseri

OLGU SUNUMLARI-1



Olgu-1

- **Yaş:**27, inşaat işçisi
- **Cins:** Erkek
- **Tanı:** Bilinen kronik bir hastalığı olmayan
- **Şikayetleri:** Baş ağrısı ve çift görme
- **Hikayesinde:** Yaklaşık bir aydır baş ağrıları olduğu
 - Bir ay önce sinüzit olduğu düşünülerek antibiyotik tedavisi aldığı
- **Fizik muayenede;**
 - Genel durumu iyi, bilinci açık ve koopere
 - Ateş yok (36.5° C),
 - Diğer biyokimyasal parametrelerinde özellik yok

Olgu-1

- **Manyetik rezonans görüntüleme (MRI)' de;**

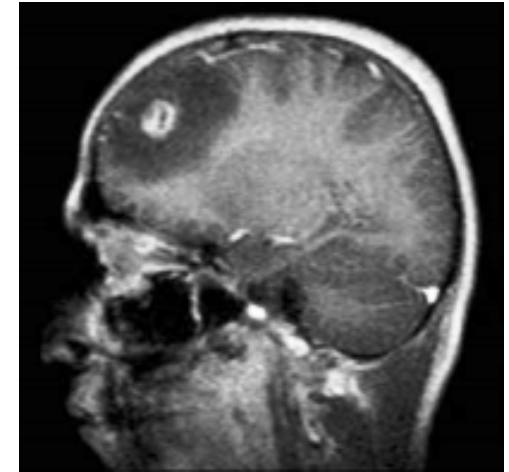
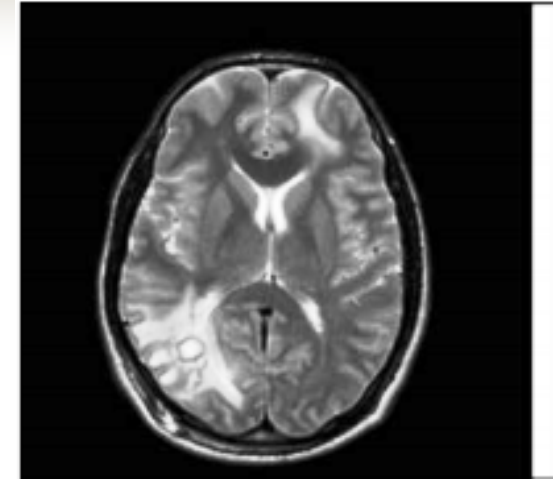
- Sağ parietal lobda 20 x 16 mm,
- Sol frontal lobda 19 x16 mm ölçülerinde yer kaplayıcı lezyon izlenmesi

- **Beyin cerrahisi servisine devir edildi**

- **Seftriakson (2x2 gr)**

Metronidazol (4x 500 mg)

} **başlandı**



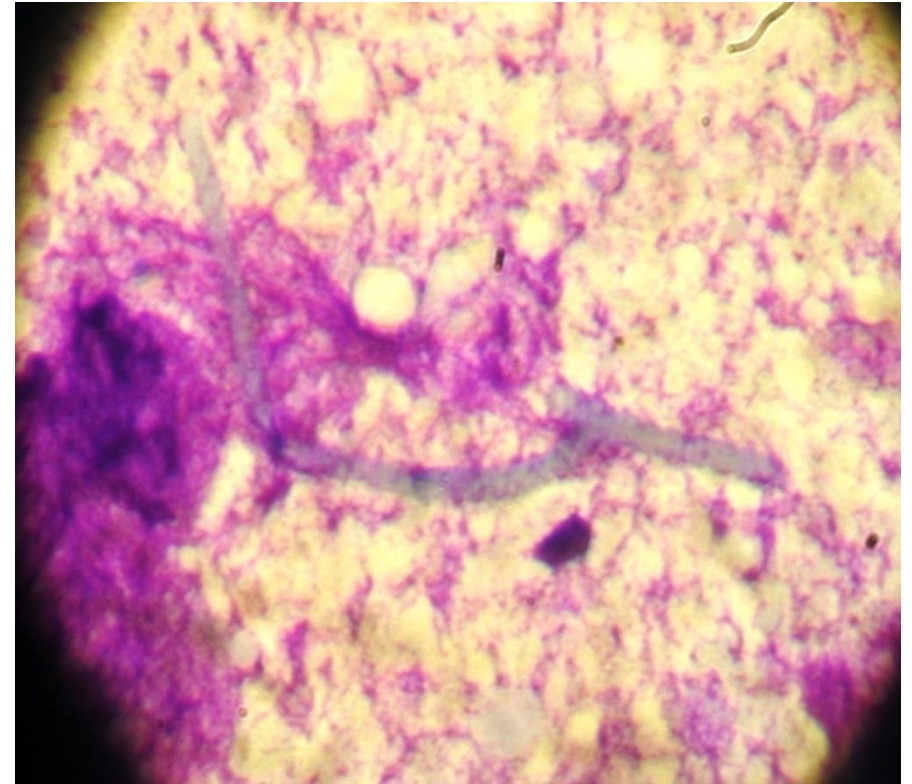


Olgu-1

- Beyin absesi ön tanısı ile
- Sekiz gün sonra opere edildi
 - Sağ parietal bölgedeki lezyonu drene edilirken,
 - Sol frontal lobdaki lezyona dominant hemisfer olması ve konuşma merkezine yakınlığı nedeniyle müdahale edilemedi.
- Abse örneği mikoloji laboratuvarına gönderilerek işleme alındı

Mikoloji inceleme;

- Abse sıvısı santrifüj edildikten sonra mikroskopik incelemesi yapıldı.
- Direkt bakı, Gram ve Giemsa boyama yöntemleri ile septalı hifa görüldü





Olgu-1

- Septalı hifa görülmesi üzerine
- Lipozomal amfoterisin B (3 mg/kg) başlanarak
- Enfeksiyon hastalıkları servisine devir edildi
- Hastanın insan immün yetmezlik virüsü antikoru (anti-HIV) ve galaktomannan antijeni negatif olarak saptandı.

Kültür

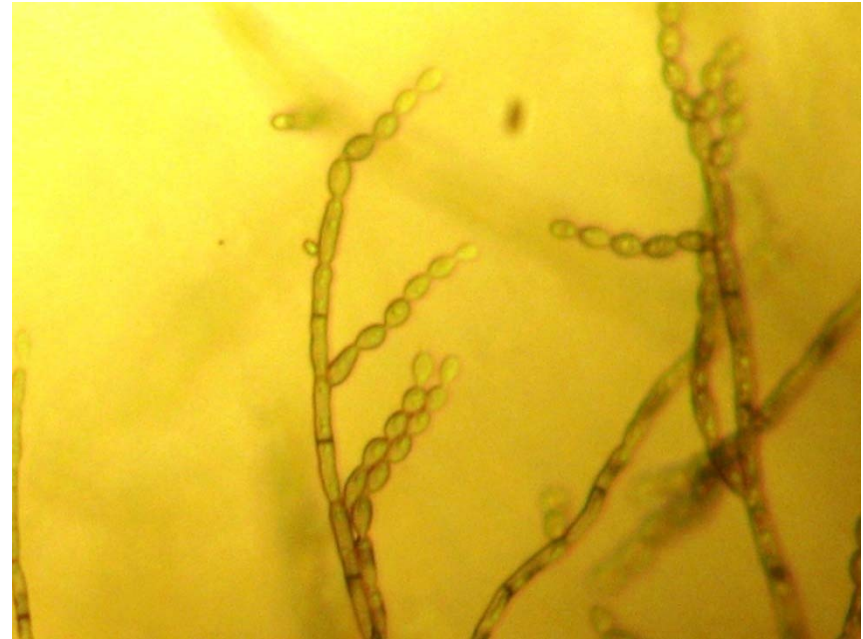
- Sabouraud Dextroz Agar
- 37 ve 25 °C' de üreme inkübasyonun 9. gününde
- **Sikloheksimidli** Sabouraud dekstrozo agar dahil olmak üzere tüm besiyerlerinde yüzeyi zeytin grisi tabanı siyah, kadifemsi koloniler görüldü
- 42 ° C' de üreyebilme yeteneği
- Üreaz pozitifliği

02.04.2016



Lam kültürü mikroskopik incelemede;

- Çok uzun, birbiriyle birleşmiş, zayıf dallanmalar gösteren limon şeklinde konidyum zincirleri görüldü





Dokunun kültüründe bu görüntüler ile hangi mantar olabilir?

- *a) Candida albicans*
- *b) Aspergillus fumigatus*
- *c) Fusarium solani*
- *d) Alternaria alternata*
- *e) Cladophialaphora bantiana*



Dokunun kültüründe bu görüntüler ile hangi mantar olabilir?

- a) *Candida albicans*
- b) *Aspergillus fumigatus*
- c) *Fusarium solani*
- d) *Alternaria alternata*
- e) *Cladophialaphora bantiana*



Kültürden tür düzeyinde tanımlama;

- Mısır unlu-Tween 80 agarda lam kültüründe;
- Çok uzun, birbiriyle birleşmiş, zayıf dallanmalar gösteren limon şeklinde konidyum zincirleri görülmesi
- 42 ° C' de üreyebilme yeteneği
- Üreaz pozitifliği
- Sikloheksimide dirençli olması

Cladophilaphora bantiana

Klinik izolatin DNA dizi analizi

- ABI 3730XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Dizi analizi verisi "Multiple sequence alignment by Florence Corpet" MULTALIN sistemi (<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin>) kullanılarak analiz edildi ve *C. bantiana* ile %100 uyumlu bulundu.

- 
- Bakteriyolojik kültürlerde üreme olmaması nedeniyle hastanın seftriakson ve metronidazol tedavisi kesildi.



Bu suş invitro antifungal duyarlılık testi için hangi **CLSI** ve **EUCAST** standardına göre çalışılmalıdır?

- A) M27-A3 ve EDef 9.2
- B) M27-A3 ve EDef 7.2
- C) M38-A2 ve EDef 9.2
- D) M38-A2 ve ve EDef 7.2
- E) M44-A2 ve EDef 7.2



Bu suş invitro antifungal duyarlılık testi için hangi **CLSI** ve **EUCAST** standardına göre çalışılmalıdır?

- A)M27-A3 ve EDef 9.2
- B) M27-A3 ve EDef 7.2
- **C)M38-A2 ve EDef 9.2**
- D)M38-A2 ve ve EDef 7.2
- E)M44-A2 ve EDef 7.2



Suşun antifungal duyarlılığı;

- minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK);
- Amfoterisin B; 2 µg/mL
- Vorikonazol; 0.03 µg/mL
- Kaspofungin; 0.03 µg/mL
- Posakonazol; 0.03 µg/mL



Olgu-1

Tedavi;

- Antifungal duyarlılık sonucuna göre lipozomal amfoterisin B yerine vorikonazol (ilk gün 2x6 mg/kg, takiben 2x4 mg/kg) başlandı.



Tedavinin devamı ve sonuç

- Vital bulgularının stabil seyretmesi,
- kontrol MRI' da frontal lob abse boyutunda küçülme olması
- Şikayetlerinin geçmesi üzerine hasta vorikonazol tablet ile taburcu edildi.



Cladophilaphora bantiana



genel bilgi

- *Cladophialophora bantiana*
- Dematiaceous fungi (dematiyöz, esmer)
- Ascomycota sınıfından
- Dünyada yaygın toprakta bulunabilmekte
- Feohifomikoz etkeni



Cladophialophora bantiana

- ‘*Cladosporium trichoides*’,
‘*Cladosporium bantianum*’
‘*Xylohypha bantiana*’ gibi değişik isimlerle adlandırılan
- Serebral feohifomikoz olgularının çoğunluğunu oluşturan, **nörotropik** bir küf mantarıdır.

Huang WM, J Med Microbiol 2011; 60 (Pt 12): 1872-4.



***Cladophialophora bantiana* serebral feohifomikoz**

Olguların yaklaşık yarısını immun kompetan bireyler oluşturmaktadır ve tedavi edilmeyen olgularda enfeksiyon 1-6 ay içerisinde ölümlle sonuçlandığı bildirilmektedir

Huang WM, et al. J Med Microbiol 2011; 60 (Pt 12): 1872-4.

Levin TP, et al. J Clin Microbiol 2004; 42(9): 4374-8.



Cladophialophora bantiana serebral feohifomikoz

- Baş ağrısını takiben ortaya çıkan fokal nörolojik semptomlar en sık görülen tablodur.
- Beyinin radyolojik görüntülemelerinde;
 - Sıklıkla tek taraflı sınırları belirgin yer kaplayıcı lezyonlar
 - Frontal lob ,parietal lob, oksipital lob, serebellum ve medulla oblongata en çok tutulumun olduğu bölgeler

Jayakeerthi SR, et al.Indian J Med Microbiol 2004; 22(3): 193-5.

Bu olguda;

- Baş ağrısı ve sonrasında çift görme şikayeti ile başvuran olgumuz da 27 yaşında, immün kompetan erkek hastaydı ve sağ parietal ve sol frontal lobda sınırları belirgin yer kaplayıcı lezyonu vardı.



İnsanlarda enfeksiyona neden olan *Cladophialophora* türleri;

- **Nörotropik türler:** *C. bantiana*, *C. emmonsii*, *C. modesta*; Kromoblastomikoz etkeni: *C. carrionii*;
- **Subkutan hastalık etkenleri:** *C. arxii*, *C. devriesii*, *C. boppii*; ve
- **Tinea-benzeri lezyon yapanlar:** *C. saturnica*. *C. bantiana*
- Toprak mantarı olduğu

Cladophialophora türlerin tanısı;

- Tipik morfolojisi
- 42-43 °C' de, sikloheksimid içeren besiyerinde üreyebilme yeteneği
- Üreaz pozitifliği de tanıyı kolaylaştıran biyokimyasal ve fizyolojik yöntemlerdir
- Konvansiyonel yöntemlerle *Cladophilaphora bantiana* olarak tanımladığımız klinik izolat, DNA dizi analizi yöntemiyle de *Cladophilaphora bantiana* ile %100 uyumlu bulundu.



Serebral feohifomikozların tedavisi

- Standart bir tedavi protokolü bulunmamaktadır
- Zordur
- Cerrahi eksizyon gereklidir
- Antifungal tedavi gereklidir
- Antifungal tedavi için standart bir rehber yoktur.

Revankar SG, et al.Clin Infect Dis 2004; 38(2): 206-16.

- 
- Ketokonazol, mikonazol ve flukonazol tedavide önerilmemektedir.

Schell WA, Salkin IF, McGinnis MR 2003, 8th ed. ASM Press,
Washington, DC.

- 
- Amfoterisin B' nin *C. bantiana*' ya karşı antifungal aktivitesi olmasına rağmen, amfoterisin B' ye karşı direnç görülebilir.

Sutton D. 02-03 Kasım 2012, İzmir. Mikoloji Laboratuvarında Tanımlama Kursu Kitabı, s:11-16.

Bizim suşumuzda da amfoterisin B için MİK değeri, 2 µg/ml olarak bulundu.



***Cladophilaphora bantiana* beyin absesi tedavide: Vorikonazol**

- SSS' ne penetrasyonu iyi olan *C. bantiana* için fungisidal etkinlik gösteren bir antifungal
- Tedavide başarı ve başarısızlığı konusunda çeşitli raporlar vardır.

Lyons MK, Clin Neurol Neurosurg 2005; 107(6): 532-4.

Ajantha GS,. J Clin Diag Res 2011, 5(6):1301-6.

Fica A, Scand J Infect Dis 2003; 35 (11-12): 892-3.



C. bantiana' nın in vitro duyarlılık test;

- Genellikle itrakonazol ve vorikonazole duyarlı
- Amfoterisin B ve flusitozine duyarlı ya da dirençli
- Flukonazole ise dirençli olduğu bildirilmektedir.

Levin TP, et al. J Clin Microbiol 2004; 42(9): 4374-8.

Lyons MK, et al. Clin Neurol Neurosurg 2005; 107(6): 532-4.



Bu suşta;

- minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK);
- Amfoterisin B; 2 µg/mL
- Vorikonazol; 0.03 µg/mL
- Kaspofungin; 0.03 µg/mL
- Posakonazol; 0.03 µg/mL



Olgu-1

Sonuç olarak;

- İmmün sistemi normal olan bireylerde de serebral feohifomikozun görülebileceği akılda tutulmalı
- Bu hastalardan alınan örnekler mutlaka mikoloji laboratuvarlarına da gönderilmeli ve erken tanının hayat kurtarabileceği unutulmamalıdır.

OLGU SUNUMLARI-2



Olgu-2

- **Yaş:** 26
- **Cins:** kadın
- **Tanı:** B hücreli malign lenfoma 6 kür kemoterapi
- **Şikayetleri:** ateş, öksürük, balgam çıkarma, ishal, nefes darlığı ve gece terlemesi
- **Fizik muayenede;** genel durumu iyi, bilinci açık ve koopere
- PET-CT' sinde pre ve paratrakeal bölgeden başlayıp üst mediasteni, perikardiyal alanı dolduran multipl lenf nodu tutulumu izlendi.
- Kemik iliği aspirasyonunun normoselüler saptanması üzerine kemoterapi başlandı. Sonrasında otolog kemik iliği transplantasyonu planlandı

- 
- Hastanın kan kültüründe *S.aureus*, balgam kültüründe *Acinetobacter baumannii* üremesi üzerine
 - Tedavi:
 - Meropenem, vankomisin ve
 - **Kaspofungin** tedavisi başlandı
 - Mediastenal lenf nodu saptanan nötropenik hastanın yatışının 22. gününde kan kültürü alındı.

- 
- kan kültüründe mantar üremesi oldu.

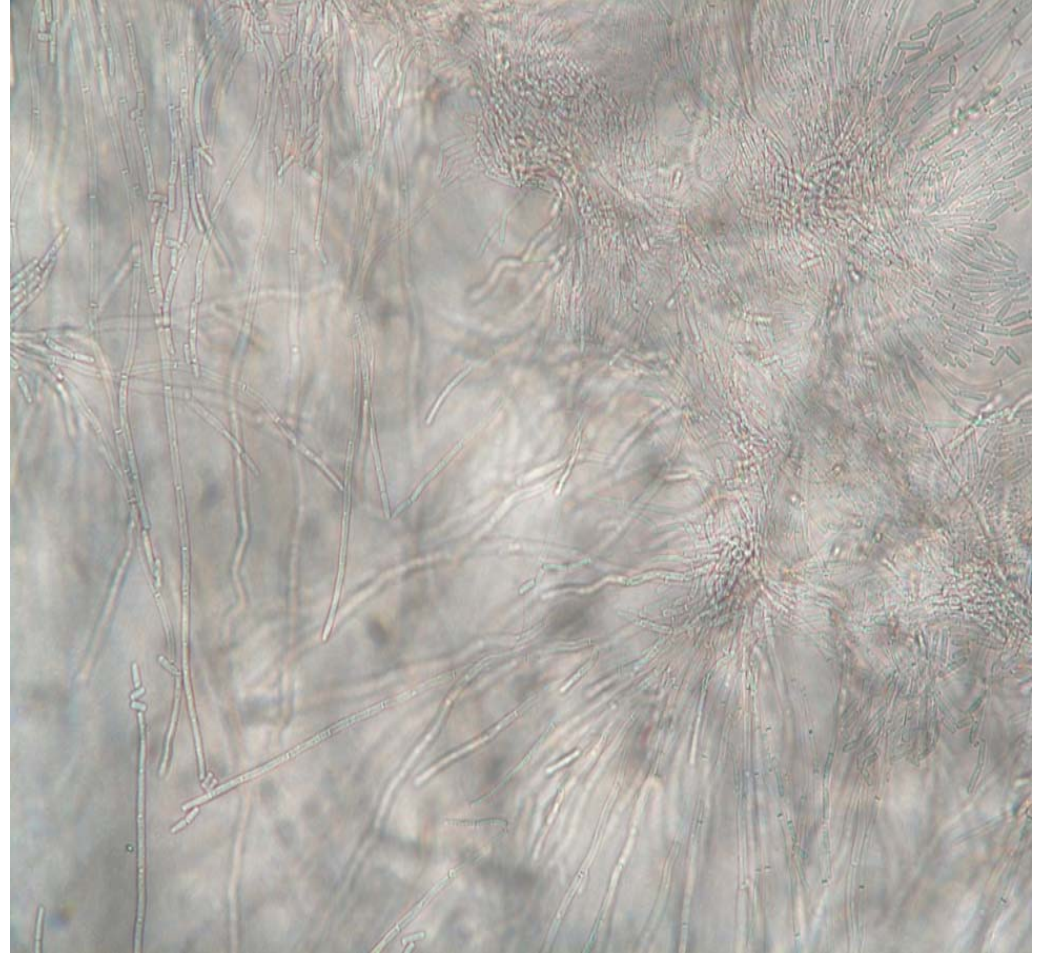
Kan kültüründe

- Mantar üremesi oldu
- SDA ‘ kolonisi;
24 saatte kuru,
buruşuk, krem
renginde maya
benzeri koloniler
saptandı.



Mısır unlu-Tween 80 agarla lam kültüründe

- Gerçek ve yalancı hifler
- Blastokonidya
- Anellokonidyalar belirlendi.



- 
- Germ tüp testi negatifti.
 - Üreaz testi negatifti.
 - Anellokonidyalar oluşturmuş
 - API 20C AUX (Biomerieux, Fransa) ile karbonhidratlardan;
 - glikoz pozitif, diğerleri negatif olduğu görüldü.
 - SDA' da 45° Cde 24 saatte üremesi belirlendi.
 - Sikloheksimid dirençli olduğu gözlemlendi.



Kan kültüründe üreyen bu mantar
aşağıdakilerden hangi olabilir?

- a) *Candida krusei*
- b) *Rhodotorula rubra*
- c) *Saccharomyces cerevisiae*
- d) *Trichosporon asahii*
- e) *Saprochaete capitata*



Kan kültüründe üreyen bu mantar
aşağıdakilerden hangi olabilir?

- a) *Candida krusei*
- b) *Rhodotorula rubra*
- c) *Saccharomyces cerevisiae*
- d) *Trichosporon asahii*
- e) *Saprochaete capitata*

- 
- Mikroskopik ve makroskopik görünüşleri
 - Karbonhidrat asimilasyon testleri,
 - Üreaz negatifliği,
 - SDA' da 45° Cde üreme olması
 - Sikloheksimid dirençli olması üzerine
 - *Saprochaete capitata* olarak tanımlandı



Suşlarını tanımlanmasının doğrulanması

- konvasyonel yöntemle *Saprochaete capitata* tanısı alan suşlar Sanger' in DNA Dizi analizi moleküler yöntemi ile de *Saprochaete capitata* olarak tanımlandı.

RepPCR yöntemi ile DiversiLab System (BioMerieux, Fransa) kullanılarak jel benzeri görüntü

Key

1

Kan Hematoloji B Hücreli Lenfoma





Bu suşun invitro antifungal duyarlılık testi için
hangi antifungal tercih edilmez?

- a)Amfoterisin B
- b)Kaspofungin
- c)Vorikonazol
- d)Flukonazol
- e)İtrakonazol



Bu suşun invitro antifungal duyarlılık testi için
hangi antifungal tercih edilmez?

a)Amfoterisin B

b)Kaspofungin

c)Vorikonazol

d)Flukonazol

e)İtrakonazol



Bu suş invitro antifungal duyarlılık testi için hangi **CLSI** ve **EUCAST** standardına göre çalışılmalıdır?

- A) M27-A3 ve EDef 9.2
- B) M27-A3 ve EDef 7.2
- C) M38-A2 ve EDef 9.2
- D) M38-A2 ve ve EDef 7.2
- E) M44-A2 ve EDef 7.2



Bu suş invitro antifungal duyarlılık testi için hangi **CLSI** ve **EUCAST** standardına göre çalışılmalıdır?

- A) M27-A3 ve EDef 9.2
- **B) M27-A3 ve EDef 7.2**
- C) M38-A2 ve EDef 9.2
- D) M38-A2 ve ve EDef 7.2
- E) M44-A2 ve EDef 7.2

Suşun antifungal duyarlılığı;

Antifungal	MİK(µg/mL)
Amfoterisin B	0,25
Vorikanazol	0,03
Flukonazol	2
Itrakonazol	0,06
Ketokonozol	0,125
Kaspofungin	>32

Kan kültüründe *Saprochaete capitata* üremesi

- 7 gün boyunca almış olduğu kaspofungin tedavisi sonlandırılarak vorikonazole geçildi.
- Ateşlerinin yüksek seyretmesi üzerine 9 günlük vorikonazol tedavisine amfoterisin B ilave edildi.
- Amfoterisin B ile ateşleri düşen, kan kültürlerinde üreme olmayan hastada
- kardiyak arrest gelişerek yatışının 69. gününde kaybedildi.



Saprochaete capitata



Saprochaete capitata

- Fungi

- Ascomycota

- Sacchromycetes

- Sacchromycetales

- Dipodascaceae

- *Saprochaete*

- *Saprochaete capitata*

(Diddens & Lodder) de Hoog GS, Smith MT. Stud Mycol 2004; 50:489-515.



Saprochaete capitata

- *Blastoschizomyces capitatus*
- *Trichosporon spp.*
- *Geotrichum capitatum*
- immün sistemi baskılanmış kişilerde derinin mikroflorasında, solunum ve sindirim yolları mukozasında da bulunabilir
- Enfeksiyon etkeni olarak ilk kez 1965

Gemeinhardt H. *Zentralbl Bakteriolog Orig* 1965;196(1): 121-33.



Saprochaete capitata

- Hematolojik malignensi hastalarında daha sık sistemik enfeksiyonlardan
- Hastane enfeksiyonu ve epidemiyolojik olarak salgınlar yaptığı
- Etkenin en sık nötroopenik hastaların kan kültürlerinden izole edildiği bildirilmektedir.

Koç AN et al. Mikrobiyol Bul 2013; 47(4): 734-741

Girmenia C, et al. J Clin Microbiol 2005; 43(4): 1818-28.

Martino R, et al. Clin Infect Dis 2004; 38(3): 336-41.

- Antifungal ajanlara dirençli olduğu rapor edilmektedir



Saprochaete capitata enfeksiyonu

- Lösemili hastalarda fungemi olgularını değerlendirmişler;
- Olguların antifungaller ile tedavi oranının %20-33
- Mortalitesinin çok yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

Martino R, et al. Clin Infect Dis 2004; 38(3): 336-41.



Saprochaete capitata etken olarak izole edildiği;

- Akut lösemili hastaların %0.5' inde bildirilmektedir

Girmenia C., et al. J Clin Microbiol 2005; 43: 1818-28.

- fungemi olgularının;
- 1/44
- 2/214
- 3/71' inde izole edildiği bildirilmektedir

Gültekin B, Mikrobiyol Bul 2012; 46(1): 134-43.

Otağ F, Enfeksiyon Dergisi 2011; 19(4): 435-43.

Wise MG, PCR. J Med Microbiol 2007; 56:778-787.



Saprochaete capitata enfeksiyon tedavisi

- Standart bir prosedür olmadığı
- Tedavisinin zor olduğunu vurgulayan olgu sunumları ve değerlendirmeleri vardır.

Martino R, et al., CID 2004;38:336-341.

Lafayette TC, Rev Soc Bras Med Trop. 2011; 44(5): 648-50.



Saprochaete capitata neden olduğu fungemi olgusunun tedavisinde;

- itrakonazol, vorikonazol, amfoterisin B kullanıldığı fakat 17.günü kaybedildiğini bildirmişlerdir.

Lafayette TC, Rev Soc Bras Med Trop. 2011; 44(5): 648-50.



Saprochaete capitata suşlarına karşı invitro antifungal duyarlılık;

- Bilgiler sınırlıdır
- Referans yöntemlerle duyarlılık sınır değeri saptanmamıştır.
- İtrakonazol, vorikonazolün aktif olduğu bildirilmektedir

Koç AN et al. Mikrobiyol Bul 2013; 47(4): 734-741

Gültekin B, Mikrobiyol Bul 2012; 46(1): 134-43.

Girmenia, C., et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2003; 47:3985–8.



Saprochaete capitata suşlarına karşı invitro antifungal duyarlılık;

- Amfoterisin B yüksek aktivite gösterirken flusitozin, flukonazol ve itrakonazol karşı duyarlılığın azaldığını buna karşın vorikonazole duyarlılığın arttığı ileri sürülmektedir

Gadea I, et al. J. Clin. Microbiol. 2004; 42: 1832–1836.

Gültekin B, Mikrobiyol Bul 2012; 46(1): 134-43.



Bu olguda;

- Kasfofungin dışında amfoterisin B, flukonazol, ve vorikonazol için yüksek aktivite gösterdiği belirlendi



Saprochaete capitata suşlarını laboratuvarlarda tanıda;

- *Trichosporon* suşlarından ve *Geotrichum* cinsinden ayırt etmek gerekmektedir.
- Bunun için morfolojik farklılık sadece yetmemekte ayrıca biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler testlerinde kullanılması gerektiği bildirilmektedir

Gadea I, et al. J Clin Microbiol.2004; 42: 1832–1836.



Sonuç olarak;

- *Saprochaete capitata* özellikle hematolojik malignansili ve kateterli hastaların yaşamı tehdit eden sistemik fungal enfeksiyonlarında etken olarak düşünülmelidir.
- Bu tür hastalarda ampirik antifungal seçimi dikkatli yapılmalıdır.
- *Saprochaete capitata* klinik suşlarının invitro antifungal duyarlılık sonuçlarının bildirilmesi, tanı ve tedavi politikalarda yol göstermesi bakımından önemlidir.

TEŞEKKÜRLER

