OLGU RAPORU: BİR *FUSARIUM* FUNGEMİSİ

CASE REPORT: A *FUSARIUM* FUNGAEMIA

Mine YÜCESOY, M. Cem ERGON*, Hale ÖREN**, Zeynep GÜLAY**

ÖZET: Bu raporda, akut lenfoblastik lösemili (ALL) bir hastada gelişen *sarium* fungemisi olgusu sunulmaktadır. Halsizlik, iştahsızlık, solukluk ve caklarında morluklar nedeniyle başvurduğu Çocuk Hastalıkları Hematoloji niğinde ALL-L1 tanısı alan yedi yaşındaki kız hastaya kemoterapi başlanmıştır. ğun sitotoksik kemoterapi alırken, ateşinin yükselmesi, lökopenik ve nötropenik nası üzerine hastanın kemoterapisi kesilmiş ve santral venöz kateter ile periferik n kültürleri alınmıştır. İki gün üst üste alınan kan kültür örneklerinde *Fusarium apsinum* üremesi saptanmıştır. Bunun üzerine hastanın santral venöz kateteri artılmış ve amfoterisin B tedaviye eklenmiştir. Bu uygulama ile febril nötropeni ağının beşinci gününde hastanın ateşi normale dönmüştür. Radyolojik elemeleri normal olarak değerlendirilen olgunun daha sonraki kan kültürlerinde eme olmamıştır. Amfoterisin B tedavisinin 21. gününde kemoterapiye tekrar şlanmış ve amfoterisin B beşinci haftada kesilerek, oral itrakonazole (200 mg/ n) geçilmiştir. İtrakonazol tedavisi üç ay sonra kesilen hasta halen remisyonda ıp, idame tedavi almaya devam etmektedir. Sonuç olarak, olgumuzda da endiği gibi erken tanı ve tedavinin hayati önem taşıdığı immünosüpresif stalarda, ateş dışında başka bir bulgunun olmadığı, sadece fungemi ile yreden *Fusarium* enfeksiyonlarına dikkat edilmelidir.

Anahtar sözcükler: Akut lenfoblastik lösemi, fungemi, Fusarium thapsinum.

ABSTRACT: In this report, a case of *Fusarium* fungaemia developed in an ute lymphoblastic leukemia (ALL) patient was presented. A seven year old girl o had weakness, loss of appetite, paleness and ecchymosis on legs applied Pediatric Hematology Service and cytotoxic chemotherapy was started after she d been diagnosed as ALL-L1. Her chemotherapy was stopped because of crease in fever, leukopenia and neutropenia. Central venous catheter and ripheral blood cultures were obtained. *Fusarium thapsinum* was recovered from od cultures, obtained in two consecutive days. Thereupon central venous catheter the patient was removed and intravenous amphotericin B was added to the erapy. On the fifth day of febrile neutropenia attack, her fever was decreased er the onset of antifungal therapy. Radiological examinations were normal and

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir.

liş Tarihi: 6.1.2004 Kabul Ediliş Tarihi: 8.6.2004

no fungal growth was observed in the later blood cultures. On the 21st day of amphotericin B therapy, chemotherapy was started again and amphotericin B was changed to peroral itraconazole (200 mg/day) at the fifth week. The patient whose itraconazole therapy was stopped after three months, was still in remission and continued receiving her prolonged therapy. In conclusion, *Fusarium* infections which manifest with fungaemia and fever as the only symptoms, should be taken into consideration in neutropenic patients receiving immunosuppressive therapy.

Key words: Acute lymphoblastic leukemia, fungaemia, Fusarium thapsinum.

GİRİŞ

Fusarium türleri, toprakta ve organik atıklarda saprofit olarak bulunan ve bitkilerde hastalığa neden olan küf mantarlarıdır[1]. Sağlıklı kişilerde çoğu kez travmayı takip eden yüzeyel deri enfeksiyonları, keratit, endoftalmit ve miçetoma gibi kas ve iskelet sistemi hastalıklarına neden olmaktadır. İmmün yetmezlikli olgularda küçük travmalar, solunum yolu ya da intravasküler kateterler ile etkenin alınmasının yaygın enfeksiyonlara yol açabildiği belirtilmiştir[2]. Son yıllarda hematolojik maligniteli kişiler, kemik iliği nakli geçiren hastalar ve AIDS gibi immün yetmezliğe neden olan olgularda, *Fusarium* türleri ile oluşan yaygın enfeksiyonlar önemli bir sorun haline gelmiştir[2-6]. Yaygın enfeksiyon çoğu zaman uzun süren bir nötropenik dönemin ardından ateş ve kas ağrıları gibi özgün olmayan bulgularla başlayıp, en sık deri lezyonları, pnömoni, fungemi ve rhinoserebral tutulum gibi klinik tablolar şeklinde seyretmektedir[1,2].

Hastalığın tanısında en önemli klinik örnekler, kan ve deri lezyonlarından elde edilen biyopsi materyalidir. Yaygın aspergilloziste görülenin tersine, yaygın *Fusarium* enfeksiyonlarında etken kan kültürlerinden yüksek oranlarda izole edilebilir. Kesin tanı için etkenin izolasyonu ve tanımlanması gereklidir. Enfeksiyonlardan en sık izole edilen türler *F.solani, F.oxysporum* ve *F.moniliforme* olup, olguların üçte birinde tür düzeyinde tanımlama yapılamamaktadır[1,2].

Bu raporda, yoğun sitotoksik kemoterapisi sürmekte olan akut lenfoblastik lösemili bir hastada, nötropenik dönemde gelişen bir *Fusarium* fungemisi olgusu sunulmaktadır.

OLGU RAPORU

Çocuk Hastalıkları Hematoloji Polikliniğine 13.08.2001 tarihinde halsizlik, iştahsızlık, solukluk ve bacaklarında morluklar nedeniyle başvuran yedi yaşındaki kız hastaya muayene ve laboratuvar tetkikleri sonucunda akut lenfoblastik lösemi (ALL)-L1 (pre-pre B hücreli) tanısı konuldu. İlk başvuru sırasında hastanın laboratuvar bulguları; hemoglobin (Hb) 5.8 gr/dl, beyaz kan hücresi (BK) 7200/mm^3, trombosit 20000/mm^3 ve periferik yaymada %46 blast olarak saptandı. Hastaya ALL-BFM 95 kemoterapisi protokol 1 tedavisi başlandı. Yoğun sitotoksik kemoterapi sürmekteyken 23.10.2001 tarihinde hastanın ateşinin 38.7°C'ye yükselmesi, lökopeni (BK: 1700/mm^3) ve nötropeni (absolü nötrofil sayısı: 740/mm^3) saptanması üzerine kemoterapi kesildi ve santral venöz kateter ile periferik kan kültürleri alındı. Fizik muayenedeki

ol maksiller sinüs duyarlılığı nedeniyle sefepim, amikasin ve teikoplanin tedavisi ıaşlandı. Akciğer grafisi, batın ultrasonografisi, paranazal sinüs ve toraks bilgisayarlı ɔmografisinde odak saptanmadı. İki gün üst üste alınan yedi kan kültürü örneğinde le küf mantarı üremesi üzerine hastanın santral venöz kateteri çıkartıldı ve 3 mg/ g/gün dozunda intravenöz amfoterisin B tedavisi başlandı. Kan kültürlerinde ıakteriyel etken üretmemesi üzerine, febril nötropeni atağının beşinci gününde tüm ntibiyotikleri kesildi. Yapılan incelemelerde üreyen küf mantarı *Fusarium spp.* olarak ıanımlandı. Daha sonraki kan kültürlerinde üreme saptanmaması ve hastada ateş ükselmelerinin izlenmemesi üzerine amfoterisin B tedavisinin 21. gününde sitotoksik emoterapiye tekrar başlandı. Amfoterisin B beşinci haftada kesilerek, 200 mg/gün ozunda oral itrakonazol tedavisine geçildi. İtrakonazol tedavisi yoğun kemoterapi üresince üç ay kullanılarak kesilen hasta halen remisyonda olup, idame tedavisi lmaya devam etmektedir.

Laboratuvar tanısı: Hastanın iki gün üst üste alınan santral venöz kateter e periferik kan kültürü örnekleri Bactec 9240 (Becton Dickinson) otomatize sistemine it kan kültürü şişelerine inoküle edildi. Yedi kan kültür örneğinde üreme elirlenmesinden sonra bu şişelerden kanlı, çikolata ve eozin metilen mavisi (EMB) garlara yapılan pasajlarda küf üremesi saptandı. Bu plaklarda üremiş olan olonilerden laktofenol pamuk mavisi (LFPM) ve asit fuksin ile hazırlanan reparatların mikroskobik değerlendirmesinde etkenin *Fusarium spp.* olduğu üşünüldü. İlk üreme gözlenen plaklardaki kolonilerden Sabouraud dekstroz agara SDA) pasaj yapıldı ve lam kültürü hazırlandı. İlk kez 48. saatte belirginleşen koloniler nce beyaz, pamuğumsu iken (Resim 1) daha sonra yaklaşık 5 cm çapa ulaşan üzensiz yapıdaki koloninin merkezi pembe-mor, etrafı ise sarı renkli olarak izlendi. oloninin arka yüzeyi ise sarı-açık kahverengi pigmentliydi. Koloniden hazırlanan



Şekil 1: Üreyen *Fusarium* kolonisinin SDA'daki görünümü.



Şekil 2: Koloniden hazırlanan LFPM preparatı görüntüsü.

LFPM ve asit fuksin preparatlarında *Fusarium* cinsinin özelliği olan septalı hifler, dallanan konidyoforlar, dört-beş hücreli kano şeklinde makrokonidiyumlar ve tek ya da kümeler halinde bir veya iki hücreli mikrokonidiyum kümeleri gözlendi. Ayrıca, çoğunlukla tek interkalar klamidosporlar izlendi (Resim 2). Bu bulgular ile üreyen küf mantarının *Fusarium spp.* olduğuna karar verildi[7,8]. Üreyen suş "Centers for Disease Control" (CDC) fungus referans ünitesine ileri tanımlama için gönderildi. Morfolojik özellikleri incelenen suşun burada ve A.B.D. tarım departmanı *Fusarium* araştırma laboratuvarında yapılan EF-1 α geninin DNA dizi analizi sonuçlarına göre *Fusarium thapsinum* olduğu belirlendi.

Antifungal duyarlılık deneyi: *F.thapsinum* izolatının amfoterisin B ve flukonazol için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri "National Committee for Clinical Laboratory Standards"ın (NCCLS) M38-P standartları doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı[9]. Besiyeri olarak 3-N-morfolinopropan sulfonik asit (MOPS) (Sigma) ile tamponlanan RPMI 1640 (L-glutaminli, sodyum bikarbonatsız) (Sigma) kullanıldı. Kuyucuklarda son ilaç konsantrasyonları amfoterisin B için 16-0.03 μg/ml, flukonazol için 64-0.125 μg/ml arasında olacak şekilde hazırlandı. Konidyum oluşumunu artırmak amacıyla, suş patates dekstroz agar besiyerine pasajlandı ve 35°C'de yedi gün inkübe edildi. Daha sonra kolonilerin üzeri serum fizyolojik ile kaplandı. Koloniler steril pipet ucu yardımıyla kaldırılarak bir süspansiyon elde edildi. Süspansiyon steril bir tüpe aktarıldı ve ağır parçacıkların çökmesinden sonra üstteki homojen süspansiyon toplandı ve önerilen yoğunluğa ayarlandı. Bu süspansiyon, kuyucuklarda son konsantrasyon 0.4-5x10^4 CFU/ml olacak şekilde pipetlendi. Mikrodilüsyon plakları 35^{0}C'de 48 saat inkübe edildi. Sonuçlar üreme kontrolü ile karşılaştırılarak elde edilen 0-4 arası sayısal bir sınıflamaya göre gözle değerlendirildi. Amfoterisin B için skor 0 (hiç üreme olmayan), flukonazol için ise skor 2 (üremede kontrole göre belirgin azalma olan) değeri MİK

larak kabul edildi[9]. Çalışılan suşun MİK değeri amfoterisin B için 4 μg/ml, flukonazol in ise 64 μg/ml olarak saptandı.

Yoğun çabamıza rağmen itrakonazolün hammaddesi elde edilemediğinden olatın itrakonazol MİK değerleri çalışılamadı.

TARTIŞMA

Yaygın *Fusarium* enfeksiyonları, çoğu zaman hematolojik maligniteli olguların ötropenik dönemlerinde gelişmektedir. Bu olgularda, etkenin giriş yolu sıklıkla inüsler, akciğerler, deri, tırnak ve santral venöz kateterlerdir[4,6,10]. Olgumuzda da ungemi, nötropenik dönemde ortaya çıkmıştır. Hastada fungemi bulunmasına ağmen yaygın enfeksiyon bulgusu olan deri lezyonları gözlenmemiş ve akciğer, atın ve sinüslerde odak saptanmamıştır. Bu durum giriş yolunun santral venöz ateter olabileceğini akla getirmektedir.

Yaygın sistemik fusariyozun klinik bulguları ve doku biyopsilerindeki istopatolojik görünümü aspergilloz tablosundakine benzemektedir. Bu nedenle tanı, ncak etkenin kültürde üretilmesi ve makroskobik/mikroskobik incelenmesi ile onulabilir. Polimeraz zincir reaksiyonu gibi moleküler yöntemlerin *Fusarium* türlerinin laha erken saptanmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir[6,10]. Olgumuzda da tanı, kan ültürlerinde üreyen etkenin makroskobik ve mikroskobik incelemesi ile konulmuştur. uşun EF-1 α geninin sekans analizi ile *F. thapsinum* olduğu belirlenmiştir.

Yıldıran ve arkadaşlarının[11], iki lösemi hastasının nötropenik döneminde gelişen *usarium* enfeksiyonunu bildirdikleri yayında, bu hastalarda tanının kan kültürleri ile onulduğu ve başka bir yerde odak saptanmadığı belirtilmektedir. Bizim hastamızda la benzer bir durum söz konusudur. Araştırıcılar olgulardan birinde etkeni *verticillioides (F. moniliforme)* diğerinde ise *Fusarium spp.* olarak tanımlamışlardır. ir başka çalışmada ise aplastik anemili nötropenik bir olguda, hastanın burun oşluğundan derin enfeksiyon etkeni olarak *F.chlamydosporum* izole edilirken, kan ültürlerinde üreme saptanmamıştır[12]. Bizim olgumuzdan izole edilen *F.thapsinum*'un laha çok sorgum tahılında (süpürge darısı) saptanan bir tür olduğu ve insanlardan adiren izole edildiği belirtilmiştir. *Fusarium* içindeki türleri ve bölümleri incelemek macıyla moleküler filogenetik çalışmalar yapılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda, *usarium* türlerinin kompleks türler olarak sınıflandırılması ve isimlendirilmesi söz onusu olmuştur. *F.thapsinum, F.verticillioides, F.proliferatum, F.napiforme moniliforme*), *F.nygamai, F.subglutinans ve F.sacchari* ile birlikte *Gibberella fujikuroi* ir kompleksi içinde yer almaktadır[1,13].

Fusarium enfeksiyonlarında tedavinin başarısı ve sağ kalımın, organizmanın nvazyon derecesine ve konak durumuna bağlı olduğu bildirilmiştir[14]. Bu noktada ltta yatan faktörlerin düzeltilmesi ve *Fusarium* enfeksiyonlarının erken tanısı sağ alım açısından büyük önem taşımaktadır. Sistemik *Fusarium* enfeksiyonlarının tedavi rotokolü henüz kesinleşmemiştir. Hastaların iyileşmesinin nötrofil sayısının ükselmesi ile doğrudan ilişkili olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle tedavide ranülosit-koloni stimüle eden faktör ve granülosit transfüzyonu uygulanabilmektedir. ntravenöz kateterlerin çekilmesi, lokal enfeksiyon odaklarının çıkarılması ve cerrahi debridman tedaviye katkıda bulunan faktörlerdir[2,6].

Fusarium türlerinin flukonazol başta olmak üzere bir çok antifungal ilaca dirençli olduğu bildirilmiş, yüksek doz amfoterisin B (1-1.5 mg/kg/gün) veya lipozomal amfoterisin B'nin (5 mg/kg/gün) ilk seçenek ilaç olduğu belirlenmiştir[2,6]. Klinik çalışmalarda ABLC ve vorikonazol tedavisinin başarısı %63 ve %45 olarak saptanmıştır[15].

Fusarium türlerine karşı antifungal ilaçların in-vitro etkinliğinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda, amfoterisin B ve itrakonazol için MİK değerleri sırasıyla 0.5->4 ve 0.25->16 μg/ml arasında bulunmuştur[12,16-18]. Kaspofunginin farklı *Fusarium* türleri için belirlenen MİK değerlerinin 59-75 μg/ml arasında olduğu bildirilmiştir[15]. Olgumuzdaki *Fusarium* izolatı için bulunan amfoterisin B MİK değeri (4 μg/ml) yüksek olmakla birlikte diğer çalışmalarda bildirilen MİK aralığı içindedir. Hasta, amfoterisin B ve itrakonazol tedavisiyle remisyona girmiştir.

Uzun süre nötropenik olan hastalarda *Fusarium* türleri ile gelişen enfeksiyonların erken tanısı, yüksek mortalite oranlarına sahip olan yaygın sistemik fusariyozun gelişimini engellemek bakımından önemlidir[6]. Bu nedenle immünosüpresif tedavi uygulanan nötropenik hastalarda, geniş spektrumlu antibiyotiklere rağmen ateş ve/veya primer ya da yaygın deri lezyonları görüldüğünde *Fusarium* enfeksiyonu düşünülmelidir. Sonuç olarak, olgumuzda da izlendiği gibi erken tanı ve tedavinin yaşamsal önem taşıdığı immünosüpresif tedavi uygulanan nötropenik hastalarda, geniş spektrumlu antibiyotiklere rağmen ateş dışında başka bir bulgunun olmadığı, sadece fungemi ile seyreden *Fusarium* enfeksiyonlarına dikkat edilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Sigler L, Verwij PE: *Aspergillus, Fusarium* and other opportunistic moniliaceous fungi, p: 1726-1760. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Yolken RH (eds), Manual of Clinical Microbiology. 2003, 8th ed. Amer Soc Microb, Washington DC.
2. Hospenthal DR, Bennett JE: Miscellaneous fungi and *Prototheca*, p: 2772-2780. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases. 2000, 5th ed. Churchill Livingstone, Pennsylvania.
3. De Pauw BE, Donnelly JP: Infections in the immunocompromised host: General principles, p: 3079-3090. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases. 2000, 5th ed. Churchill Livingstone, Pennsylvania.
4. Vartivarian SE, Anaissie EJ, Bodey GP: Emerging fungal pathogens in immunocompromised patients: Classification, diagnosis and management. Clin Infect Dis 1993, 17 (Suppl 2): S487-S491.
5. Perfect JR, Schell WA: The new fungal opportunists are coming. Clin Infect Dis 1996, 22 (Suppl 2): S112-S118.
6. Fleming RV, Walsh TJ, Anaissie EJ: Emerging and less common fungal pathogens. Infect Dis Clin N Am 2002, 16: 915-933.
7. Larone DH: Hyaline Hyphomycetes, p: 255-289. In: Medically Important Fungi: A Guide to Identification. 2002, 4th ed. Amer Soc Microb, Washington DC.
8. de Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ: Atlas of Clinical Fungi, p: 681-705. 2000, 2nd ed. Centraalbureau woor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands.
9. National Comittee for Clinical Laboratory Standards: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. Proposed standard M38-P. 1997, NCCLS, Wayne, Philadelphia.

0. Ener B: Nadir görülen fırsatçı mikozlar, s: 1105-1109. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (ed), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1999, Güneş Kitabevi, Ankara.

1. Yıldıran ŞT, Kömürcü S, Saraçlı MA, et al: *Fusarium* fungaemia in severely neutropenic patients. Mycoses 1998, 41: 467-469.

2. Segal BH, Walsh TJ, Liu JM, Wilson JD, Kwong-Chung KJ: Invasive infection with *Fusarium chlamydosporum* in a patient with aplastic anemia. J Clin Microbiol 1998, 36: 1772-1776.

3. Nirenberg HI, O'Donnel K: New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia 1998, 90: 434-458.

4. Guarro J, Gené J: Opportunistic fusarial infections in humans. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995, 14: 741-754.

5. Perfect JR: New therapies for rare and refractory fungal infections. 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), May 10-13, 2003. Glasgow, England.

6. Arıkan S, Lozano-Chiu M, Paetznick V, Nangia S, Rex JH: Microdilution susceptibility testing of amphotericin B, itraconazole, and voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* and *Fusarium* species. J Clin Microbiol 1999, 37: 3946-3951.

7. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, and Sentry Participants Group: Antifungal activities of posoconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of *Aspergillus spp.* and other filamentous fungi: Report from SENTRY antimicrobial surveillance program, 2000. Antimicrob Agents Chemother 2002, 46: 1032-1037.

8. Espinel-Ingroff A: Comparison of the E-test with the NCCLS M38-P method for antifungal susceptibility testing of common and emerging pathogenic filamentous fungi. J Clin Microbiol 2001, 39: 1360-1367.