

Aspergillus flavus İzole Edilen Bir Keratit Olgusu

Rabiye Altınbaş¹, Güzin İskeleli², Selcan Çolakoğlu³, Samira Hagverdiyeva², Mert Ahmet Kuşkucu³, Cezmi Doğan², Kenan Midilli³, Hırısı Bahar Tokman³

¹S.B. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Fungal keratitler patojen fungusların korneada yaptığı fırsatçı bir enfeksiyondur. Fungal keratitlerden en sık sorumlu olan etkenler filamentöz funguslardır. Fusarium ve Aspergillus en sık keratit yapan iki filamentöz funguslardır. Göz travması, topikal antibiyotik ve steroid kullanımı, kontakt lens kullanımı, sistemik hastalıkların varlığında (diyabetes mellitus), immun sistemin zayıflaması oluşan keratit olgularında fungusların etken olabileceği akılda tutulmalıdır. Olgumuzda Tip 2 diyabetes mellitusu olan 54 yaşındaki erkek bir hastada izole edilen Aspergillus flavus'un, kötü prognozlu, tedavisi zor, görme kaybına yol açabilmesi nedeniyle öneminin vurgulanması amaçlandı.

Anahtar kelimeler: fungal keratit, Aspergillus, antifungal duyarlılık, virülans

ABSTRACT

A Keratitis Case in Which Aspergillus Flavus is Isolated

Fungal keratitis is an opportunistic infection caused by pathogenic fungi in the cornea. The most common responsible infectious agents for fungal keratitis are filamentous fungi. Fusarium and Aspergillus are the most important and frequently seen filamentous fungi. Eye injuries, existing ocular diseases, topical antibiotics and steroids, contact lens use, systemic diseases (diabetes mellitus (DM)), weakening of the immunity are predisposing causes. Aspergillus flavus keratitis is an eye infection with poor prognosis, difficult to treat and can lead to loss of vision so we aimed to emphasize the importance of Aspergillus flavus isolated in a 54 year old male patient with type 2 DM.

Keywords: fungal keratitis, Aspergillus, antifungal susceptibility, virulence

GİRİŞ

Fungal keratitler yüksek oranda görme kaybına neden olan ve patojen funguslar tarafından korneada meydana gelen fırsatçı enfeksiyonlar sonucunda gelişir. Tanı konulması güç, zaman alan, prognozu kötü ve kolay tedavi edilemeyen hastalıklardır. Bu nedenle sıklıkla komplikasyonlar görülmektedir. Etiyolojik ajan olarak 50'den fazla fungus cinsi tanımlıdır. Bunların içinde Fusarium ve Aspergillus en sık görülen iki filamentöz fungus cinsi olup enfeksiyonların % 70'inden sorumludur⁽¹⁾. Göz travmaları, mevcut oküler yüzey hastalıkları, topikal antibiyotik ve steroid kullanımı, kontakt lens kullanımı, sistemik hastalıklar (diyabetes mellitus) ve immun sistemin zayıflaması keratit için hazırlayıcı nedenlerdir⁽²⁾. Ayrıca etkene ait proteinaz ve fosfolipaz enzimlerinin varlığında, oluşan doku nekrozu ve inflamasyon konak hücre membranının

bütünlüğünü bozmaktadır. Fungal keratit tedavisinin başarısında erken tanı ve doğru antifungal ile tedavi çok önemli olup, hipopiyon oluşumu, endoftalmi veya görme kaybı gibi komplikasyonların önlenmesini sağlar⁽³⁾.

OLGU

Elli dört yaşında erkek hasta, sağ gözünde ağrı, konjonktivada hiperemi, görme kaybı yakınmaları ile göz polikliniğimize başvurdu. Yakınmaları üç hafta önce başlayan hastaya dış merkez tarafından keratit tanısı konularak önce lokal antibiyotik tedaviler uygulanmış, daha sonra herpes virus enfeksiyonu düşünülerek anti-herpetik tedavi başlanmıştı. Son üç gün tedaviye steroid eklenmesine rağmen iyileşme olmamıştı. Tıbbi öyküsünde; 12 yıldır Tip 2 diyabetes mellitus (DM) tanısı mevcuttu ve 10 yıldır yumuşak kontakt

Alındığı Tarih: 24.04.2017

Kabul Tarihi: 22.09.2017

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Rabiye Altınbaş, S. B. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Okmeydanı - 34000 - İstanbul - Türkiye

e-posta: rabiaoгуz@gmail.com

lens kullanmaktaydı. Polikliniğimizdeki ilk muayene sırasında hastanın görme keskinliği sağda 3/10, solda 9/10 olup, biyomikroskopik muayenede sağ gözde kornea alt parasantralinde keratit odağı ve hipopiyon izlendi (Resim 1).

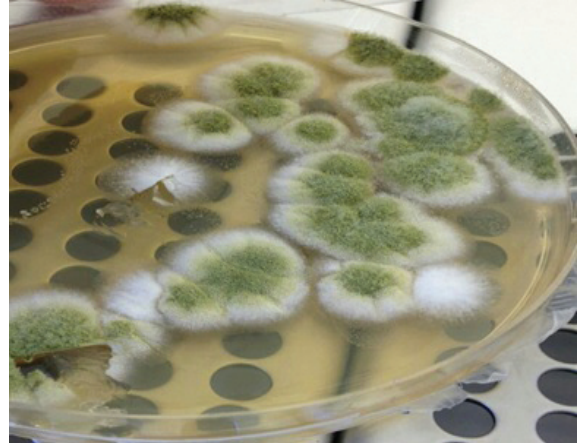
Direkt mikroskopik incelemesinde ve gram boyalı preparatında bölmeli, hyalen yapıda, 60 derecelik açı ile dallanan filamentöz mantarlara ait hifler görüldü (Resim 2). Thioglycollate sıvı besiyeri (Merck, Almanya) ve Sabouraud Dekstroz Agar (Becton Dickinson, USA) besiyerlerine hasta başında ekim yapıp, besiyerleri 28°C ve 35°C'de yedi gün inkübasyona bırakıldı. Sabouraud dekstroz agar besiyerinde başlangıçta pamuğumsu ve beyaz olan kolonilerin birkaç gün sonra ortasından başlamak üzere fıstık yeşili renge dönüştüğü görüldü (Resim 3). Bu kolonilerden hazırlanan selofan bant preparatlarda pürüklü, hyalin yapıda konidyoforlar, vezikül üzerinde hem tek sıra (fiyalid) hem de iki sıra (metula

ve fiyalid) şeklinde dizilmiş konidyojenez hücreler ve onların da üzerinde hyalin yapıda konidyalar görüldü (Resim 4).

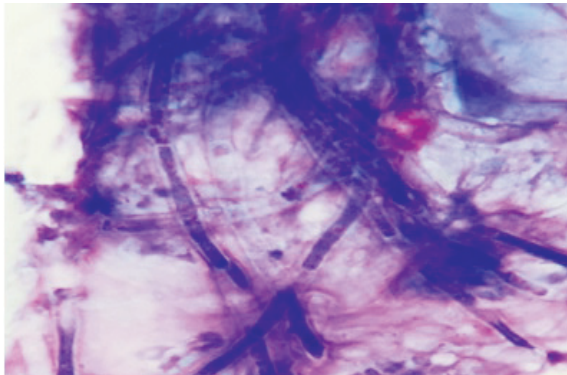
Etkenin hücre dışı enzimler olan fosfolipaz, proteinaz aktiviteleri sırası ile yumurta sarılı agar plak yöntemi ve % 1'lik sığır serum albuminli agar plak yöntemi ile test edildi. Etken proteinaz pozitif, fosfolipaz negatif olarak değerlendirildi. Ayrıca CLSI M38-A2 referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile Amfoterisin B, Itrakonazol ve Vorikonazol için in vitro antifungal duyarlılık testleri yapıldı (4). Sırasıyla Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri 4, 0.25 ve 0.06 µg/mL belirlendi. Tedavi için 10 mg/mL Vorikonazol topikal olarak başlandı, ancak toplikal tedaviye rağmen, ilerleme göstermesi nedeniyle bir defa göz ön kamarasına (50 µg/mL), iki defa kornea stromasına (50 µg/mL) olmak üzere lokal enjeksiyon şeklinde de uygulama yapıp aynı zamanda sistemik olarak da 200 mg/gün tablet uygulandı.



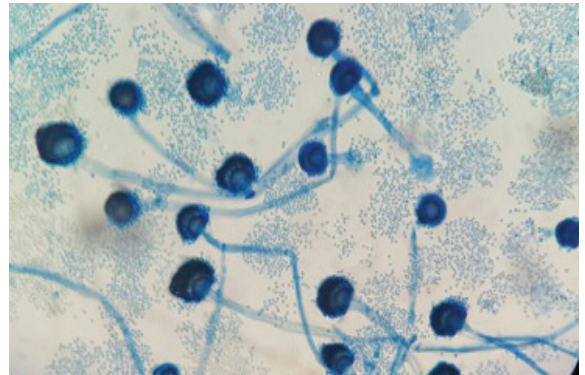
Resim 1. Olguya ait kornea parasantralinde keratit odağı ve hipopiyon (sağ göz).



Resim 3. SDA besiyerinde *Aspergillus flavus* kolonileri.



Resim 2. Gram boyalı kornea kazıntı örneğinde hyalen, bölmeli, hif yapıları (X1000).



Resim 4. Laktofenol pamuk mavisi boyaması ile *Aspergillus flavus*'un mikroskopik görüntüsü (X400).

Aspergillus flavus kompleks olarak isimlendirdiğimiz bu suş, Inter Transgenic Spacer (ITS) genlerinin lokalize olduğu rDNA gen bölgesinin sekans analizi (ITS1, 5.8S rRNA, ITS2) ile de *Aspergillus flavus* (*Aspergillus flavus* ATCC 16883 ITS region) olarak konfirme edildi.

Hastanın tedavisi yapıldıktan sonra kontrol amacıyla gelen kornea kazıntı örneklerinde üreme olmadı. Direkt mikroskopi ve gram boyalı preparatlarda da mantar elemanlarına rastlanmadı.

TARTIŞMA

Mikrobiyal keratitler içinde % 6-20 oranlarında görülen fungal keratitler, görme kaybı ve bazen de gözün kaybına neden olan önemli bir oftalmik sorundur. Etkenin dokuya tutunması, invazyonu, çoğalması sonucu stromal nekroz ve erimeye bağlı şiddetli enfeksiyon gelişir. Sahip olduğu proteaz, fosfolipaz gibi hücre dışı enzimleri dokulara penetrasyonda, beslenmede ve konak immün sisteminden kaçışta rol oynar. Doğaları gereği güçlü şekilde doku harabiyeti yaparlar. Flamentöz fungus keratitleri erkeklerde kadınlara göre 2,5 kat daha fazla görülmekte ve seyri diyabetik hastalarda daha ağır olmaktadır⁽⁵⁾. Bharrathi ve ark.'nın⁽¹⁾ yaptığı çalışmada, fungal keratitli hastaların % 15,71'inde, sistemik predispozan faktör olarak diyabet belirlenmiştir.

Nath ve ark.'nın⁽⁶⁾ yaptığı çalışmada 157 fungal izolatin 44'ü (% 28) *Fusarium*, 27'si (% 17) *Aspergillus* olarak belirlenmiştir. Alp ve ark.⁽⁷⁾ da fungal keratit etkeni toplam 73 adet *Aspergillus* (45 adet *A. fumigatus*, 23 adet *A. flavus*, 5 adet *A. niger*) izolatını proteinaz ve fosfolipaz hücre dışı enzimleri yönünden incelemiş, *A. flavus*'ların tamamında fosfolipaz ve proteinaz aktivitesi negatif bulunmuştur.

Okuler enfeksiyona yol açan *Aspergillus*'ların Amfoterisin B duyarlılıkları ile virulans özellikleri arasındaki ilişkiye bakıldığında, fungal keratitte proteazın rol oynadığı ve bu virulans özelliği pozitif olan *Aspergillus*'larda Amfoterisin B direncinin olduğu belirlenmiştir⁽⁸⁾. Olgumuzda proteinaz aktivitesi pozitif, fosfolipaz aktivitesi negatif, en büyük MİK değeri Amfoterisin B (4 µg/mL) ve en düşük MİK değeri de Vorikonazol (0,06 µg/mL) için belirlenmiştir. Pozitif proteinaz aktivitesi ve Amfoterisin B'ye yük-

sek MİK değeri elde edilmesi Nayak ve ark.'nın⁽⁸⁾ yaptığı çalışmayla uyumlu bulunmuştur.

Sav ve ark.'nın⁽⁹⁾ yaptığı çalışmada da, 14 *Aspergillus* izolatu için Vorikonazol, Amfoterisin B ve Natamisin arasında en etkili antifungal olarak Vorikonazol bulunmuştur. Olgumuzda da en etkili antifungal Vorikonazol bulunmuştur. Bu çalışmada, 3 *Aspergillus flavus*'tan 1'inde proteinaz aktivitesi pozitif iken, hiç birinin fosfolipaz aktivitesi göstermediği belirlenmiştir.

Aspergillus ve diğer flamentöz keratitlerde topikal ve sistemik Itrakonazol'un uygulandığı 42 farklı olguda korneal ülserlerin % 72 oranında düzeldiği bildirilmiştir. Kalavathy ve ark.⁽¹⁰⁾ *Aspergillus* keratitlerinde Natamisin'in ilk tercih olduğu, ancak yokluğu durumlarında Itrakonazol'un kullanılabilceği sonucuna varmıştır.

Fungal keratite eşlik eden inflamasyon başlangıçta nonspesifik olup, bu da tanının yanlış ve/veya geç konulmasına, hastaya uygun olmayan tedavi verilmesine neden olmaktadır.

SONUÇ

Aspergillus'lar doğada yaygın olarak bulunmakta ve fırsatçı enfeksiyonlara yol açmaktadır. Keratit olgularında fungal etkenlerin göz ardı edilmemesi hastanın tedavisine bir an önce başlanabilmesi, tedaviyi yönlendirme ve enfeksiyonun kontrolü açısından çok önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Vasu S, Meenakshi R, Palaniappan R. Epidemiological characteristics and laboratory diagnosis of fungal keratitis. A Three-year Study. *Indian J Ophthalmol* 2003;51(4):315-21.
2. Thomas PA. Fungal infections of the cornea. *Eye (Lond)* 2003;17(8):852-62. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6700557>
3. Poria VC, Bharad VR, Dongre DS, Kulkarni MV. Study of mycotic keratitis. *Indian J Ophthalmol* 1985;33(4):229-31.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. CLSI document M38-A2. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
5. Gopinathan U, Garg P, Fernandes M, et al. The epidemiological features and laboratory results of fungal keratitis: A 10-year review at a referral eye care center in

- South India. *Cornea* 2002;21(6):555-9.
<https://doi.org/10.1097/00003226-200208000-00004>
6. Nath R, Baruah S, Saikia L, et al. Mycotic corneal ulcers in upper Assam. *Indian J Ophthalmol* 2011;59(5):367-71.
<https://doi.org/10.4103/0301-4738.83613>
 7. Alp S, Arikian S. Investigation of extracellular elastase, acid proteinase and phospholipase activities as putative virulence factors in clinical isolates of species. *J Basic Microbiol* 2008;48(5):331-7.
<https://doi.org/10.1002/jobm.200700349>
 8. Nayak N, Satpathy G, Prasad S, Vajpayee RB, Pandey RM. Correlation of proteinase production with amphotericin B resistance in fungi from mycotic keratitis. *Ophthalmic Res* 2010;44:113-8.
<https://doi.org/10.1159/000315360>
 9. Sav H, Ozdemir HG, Altunbas R, et al. Virulence attributes and antifungal susceptibility profile of opportunistic fungi isolated from ophthalmic infections. *Mycopathologia* 2016;181(9):653-61.
<https://doi.org/10.1007/s11046-016-0018-3>
 10. Kalavathy CM, Parmar P, Kaliyamurthy J, et al. Comparison of topical itraconazole 1 % with topical natamycin 5 % for the treatment of filamentous fungal keratitis. *Cornea* 2005;24(4):449-52.
<https://doi.org/10.1097/01.icc.0000151539.92865.3e>