

Aspergillus fumigatus Kompleksi: Zorlu Bir Patojende Yeni Bir Sorun, Azol Direnci

Dolunay GÜLMEZ[®]

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

ÖZ

Aspergillus doğada yaygın bulunan, çoğunda bağışıklık sistemi baskılanmış olan büyük bir hasta grubunu etkileyen ve farklı hastalık tablolarına neden olabilen bir küf mantarıdır. Aspergilloz tanısı, hastalığın ve konağın karmaşık özelliklerinden dolayı hâlâ zordur. Konvansiyonel tanı yöntemlerinin duyarlılığı düşüktür, serolojik testlerin kullanımı bazı hasta alt gruplarıyla sınırlıdır ve moleküler yöntemlerin de hâlen validasyonunun tamamlanmış olması ve standart hâle getirilmesi gerekmektedir. Tedavi çoğunlukla antifungallere dayanmaktadır ve önerilen ilk basamak tedavi azollerdir. Bu nedenle, ortaya çıkan azol direnci aspergilloz olgularının sonucu üzerinde doğrudan etkiye sahiptir. Ayrıca, azoller aspergilloz için tek oral tedavi seçeneğidir ve diğer seçeneklerin maliyeti daha yüksektir. Azol dirençli Aspergillus etken olduğunda, invaziv aspergillozda mortalite oranları ve kronik pulmoner aspergillozda cerrahi gereksinimi artmaktadır. Azol direncinin daha az tahmin edilen bir sonucu da, tanı üzerine olmuştur. Kesin etkeni doğrulamak için kültür yöntemlerine hâlâ gereksinim olduğu için, atipik dirençli fenotipler söz konusu olduğunda kültürün duyarlılığının azalma olasılığı kaygı vericidir.

Bu derleme, Aspergillus ve aspergilloz ile ilgili güncel bilgileri özetlemeyi ve zaten zorlu olan bir patojende yeni güçlüklerin ortaya çıkmasına neden olan azol direncine dikkat çekmeyi amaçlamaktadır. En yaygın insan patojeni olduğundan elde edilen verilerin çoğu Aspergillus fumigatus kompleksi ile ilişkilidir.

Anahtar kelimeler: Aspergillus fumigatus, Aspergilloz, azol direnci

ABSTRACT

Aspergillus fumigatus Complex: A New Problem in a Challenging Pathogen, Azole Resistance

Aspergillus is widespread in nature and this mold may cause different clinical forms of disease that affect a large group of patients, mostly immunosuppressed patients. Diagnosis of aspergillosis is still challenging due to complex characteristics of the disease and the host. Sensitivity of conventional diagnostic methods is low, use of serological tests is limited to certain patient subpopulations and molecular methods are yet to be validated and standardized. Treatment mostly depends on the use of antifungals and, recommended first line therapy is azoles. Therefore, emerging azole resistance has a direct impact on outcome of aspergillosis cases. Furthermore, azoles are the only oral therapeutic options for aspergillosis and the cost of alternative treatment options are higher. Mortality rates in invasive aspergillosis and the need for surgery in chronic pulmonary aspergillosis increase, if caused by azole resistant Aspergillus. A less predicted consequence of azole resistance was the effect on diagnosis. Because culture methods are still needed to confirm the exact causative agent, possibility of decreased sensitivity of culture in case of atypical resistant phenotypes are of concern.

This review aims to summarize current information on Aspergillus and aspergillosis and, to draw attention to azole resistance that causes new challenges in an already complex pathogen. As it is the most widespread human pathogen, most of the data available are related to Aspergillus fumigatus complex.

Keywords: Aspergillus fumigatus, aspergillosis, azole resistance

GİRİŞ

Aspergillus; bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda yaşamı tehdit eden invaziv enfeksiyonlara, bağışıklık sistemi sağlıklı kişilerde kronik enfeksiyonlara ve hipersensitivite reaksiyonları-

na eğilimli kişilerde alerjik reaksiyonlara neden olabilen fırsatçı bir patojendir. İnvaziv aspergillozun (İA) ölümcül sonuçları, diğer klinik formların gözden kaçabilmesine neden olmuş ve aspergillozun sınırlı bir hasta grubunu etkilediğini düşündürmüştür. Bu durum; kistik fibrozis

Alındığı tarih: 29.03.2018

Kabul tarihi: 11.05.2018

Yazarın ORCID bilgileri:

Dolunay Gülmez 0000-0001-9021-0439

(KF) ve alerjik hastalıklarda aspergilloma, sinüzit, kolonizasyon/enfeksiyon gibi kronik klinik durumlardan etkilenen yüksek sayıda hasta nedeniyle yanlış bir algıdır⁽¹⁻³⁾. Örneğin, pulmoner tüberkülozun bir sekeli olarak dünyada bir milyondan fazla insanda kronik pulmoner aspergilloz (“chronic pulmonary aspergillosis”, CPA) bulunduğu düşünülmektedir⁽²⁾. Tüm dünyada alerjik bronkopulmoner aspergilloz (“allergic broncopulmonary aspergillosis”, ABPA) prevalansının 4.8 milyonun üzerinde olduğu ve CPA ile komplike ABPA’nın 400.000 hastaya ulaşabileceği sanılmaktadır⁽³⁾. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) 2013 yılında Avrupa bölgesindeki aspergilloz yükünü şu şekilde hesaplamıştır: ABPA 900.000 hasta, fungal duyarlılaşma ile giden ciddi astım (“severe asthma with fungal sensitization”, SAFS) >1 milyon hasta, CPA 240.000 hasta ve İA 63.000 hasta⁽⁴⁾. Bu durum, *Aspergillus* ilişkili sağlık sorunlarının sanıldığı kadar ender olmadığını göstermektedir.

Serolojik ve moleküler tekniklerdeki tüm gelişmelere karşın *Aspergillus*’un neden olduğu klinik tabloların tanısı hâlen sorun teşkil etmektedir⁽⁴⁻⁶⁾. Tanıda, hastanın klinik değerlendirilmesi ve bunun sonucunda aspergillozdan şüphelenilmesi temeldir. Geleneksel olarak, tanı için etkeni gösterebilen direkt mikroskopiden, etkeni üretebilen kültür yöntemlerinden ve enfeksiyon varlığını gösterebilen görüntüleme yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Konvansiyonel tanı yöntemlerine ek olarak yüksek riskli hasta popülasyonlarında serolojik testler önerilen edilirken, moleküler testler de geliştirilmeye devam edilmektedir^(6,7).

Aspergillus’un neden olduğu veya eklendiği hastalık tablolarında tedavi de güçleşmektedir. CPA olan hastalarda antifungal tedaviye ek olarak cerrahi gerekebilmekte ve hastaneye yatış sonrasında olgu ölüm hızları %20-30’lara ulaşabilmektedir⁽²⁾. İA olgularında mortalite

%50’nin üzerindedir ve kemik iliği nakli yapılan hastalarda en uygun antifungal terapi uygulansa bile daha yüksek olabilmektedir^(4,8). Altta yatan hastalıklar ve enfeksiyon bölgesi ana prognostik etkenler olsa da, son on yılda İA mortalitesinde azalma gözlenmiş ve bu durum, diğer faktörlerin yanı sıra azol tedavisine bağlanmıştır⁽⁷⁻⁹⁾. Azol tedavisi ile elde edilen bu avantaj, *Aspergillus*’ta ortaya çıkan azol direnci nedeniyle kaybedilme tehdidi altındadır. Azol grubu, farklı aspergilloz klinik tabloları için ilk tedavi seçeneği olarak önerilmektedir ve başka oral tedavi seçeneği bulunmamaktadır^(6,9). Amfoterisin B’nin lipid formülasyonları ve ekinokandinleri de içeren diğer tedavi seçenekleri fataliteyi önlemede azoller kadar etkili olamamaktadır^(4,6,8).

Beklendiği gibi, ortaya çıkan azol direnci aspergillozun tedavisini zorlaştırmaktadır ve azole dirençli aspergilloz mortalite oranları endişe vericidir^(1,4,10). Azol dirençli suşlar etken olduğunda, İA’da mortalite %88’e ulaşabilmekte⁽¹¹⁾ ve CPA’da tedavi başarısızlığı artmaktadır^(4,12). Azol direncinin daha az tahmin edilebilir bir sonucu da, etkeni kesinleştirmek için hâlen konvansiyonel kültür yöntemlerine dayanan aspergilloz tanısı üzerinde olmuştur^(6,10). Aspergillozda kültür duyarlılığı düşüktür ve zor üreyen ve/veya az sporlanan, atipik dirençli fenotiplerin ortaya çıkışı durumu daha karmaşık hâle getirmiştir^(10,13).

Bu derleme, *Aspergillus* ve aspergilloz ile ilgili yeni gelişmeleri özetlemeyi ve yeni bir sorun olan azol direncine dikkati çekmeyi amaçlamaktadır. Çalışma, en yaygın insan patojeni olduğundan daha kapsamlı olarak çalışılan *Aspergillus fumigatus* kompleksine odaklanmıştır.

Bir küf mantarı olarak *Aspergillus*

Aspergillus, birçok farklı habitatta bulunabilen saprofitik, filamentöz bir mantardır. Tüm türlerde septalı hifler ve üzerinde konidyum oluşturan

fialidlerin bulunduğu tipik vezikül yapısı ortaktır. Koloninin dokusu kadifemsi, pamuksu veya yünsü olabilmektedir. Koloni ön yüzünün rengi türe göre değişmekte ve yeşil, sarı, turuncu, kahverengi veya siyah tonlarında görünebilmektedir⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. *A. fumigatus* kompleksine ait kolonilerin rengi farklı yeşil tonlarında olabilmekte ve sporulasyondan etkilenmektedir^(10,14).

Aspergillus seksüel, aseksüel veya paraseksüel yolla üreyebilmektedir. Aseksüel üreme sırasında bol miktarda konidyum üretildiği için, genetik değişiklik geçirme fırsatı artmaktadır. Askospor oluşumu ile karakterize olan seksüel üreme, iki ayrı suşa ait genetik materyali birleştirme avantajına sahiptir. Paraseksüel üremede ise iki uyumlu suşa ait hifler kaynaşmaktadır. Bu durum, küf mantarının sporulasyon olmadan genetik madde aktarmasına olanak tanımaktadır ve olgun bir miçelyumda, biyofilmde ve in vivo olarak ortaya çıkabilmesi nedeniyle önemlidir^(10,16). Farklı üreme yolları, mantarın genetik değişimler geçirmesini ve antifungal direnç mutasyonları geliştirmek de dahil olmak üzere çevreye uyum sağlayabilmesini sağlamaktadır⁽¹⁰⁾.

Aspergillus cinsi içinde yaklaşık 180 tür tanımlanmış olmakla birlikte, bu türlerin hepsi insanda hastalık etkeni olarak bildirilmemiştir^(14,16). En sık görülen insan patojeni *A. fumigatus* iken, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* ve *Aspergillus terreus* gibi diğer bazı türler de insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyona neden olabilmektedirler⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. *Aspergillus*'un tür düzeyinde tanımlanması, türlerin farklı direnç paternleri nedeniyle klinik olarak önemli olabilmektedir. Çoğu rutin laboratuvar, küf mantarlarının tanımlanması için makroskopik ve mikroskopik morfolojik özellikleri kullanmaktadır. Bu nedenle, çoğu klinik izolat tür kompleksi düzeyinde tanımlanmaktadır⁽⁷⁾. Klinik bir laboratuvar, örnekten izole edilerek morfolojik özelliklerine göre tanımlanan bir suş "*Aspergillus fumigatus*

kompleksi" ("*Aspergillus* section Fumigati") olarak rapor edilebilmektedir. Bu durumda, ilgili suş *A. fumigatus* sensu stricto ya da azole intrinsik direnç gösterebilen ilişkili başka bir kriptik tür olabilmektedir. Triazol direnci *A. fumigatus* sensu stricto için ender olmasına rağmen, *Aspergillus lentulus*, *Aspergillus udagawae*, *Aspergillus viridinutans* ve *Aspergillus thermomutatus* (*Neosartorya pseudofischeri*) vd. türler dirençli olabilmekte ve tedavisi güç enfeksiyonlardan sorumlu olabilmektedirler⁽¹⁷⁾. Bu türlerin ayırıcı tanısı için DNA dizileme yöntemleri gerekli olabilmektedir. Mikroorganizma molekül içeriğini inceleyerek tanımlama yapan MALDITOF-MS ("Matriks assisted laser desorption ionization time of flight-mass spectrometry") gibi yöntemler ile elde edilen sonuçlar da umut vericidir⁽¹⁷⁾.

***Aspergillus* hastalıkları ve tanısı**

Aspergillus türleri, konağın özelliklerine bağlı olarak çok farklı hastalık tablolarına neden olabilirler. Üç ana form, invaziv aspergilloz (İA), kronik ve/veya saprofitik aspergilloz ve alerjik aspergilloz olarak tanımlanabilmektedir⁽⁶⁾. Bu formlar çok çeşitli klinik tutulumlar ile seyredildiğinden, tanı için klinik bulgular, mikrobiyolojik veriler ve görüntüleme tekniklerinin birlikte kullanılması ve öncelikle etkilenen vücut bölgelerinin incelenmesi esastır. Konvansiyonel olarak doğrudan mikroskopi (Gram-boyama gibi nonspesifik yöntemlerin yanı sıra mantarların gösterilmesinde daha başarılı olan kalkoflor beyazı, Gomori'nin metenamin gümüşleme yönetemi, Periodic Acid Schiff (PAS) gibi yöntemler), kültür yöntemleri ve görüntüleme teknikleri kullanılmaktadır^(6,7). Serolojik testler (galaktomannan ve β -D-glukan) tanıda yardımcı olabilmektedir. Moleküler testler umut verici olmakla birlikte, diğer tanısal testlerle birlikte kullanımı önerilmektedir^(6,7). Mantar enfeksiyonu varlığından emin olmak için mikrobiyolojik ve/veya histopatolojik testler ile mantarın göste-

rilmesi istenmektedir. Etkenin kesin olarak belirlenebilmesi ve tanımlanabilmesi için kültürde üretilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, etken mantarın adının konması, düşük kültür duyarlılığından etkilenmektedir^(6,15,17). Ayrıca, balgam gibi steril olmayan bir vücut bölgesinde saptanan bir *Aspergillus* pozitif kültür, mantarın doğada yaygın olarak bulunması ve solunum yollarında kolonize olabilmesi nedeniyle enfeksiyon varlığına kesin kanıt olarak görülmemektedir. Steril vücut bölgelerinden alınan örnekler daha invaziv prosedürler gerektirirler ancak daha fazla tanısal değere sahiptirler^(5,6). Aspergilloz tanı ve tedavisi için Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği'nin (Infectious Diseases Society of America, IDSA) kılavuzu ve Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği'nin (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, ESCMID) Şubat 2018'de yenilenen kılavuzu her hastanın bireysel olarak değerlendirilmesi gereğini vurgulamaktadır^(6,7).

Hematolojik malignitesi, kök hücre nakli, solid organ nakli, CD4 hücre sayısı <50 hücre/ μ L olan AIDS hastaları veya kortikosteroidler gibi bağışıklık sistemini baskılayan tedaviler alan hastalarda, *Aspergillus* konidyumları çimlenerek dokuları invaze eden hifler oluşturabilmektedirler⁽¹⁶⁾. İnfektif konidyumlar genellikle inhalasyon yoluyla alındığından, İA en sık olarak akciğerleri tutmaktadır. Ancak, diğer organlar veya sinüsler de etkilenebilmekte veya bağışıklık sisteminde ciddi baskılanma olanlarda dissemine İA gelişebilmektedir⁽¹⁵⁾.

İA tanısı için doku ve vücut sıvılarının eşzamanlı mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemesi önerilmektedir^(6,7). Örnekler, enfeksiyon bölgesinden alınmalıdır. Ancak, doğru örneğin yeterli miktarda temin edilmesi, stabil olmayan hastalarda gerçekleştirilmesi olası olmayan invaziv işlemler gerektirebilmektedir. Örneğin, trombotopenik bir hastada bronkoalveolar lavaj (BAL)

veya akciğer dokusu alınması işlemlerinden, olası ciddi komplikasyonlar nedeniyle uzak durulabilmektedir⁽⁷⁾. Ayrıca, histopatolojik incelemede dikotom dallanma gösteren septalı hifler görülmesi *Aspergillus*'a özgül değildir ve diğer hiyalen küf enfeksiyonlarında da gözlenebilmektedir⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Akciğer tutulumu şüphesinde yüksek çözünürlüklü akciğer tomografisi de kesinlikle önerilmektedir^(6,7).

İA tanısında serolojik testler de yardımcı olabilmektedir. Serum ve/veya BAL galaktomannan düzeylerinin saptanması, özellikle hematolojik malignitesi olanlar gibi belirli bazı hasta gruplarında önerilmektedir^(6,7,15). *Aspergilloz* için özgül olmamakla birlikte, serum 1,3- β -d-glukan testi de yüksek riskli hastalarda yararlı olabilmektedir^(6,7). IDSA, 2016 yılı kılavuzunda, kanda polimeraz zincir tepkimesi (PCR) ile *Aspergillus* tanısının gelecek vadettiğini ancak ticari testlerin henüz standardizasyon ve validasyonunun yeterli olmadığını belirtmiştir⁽⁶⁾. IDSA, bu durumda PCR temelli testlerin klinik değerlendirme ve diğer tanısal testlerin sonuçları ile birlikte değerlendirilmesini önermiştir. ESCMID'in 2018'de yenilenen kılavuzu da kan ve BAL örneklerinde uygulanan PCR temelli testlerin diğer tanısal testler ile birlikte kullanımının daha özgül ve erken tanı için yardımcı olabileceğini belirtmiştir⁽⁷⁾. PCR, doğrudan enfeksiyon bölgesinden alınan doku, beyin omurilik sıvısı vb. örneklerde de uygulanabilmektedir. Moleküler testler, histopatolojik olarak hif görülen dokularda küfün tanımlanması için, hif görülmemiş örneklerde de aspergilloz tanısı için kullanılabilir. Ancak, örneğin alınmasının zorluğu ve testin standardizasyonu/validasyonu ile ilgili sorunlar burada da henüz devam etmektedir^(6,7).

Kronik pulmoner aspergilloz (CPA) farklı solunum yolu hastalıklarını komplike edebilen ender bir hastalıktır. Tanı ve tedavisi üzerinde çalışan bir ESCMID görev ekibi bulunmaktadır⁽⁵⁾. CPA'nın en sık görülen formu olan kronik kavi-

ter pulmoner aspergilloz (“chronic cavitary pulmonary aspergilosis”, CCPA), tedavi edilmezse kronik fibrozan pulmoner aspergilloza ilerleyebilmektedir^(5,6). Daha az görülen klinik tablolar arasında aspergillus nodülü ve tek aspergilloma bulunmaktadır. Tüm bu klinik tablolar bağışıklık sistemi bozulmamış, geçmişte veya eşzamanlı akciğer hastalığı olan kişilerde gözlenebilmekte ve bir hastada farklı tablolar birlikte görülebilmektedir^(5,6). CPA tanısı, akciğer görüntüleme tetkiklerinde >3 ay devam eden lezyon görüntüleri, *Aspergillus* enfeksiyonu kanıtı (doğrudan mikroskopi, kültür veya antijen pozitifliği) ve diğer olası tanılarının dışlanması ile konabilmektedir^(5,6). *Aspergillus* varlığının kanıtlanmasında moleküler yöntemler kültüre göre daha duyarlıdır ve güçlü PCR sinyalleri, enfeksiyon ve artmış fungal yük ile korelasyon göstermektedir⁽⁵⁾.

Hastanın bağışıklık sisteminde baskılanma gelişen durumlarda, kronik hastalık formlarında invazyon görülebilmektedir. Subakut invaziv pulmoner aspergilloz (önceki adı kronik nekrotizan pulmoner aspergilloz) veya invaziv fungal sinüzit bağışıklık sisteminde orta derecede baskılanma olan hastalarda ortaya çıkabilen progresif enfeksiyonlara örnek gösterilebilirler. Bu hastalıkların İA gibi ele alınması gerekmektedir^(5,6).

Lokalize noninvaziv kolonizasyon nazal sinüslerde, dış kulak kanalında, kornea ve tırnaklarda görülebilmektedir^(6,16). Trakeobronşiyal aspergillozun (TBA) saprofitik formları da olabilmekte ve semptomatik veya bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar dışında tedavi gerekmemektedir⁽⁶⁾.

Aspergillus kolonizasyonu, alerjik hastalık ve enfeksiyon ayrımı özellikle kronik akciğer hastalığı olanlarda güçleşmektedir. Bunların arasında, KF oldukça gündemdedir. Hava yolu mukus koyulaşması, siliyer işlev bozukluğu ve bronşektazi gibi uzun süreli hasarlar mikroorganiz-

maların ortamda kalıcı olmasına neden olmakta, steroid inhalasyonu ve antibiyotik kullanımı da mantarlara avantaj sağlamaktadır. Ancak, alevlenme sırasında saptanan pozitif bir kültür, hastalık etkenini belirleyebileceği gibi yalnızca kolonizasyona da işaret edebilmektedir.

KF hastalarında fungal enfeksiyon tanısı; artmış balgam üretimi, aynı mantarın birden fazla kez kültürde üretilmesi, radyolojik bulgular, antibiyotik tedavisi ile başarısızlık ve akciğer fonksiyonlarında açıklanamayan azalma görülmesi durumunda konabilmektedir. Ayrıca, atipik mikobakteriler gibi yeni bakteriyel etkenlerin ve ABPA'nın ekarte edilmesi de gerekmektedir⁽¹⁸⁾. KF'deki enfeksiyonun kronik polimikrobiyal doğasından ötürü, mantarların patogenezdaki rolünün kanıtlanması zorlaşmaktadır. Yine de, mantar izolasyonunun hastalığa katkısını gösteren kanıtlar gittikçe artmaktadır^(6,18-20).

Hipersensitivite reaksiyonlarına eğilimi olan kişilerde *Aspergillus* konidyumlarının yüzey antijenlerine karşı alerjik reaksiyonlar ortaya çıkabilir. Bu durum, antijenlere maruziyet sonrasında ya da mantarın bronşiyal ağaç veya sinüsler gibi bir vücut bölgesinde kolonizasyon sonucu gelişebilmektedir⁽¹⁶⁾.

Alerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA), alerjik reaksiyonun bronşiyal ağaç kolonizasyonu sonrası tetiklenmesi ile ortaya çıkan bir tablodur⁽¹⁶⁾. Genellikle, astım veya KF gibi, altta yatan akciğer hastalığı olan kişiler etkilenmektedir⁽⁶⁾. *Aspergillus* immünoglobulin E (IgE) ve total IgE'de yükselme tipiktir. Alerjik fungal rinosinüzit de görülebilmektedir. Tanı için nazal polipozisin gösterilmesi ve koyu eozinofilik müsin içeren mukus içinde hif yapılarının gözlenmesi ve *Aspergillus* IgE için serum antikoru veya deri delme (“prick”) testi pozitifliği gerekmektedir⁽⁶⁾. Fungal duyarlılaşma ile giden ciddi astım (“severe asthma with fungal sensitization”, SAFS) konidyumlara maruziyet sonrası-

da astımı olan bazı hastalarda gelişebilmektedir⁽⁴⁾.

Aspergillozun antifungal tedavisi

Aspergillus enfeksiyonlarında antifungal ajanlar ile tedavi zorunludur ve birincil tedavi olarak küf aktif azoller önerilmektedir. İA gibi prognozunda bağışıklık sistemi işlevinin kritik olduğu klinik tablolarda bile, bağışıklık sistemini düzenleyici yöntemler destek tedavi olarak düşünülmektedir. Cerrahi yalnızca lokal enfeksiyonlarda yararlı olabilmektedir. Bu nedenle uygun antifungal tedavi terapötik yaklaşımların temelini oluşturmakta, ilaç dozlarının yeterliliğinin takibi için monitorizasyon önerileri de bulunmaktadır^(6,7). IDSA, İA olgularında ilk tedavi seçeneği olarak vorikonazol, CPA olgularında ise itrakonazol veya vorikonazol önermektedir⁽⁶⁾. Diğer iki seçenek olan amfoterisin B'nin lipid formülasyonları ve ekinokandinlerin intravenöz olarak verilmesi gerekmektedir. Kaynakların kısıtlı olduğu merkezlerde ve azollerin kontraendike olduğu veya tolere edilemediği durumlarda, amfoterisin B deoksikolat kullanılabilir miyseyse de yüksek toksisitesi nedeniyle, öncelikle lipidli formülasyonların uygun olduğu da belirtilmiştir⁽⁶⁾. Yenilenen ESCMID kılavuzunda ise İA tedavisinde vorikonazol veya isavukonazol önerilirken, yüksek azol minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri saptandığında tedavide lipidli amforisin B bileşiklerine veya kombine tedavi seçeneklerine yönelmek gerektiği bildirilmiştir⁽⁷⁾. Bu kılavuzda tür kompleksine ve türe göre (örneğin azollere intrinsik direnç gösteren *A. fumigatus* kompleksine ait türler için) farklı tedavi önerileri de bulunmaktadır⁽⁷⁾. Amfoterisin B'nin lipid formülasyonları ile tedavinin TR₃₄/L98H vb. azol direnç mutasyonlarına sahip suşlarla geliştirilen deneysel enfeksiyon modellerinde başarılı olabildiği gösterilmiş⁽²¹⁾, bağışıklığı baskılanmış farelerde daha yüksek doz gerektiği bildirilmiştir⁽²²⁾. Ekinokandinler ise faz II çalışmalarda düşük etkinlik gözlendi-

ğinden İA tedavisinde ilk tedavi olarak önerilmemekte, ancak kurtarma tedavisi olarak kullanılacakları belirtilmektedir^(4,6). Örneğin, azol dirençli suşlarla geliştirilen fare enfeksiyon modelinde anidulafungin doza bağlı olarak artan bir etkinlik göstermiş ama maksimum sağkalım yanıtı oluşturamamıştır⁽²³⁾. Azol ve ekinokandin kombinasyonları yarar sağlamamaktadır. Amfoterisin B ve ekinokandin kombinasyonlarının ise maliyeti yüksektir^(4,24). Alerjik aspergilloz tablolarında, KF hastasında akciğer fonksiyonlarında kötüleşme veya alerjik fungal rinosinüziti olan bir hastada tedaviye dirençli/yineleyen hastalık gözlenmesi gibi tablonun enfeksiyona ilerlediği şüphesi yoksa antifungal tedavi önerilmektedir⁽⁶⁾.

Aspergilloz tedavisi, azole dirençli *Aspergillus*'un etken olması durumunda daha ciddi bir sorun hâline gelmektedir. Merkezi sinir sistemi aspergillozu, yüksek mortaliteye sahip ve yıkıcı bir hastalıktır⁽⁶⁾. İlk tedavi seçeneği olarak önerilen vorikonazol ile bildirilen başarı oranları bile %35 gibi düşük oranlarda seyretmekte, lipozomal amfoterisin B ile %10'a, amfoterisin B deoksikolat ile ise %1'lere düşebilmektedir^(6,8,25). Ayrıca, kronik aspergillozlarda elimizdeki tek oral tedavi seçeneği azollerdir^(1,4,6).

İA tedavisinde bağışıklık sistemini baskılayan ajanların azaltılması veya kesilmesi önerilmektedir. Ek olarak, koloni uyarıcı faktörlerin verilmesi veya devam eden tedaviye granülosit transfüzyonları eklenmesi gibi bağışıklık sistemini düzenleyici uygulamalar da kullanılabilir miysetir^(6,7). Ancak, hastaların bu uygulamalara verdikleri yanıtlar değişken olabilmektedir. Tedavi veya koruma amaçlı aşı çalışmaları da bulunmaktadır. Yüksek İA riski olan ve ölümcül sonuçlarla karşılaşabilecek hastalarda veya uzun süreli antifungal tedavi gereksinimi nedeniyle direnç gelişimine açık olan CPA hastalarında kullanılacakları düşünülmektedir⁽²⁶⁾. Bu çalışmaların değerlendirilebilmesi için kriterler

henüz net değildir. Mortalitede azalma, aspergilloz gelişmeden geçirilen sağkalım süresi, fungus eradikasyonu, kolonizasyondan veya enfeksiyondan korunma gibi farklı değişkenler ölçülebilecek ve her biri için farklı sonuçlar elde edilecektir. Patojen *Aspergillus* türlerine ait epitopların ve özelliklerinin ayrıntılarıyla tanımlanması gerekecektir. Ancak bu değişkenler belirlendikten sonra bir aşı çalışmasının tasarlanması, uygulanması ve başarısının saptanabilmesi olası olacaktır⁽²⁶⁾.

Aspergilloz tedavisindeki bu sınırlarılayıcı etkenler göz önüne alındığında, ortaya çıkan ve yayılma eğiliminde olan *Aspergillus*'ta azol direnci oldukça düşündürücü bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

***Aspergillus*'ta azol direnci**

Bir mikroorganizmanın uzun süre seçici antimikrobiyal baskısı altında kalması durumunda direnç gelişebilmektedir. Bu durum, azole dirençli *Aspergillus* için de tetikleyici gibi görünmektedir. *Aspergillus* suşları çevresel ve nozokomiyal ortamlarda azollere maruz kalmaktadırlar. Azoller tarımda fungusit olarak kullanılmaktadır ve kronik hastalıkları veya alerjik rahatsızlıkları olan hastalar için mantarın eradikasyonu gerçekleştirilmeden uzun süreli azol tedavisi gerekmektedir^(1,10).

Klinik *A. fumigatus* izolatlarında azol direnci, yalnızca amfoterisin B ve itraconazolün İA tedavisinde lisanslı olduğu 1989 yılına ait izolatlarda bile bildirilmiştir⁽²⁷⁾. Bildirilen itraconazole dirençli iki izolat, iki farklı hastadan birincil olarak elde edilmiş ve genetik olarak ilişkili bulunmamışlardır. Ayrıca, yüksek MİK değerlerinin hayvan modelinde in vivo tedavi başarısızlığı ile uyumlu olduğu gösterilmiş; izolatların birinde düşük hücre içi itraconazol seviyeleri gözlenmesi, diğerinde ise ergosterol sentez inhibisyonu için daha yüksek hücre içi düzeylerin

gerekmesi nedeniyle iki farklı direnç mekanizmasının sorumlu olması gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu çalışma, aspergillozun ilk basamak tedavisi olarak azollerin rolünün garanti olmadığıının ilk belirtisidir.

Sonraki 10 yıl içinde azol dirençli *Aspergillus* izolatları sporadik olarak bildirilmekle birlikte, 2007'den sonra artmış, farklı merkezler ve coğrafi bölgelerden değişken direnç oranları bildirilmeye başlanmıştır^(1,4). ARTEMIS global süreyans çalışmasında, İA etkeni olan *A. fumigatus* izolatlarında azol direnç oranı (itraconazol, vorikonazol veya posakonazol) %5.8 (29/497) olarak bulunmuş ve tüm dirençli izolatların Çin'de izole edildikleri belirtilmiştir⁽²⁸⁾. Hollanda'da klinik *A. fumigatus* izolatlarında Haziran 2007-Ocak 2009 arasında %5.3 direnç gözlenmiştir⁽¹¹⁾. Dikkati çeken diğer bir nokta, birden fazla azolün dirençten etkilenebilmesidir^(4,11,28).

Aspergillus fumigatus triazol MİK değerleri çoğunlukla 14-alfa-demetilazı kodlayan *cyp51A* genindeki mutasyonlara bağlı olarak yükselmektedir. Atım pompalarının aşırı ekspresyonu veya membran geçirgenliğinde azalma gibi azollerin hücre içi birikimini azaltan diğer direnç mekanizmaları da sorumlu olabilmektedir⁽²⁷⁻³⁰⁾. İki farklı direnç eğilimi fark edilmiştir. İngiltere ve İspanya'dan bildirilen çalışmalarda, uzun dönem azol tedavisinden sonra, özellikle kodon 54 ve 220'de *cyp51A* mutasyonları saptanırken; Hollanda'dan bildirilenlerde ise azole maruz kalmış ve kalmamış hastalardan elde edilenlerin yanı sıra, doğadan izole edilen suşlardan söz edilmiştir^(4,11,12,31-35). Bu çevresel izolatlardaki azol direncinde, 34-bp "tandem repeat" ve *cyp51A* geninin 98. kodonunda bir nokta mutasyonu (TR₃₄/L98H) ile karakterize spesifik bir patern dikkat çekmiştir. Sonraki çalışmalarda her iki tip mutasyonun da hem klinik hem de çevresel izolatlarda varlıkları gösterilmişse de, *Aspergillus* azol direncinin iki farklı şekilde gelişebileceği düşünülmektedir^(4,9,36). Birincisi,

uzun süreli azol tedavisi veya profilaksisinin *Aspergillus* azol MİK değerlerinde yükselmeye ve sonrasında direnç gelişimine neden olmasıdır^(4,9,12,32). Bu durumda dirençli fenotip, azol baskısı altındaki hastada hayatta kalmaya çalışan *A. fumigatus*'un geçirdiği genellikle tek bir mutasyon ile ortaya çıkmaktadır. Hastada daha önce saptanan duyarlı fenotip ile aynı genotipte olduğu, onun devamı olduğu gösterilebilmektedir^(4,9,31). Bu durumda mutasyonlar çok çeşitli olabilmektedir⁽⁴⁾. İkincisinde ise azollere doğadaki maruziyet direnç gelişimine neden olarak suçlanmaktadır^(4,9). Bu durumda, dirençli izolatlarda karakteristik bir grup mutasyon görülmektedir ve öncelikle çevreden köken alır gibi görünseler de hastane ortamına da yayılmaktadırlar^(4,9). Bu izolatların tarım ve bahçecilikte kullanılan sterol demetilasyon inhibitörü antifungaller ile ilişkili oldukları düşünülmektedir⁽⁴⁾. Tarımda kullanılan antifungallerin çoğu triazol türevidir ve *Aspergillus* dâhil saprofitik küfler üzerinde seçici baskıya neden olmaktadırlar. Seksüel and paraseksüel üreme, direnç genlerinin yayılımını artırabilmektedir⁽⁴⁾. Bu gruptaki baskın direnç mekanizması, ilk olarak Hollanda'da saptanan TR₃₄/L98H mutasyonudur^(4,37). Hollanda'da 1990-1996 yılları arasında beş farklı azol bileşiğinin tarımsal kullanımı onaylanmış ve ilk klinik TR₃₄/L98H mutantı 1998'de izole edilmiştir. Azol direncine neden olan "tandem repeat" dizileri fitopatogenik funguslarda da bulunmuştur. Ayrıca L98H mutasyonunun tıbbi azol benzeri yapıdaki tarımsal azolleri inhibe ettiği gösterilmiştir. TR₃₄/L98H mutasyonu, azole maruz kalmamış hastalardan izole edilen izolatlarda da saptanmıştır. Bu durum, aspergillozda hastadan hastaya bulaş beklenmediğinden, dirençli konidyumların çevreden kazanılması ile açıklanmıştır. Tekrarlayan *A. fumigatus* kültür pozitifliği saptanan hastalarda TR₃₄/L98H pozitif suşlardan önce izole edilmiş bir izojenik duyarlı fenotip bulunmaması da, bu dirençli fenotipin dışarıdan kazanıldığı varsayımını desteklemektedir⁽⁴⁾.

Doğada ortaya çıktığı düşünülen TR₄₆/Y121F/T289A gibi başka mutasyonlar ve *Cyp51A* geni dışında mutasyonlar da bildirilmiştir^(4,9,38). *A. fumigatus* TR₃₄/L98H ve TR₄₆/Y121F/T289A *cyp51A* genotiplerinin direnç fenotipleri farklı olabilmektedir. Örneğin, TR₄₆/Y121F/T289A mutantlarında itrakonazol MİK değerlerinde bimodal dağılım gözlenmekte ve daha düşük MİK değerleri gözlenen suşlar bulunmaktadır⁽³⁹⁾.

Türkiye de dâhil olmak üzere dünyada farklı coğrafi bölgelerden hem hastada kazanılmış hem de çevresel tip mutasyonlar bildirilmiştir^(4,9,36,40,41). Hastada kazanılmış ve çevresel *Aspergillus* azol direncinin özellikleri Tablo'da özetlenmiştir. Ancak, klinik örneklerden çevresel mutasyona sahip suşların izole edilebileceği ve klinik mutantların çevreye uyum sağlayabilecekleri unutulmamalıdır^(9,36,40,41).

Azollere karşı direnç gelişiminin kontrol edilmesi, elimizdeki verilerle ulaşması zor bir amaç gibi görünmektedir. Hastada kazanılmış direnç, *Aspergillus*'un eradikasyonunun sağlanamadığı ve hastanın uzun süreli azol tedavisine maruz kaldığı kronik hastalıklar ile ilişkilidir. Ayrıca, kavite varlığında in vivo sporulasyon gerçekleştirebilmekte ve bu da mantar yükünü artırarak mutasyon gelişimini kolaylaştırmaktadır^(10,13). Kronik enfeksiyonu olan hastalarda uygulanan tedavi stratejileri, direnç gelişimini önlemekte başarısız olabilmektedir⁽¹⁰⁾. İA seyri sırasında biyofilm gelişimi ve/veya sporulasyon beklenmediği ve tedavi başarısızlığı genellikle kısa sürede ölümle sonuçlandığı için, tedavi sırasında direnç gelişimi öncelikli bir sorun olarak karşımıza çıkmamaktadır^(10,42). Çevrede kazanılan direnç söz konusu olduğunda ise, suşun doğada hayatta kalabilmesi gerekmektedir. Bu nedenle direnç mutasyonlarının suşa metabolik bir maliyeti olması ve mikrobiyal formunun etkilenmesi durumunda bile, dirençli suşlar, duyarlıların yanı sıra var olabilecek şekilde uyum sağlamalıdır⁽⁴⁾. Bu hipotez, *cyp51A* mutasyo-

nu olan suşların form ve virülanslarının sokak suşlarına yakın olduğunu gösteren bir çalışma ile de desteklenmiştir⁽⁴³⁾. Bu nedenle, dirençli suşların doğada kalıcı olması olası görünmektedir ve azollerin tarımda kullanımlarının kısıtlanmasının etkisi sınırlı olabilir⁽⁴⁾. Tüm bu etkenler göz önüne alındığında, azol direncinin ortaya çıkmasına ve yayılmasına yol açan etkenlerin kontrol edilmesi için daha çok veriye ve çabaya gerek duyulacağı öngörülmektedir.

Ayrıca, *A. fumigatus* tür kompleksi içinde *N. pseudofischeri*, *A. lentulus*, *Aspergillus calidoustus* gibi azole azalmış duyarlılık gösteren türler de bulunmaktadır. Bu kriptik türler, seçici azol baskısı altında hastalardan daha çok izole edilme eğiliminde olacaklardır^(7,17).

***Aspergillus*'ta azol direncinin saptanması**

Aspergillus'ta azol direncinin saptanması için standart yöntem, mantarın kültürde üretilmesine dayanmaktadır. Bir örnekten saf kültür hâlinde elde edilen izolat, bir referans yöntem ile antifungal duyarlılık açısından test edilebilir. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ve European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) filamentöz mantarların antifungal duyarlılıklarının test edilebilmesi için referans yöntemler önermişlerdir. CLSI, 2008'de M38-A2 kılavuzunu yayınlamıştır. Ancak, bu belgede klinik sınır değer önerileri bulunmamaktadır⁽⁴⁴⁾. *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger*, *A. nidulans* ve *A. versicolor* için CLSI yöntemi ile elde edilen türe özgü itra-konazol, posakonazol ve vorikonazol epidemiyolojik eşik değerleri 2010 yılında tanımlanmış ve ilgili çalışma *Aspergillus* için daha önceki çalışmalarda bildirilen azol direncine dikkati çekmiştir⁽⁴⁵⁾. EUCAST, küfler için önerdiği antifungal duyarlılık testi yöntemini Ocak 2017'de yenilemiştir⁽⁴⁶⁾. EUCAST yönteminde, bazı tür/azol kombinasyonları için tanımlanmış türe özgü klinik sınır değerler ve epidemiyolojik eşik

değerler bulunmaktadır⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾.

Aspergillus için onaylanmış referans antifungal duyarlılık testleri bulunmakla birlikte, bu testler emek yoğunudur ve sonuçlanmaları beş güne kadar uzayabilmektedir⁽⁴⁾. Rutin klinik laboratuvarlarda hızlı sonuç elde edilebilmesi için bir agar tarama testi önerilmiştir^(7,11,37,50). Yöntem; üç bölmesine itra-konazol, posakonazol ve vorikonazol eklenmiş olan dört bölmeli bir RPMI1640 agar plağı içermektedir. Azol içeren bölmelerde herhangi bir üreme olması durumunda azol direncinden şüphelenilmekte ve referans mikrodilüsyon yöntemi ile doğrulama önerilmektedir.

Azol direncinin test edilmesi için önerilen referans yöntemler ve tarama testi ile ilgili başka bir sorun, etkenin saf kültürüne olan gereksinimdir. Bu durum bazı dezavantajlara neden olmaktadır: 1) *Aspergilloz*da, özellikle CPA ve ABPA gibi, direnç gelişiminin daha olası olduğu kronik hastalıklarda kültür duyarlılığı düşüktür. 2) Etkenin saf kültürün test edilmesi, duyarlı ve dirençli fenotiplerin tek örnekte bulunduğu durumlarda yanlış yönlendirici olabilmektedir. Çok sayıda (beş koloniye kadar) farklı koloninin test edilmesi önerilmekle birlikte⁽⁷⁾, rutin laboratuvar iş yükünü çok artırabileceği de düşünülmektedir. 3) Hastada kazanılan direnç, etkende form kaybına neden olabilmektedir. Dirençli fenotiplerin daha küçük kolonileri, üzerlerinin daha kolay üreyen duyarlı koloniler tarafından kaplanması veya pasajlarda kolayca üretilmemeleri durumunda gözden kaçırılabilir. Sporulasyon azalmışsa, antifungal duyarlılık testinde inokulum için gerekli miktarda konidyum elde edilemeyecektir; ayrıca tanımlamanın mikroskopik ve makroskopik morfolojiye dayandığı çoğu laboratuvar da tanımlama bile sorun olacaktır. Dahası, form kaybı nedeniyle, dirençli fenotip kültürde hiç izole edilemeyebilir^(6,10,44-49).

Kültür negatif örneklerden antifungal direncin saptanmasına yönelik standart bir yöntem bulunmamaktadır. Aspergillozun tanısı ve sonrasında etkendeki azol direncinin saptanması için moleküler yöntemlerin kullanılması, bu olgularda çözüm olabilir. *Aspergillus* tanısı için PCR geliştirilme aşamasındadır ve umut verici görünmektedir⁽⁶⁾. Tanıda diğer testlerle kombine kullanılabileceği düşünülmektedir⁽⁷⁾. *Aspergillus* DNA'sının saptanması için çok kopyalı genlerin hedeflenmesi olasıdır ve kan örneklerine ek olarak doğrudan enfeksiyon bölgesinden alınan örneklerin test edilmesi duyarlılığı artırabilecektir. Ancak, azol direncinin saptanabilmesi için

bazı ek zorlukların aşılması gerekmektedir. Mutasyonların büyük çoğunluğunun gözlemlendiği *cyp51A* geni tek kopyalı bir gen dir ve bu durum daha düşük bir PCR duyarlılığına neden olabilir⁽⁴⁾. Bu gende çok sayıda direnç mutasyonu bulunabildiğinden, tüm mutasyonların PCR ile taranması olası olmayabilir ve *cyp51A* geninin amplifikasyonu sonrası dizileme gereksinimi olabilir. Bu durumda, saptanan mutasyonların azol direnciyle ilişkisinin gösterilmesi de gereklidir. Ayrıca *cyp51A* geni dışındaki direnç mekanizmalarının ortaya çıkarılması olası olmayacaktır ve ek testler yapılması gerekebilecektir. Yine de, azol dirençli *Aspergillus* suşlarının kül-

Tablo. *Aspergillus*'ta hastada kazanılmış ve çevresel azol direncinin sık gözlenen özellikleri^(4,9-10,38).

Özellik	Hastada kazanılmış direnç	Çevresel direnç
Azole maruziyet öyküsü	Önceden veya devam eden azol tedavisi öyküsü var.	Çoğu hastada azole maruziyet yok.
Klinik form	Aspergilloma/kaviter lezyon görülen ve in vivo sporulasyona olanak tanıyan CPA	Tüm <i>Aspergillus</i> hastalıklarında görülebilir. İA, ABPA, KF hastalarında kronik kolonizasyon vb.
Mutasyonların çeşitliliği	Çok	Az
Mutasyon sayısı	Çok sayıda mutasyon olası	Genellikle tek mutasyon
Farklı hastalardan elde edilen izolatların çeşitliliği	Çok	Az
Direnç mutasyonlarının neden olduğu form kaybı	Var Koloni büyüklüğü, morfoloji ve sporulasyonda değişiklikler	Görünür form kaybı yok
Tanıda zorluk	Azol duyarlı ve dirençli fenotipler eşzamanlı olarak bulunabilir. Azol dirençli fenotipin üreme hızı ve/veya sporulasyonu etkilenmiş olabilir.	Azol duyarlı ve dirençli fenotipler eşzamanlı olarak bulunabilir.
Multiazol veya panazol direnci	Pozitif	Pozitif
Azol tedavisi ile klinik başarısızlık	Bildirilmiş	Bildirilmiş
Sık görülen mutasyonlara örnekler	<i>Cyp51A</i> geninde nokta mutasyonlar: G54 P126 F219 M220 G138 Y431 G448 <i>Cyp51A</i> geni dışı mutasyonlar: HapE AfCox10	<i>Cyp51A</i> geni VE promotor bölge "tandem repeat" ("transcriptional enhancer") mutasyonları: TR ₃₄ /L98H TR ₄₆ /Y121F/T289A TR ₅₃

CPA: Kronik pulmoner aspergilloz; IA: İnvaziv aspergilloz; ABPA: Alerjik bronkopulmoner aspergilloz; KF: Kistik fibrozis

türde üremelerinin sorunlu olabilmesi nedeniyle, bu yöntemler çok değerli olabilirler⁽⁵¹⁾. Azole dirençli *Aspergillus*'un kültür veya PCR ile saptanamadığı olgularda bile CPA'da antifungal tedavi sırasında devam eden güçlü PCR pozitiflikleri direnç ile ilişkili olabilir⁽⁵⁾.

Azol direncinin tedavi ve profilaksiye etkisi

Azoller farklı aspergilloz klinik formlarının tedavisinde ilk seçenek olarak önerilmektedirler^(2,4,6). Ayrıca, İA profilaksisinde elimizdeki tek oral seçenektirler^(4,6). Azol dirençli *Aspergillus* izolatlarının genellikle çoklu direnç veya panazol direnci göstermesi, durumu daha da zorlaştırmaktadır^(4,45,52). Dirençli suşlarla gelişen enfeksiyonlarda azol tedavisi ile başarısızlık rapor edilmiştir^(4,6,9,10,12). Azol dirençli *Aspergillus* ile gelişen enfeksiyonların tedavisinde lipozomal amfoterisin B, ekinokandin ve kombinasyon tedavileri kullanılabilir^(4-6,9,53,54). Ancak, bu alternatiflere geçiş maliyeti artırmakla birlikte etkinliği garanti etmemektedir^(4,6,55). Farklı bölgelere, hatta merkezlere göre değişkenlik göstermekle birlikte, bildirilen azol direnç oranları hâlen genel olarak düşük seyretmektedir^(4,6,37,40,52,56). Bu nedenle, IDSA ilk enfeksiyon sırasında izole edilen *Aspergillus* suşlarının rutin olarak test edilmesini önermemektedir⁽⁶⁾. ESCMID ise, invaziv hastalığı olan kişilerden elde edilen izolatlar için, sürveyans programlarında yüksek direnç saptanan bölgelerde, tedaviye yanıt olmayan hastalarda ve agar tarama testi pozitif olan izolatlarda referans yöntem ile antifungal duyarlılık testi önermektedir⁽⁷⁾. Yine de bir merkezde saptanan azol direnç oranı %10'un üzerinde ise ilk seçenek olarak azol dışında bir antifungale geçilmesi uygun bulunmaktadır^(4,9,57). Azol direncinin uzun süreli tedavi sırasında ortaya çıkabileceği ve azole daha önce maruz kalmamış hastaların da azol dirençli fenotipler ile enfekte olabilecekleri akılda tutulmalıdır^(4,9,58-60). Atipik morfolojiye sahip izolatların azol dirençli olma olasılıkları daha yüksektir ve test edilmele-

ri gerekmektedir^(6,10). İntrinsik veya kazanılmış azol direnci gösterebilen kriptik *Aspergillus* türlerinin de ortaya çıkabilecekleri unutulmamalıdır^(6,17,61).

Sonuç

Aspergillus türleri doğada yaygın olarak bulunurlar ve çok farklı klinik tablolara yol açabilirler. Birincil hedefleri bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar olsa da, konağın özelliklerine bağlı olarak farklı klinik formlar ortaya çıkabilmekte ve daha önce düşünülen çok daha fazla sayıda kişi *Aspergillus* ile ilişkili hastalıklardan etkilenebilmektedir^(2-4,6,10). Aspergilloz için tanı henüz ideal düzeyde değildir ve geliştirilmesi gerekmektedir. Kültür ve doğrudan mikroskop gibi konvansiyonel tanı yöntemlerinin duyarlılıkları düşüktür. Serolojik testler hastalığın tanısında yararlı olabilmekle birlikte, etkinin kesin olarak tanımlanmasına yardımcı olamamaktadırlar. Moleküler testler umut verici görünmektedir ama hâlen standart hale getirilmeleri ve onaylanmaları gerekmektedir^(4,6). Tüm klinik formların tedavisi, temelde ilk tedavi seçeneği olarak önerilen azollere dayanmaktadır. Azoller mortalite oranlarının azaltılmasında başarılı olmuştur. Bu nedenle, azol direncinin ortaya çıkması ve yayılması olumlu gelişmeleri tehdit etmektedir⁽⁹⁾. *Aspergillus*'un azol dirençli mutantları atipik morfolojide olabilmekte, üretilmeleri ve tanımlanmalarında zorluk yaşanabilmektedir. Ayrıca seçici azol tedavisi altında *A. fumigatus* sensu stricto'dan ayrımı güç olan azol dirençli kriptik türler de ortaya çıkabilmektedir⁽¹⁷⁾. Sonuç olarak, azol dirençli bir *Aspergillus* suşu ile gelişen enfeksiyon durumunda, tanısı ve tedavisi zaten yetersiz olan bir tablo daha da karmaşık bir hâle gelmektedir. Antimikrobiyallere dirençli bir ajanla gelişen diğer enfeksiyonlarda da görüldüğü gibi, azol dirençli *Aspergillus* ile gelişen enfeksiyonların daha pahalı ilaçlarla daha uzun süre tedavi edilmesi gerekmekte ancak sonuç daha kötü

olmaktadır^(4,6,9). *Aspergillus*'ta azol direncinin yayılmasının engellenmesi, multidisipliner ve global bir çaba gerektirmektedir^(4,9). Bazı kanıtlar çevresel azol kullanımının direnç gelişimini tetikleyebildiğini gösterse de, tarımda azollerin kısıtlanması var olan dirençli suşların yayılımını engellemeyebileceği ve tarımsal ürün miktarında azalmaya neden olabileceği için önlemler dikkatle planlanmalıdır⁽¹⁾. Aspergilloz tanısında kullanılan yöntemlerin iyileştirilmesi, klinik suşlarda azol duyarlılığının rutin olarak test edilmesi, azol direncinin saptanması için moleküler yöntemlerin geliştirilmesi ve kapsamlı sürveys çalışmaları sorunun daha iyi anlaşılmasına yardımcı olarak bu patojene karşı savaşabilmek için en iyi stratejilerin oluşturulmasına olanak sağlayabilecektir^(4,9,10).

KAYNAKLAR

- Denning DW, Perlin DS. Azole resistance in *Aspergillus*: a growing public health menace. *Future Microbiol*. 2011;6(11):1229-32. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.118>
- Denning DW, Pleuvry A, Cole DC. Global burden of chronic pulmonary aspergillosis as a sequel to pulmonary tuberculosis. *Bull World Health Organ*. 2011;89(12):864-72. <https://doi.org/10.2471/BLT.11.089441>
- Denning DW, Pleuvry A, Cole DC. Global burden of allergic bronchopulmonary aspergillosis with asthma and its complication chronic pulmonary aspergillosis in adults. *Med Mycol*. 2013;51(4):361-70. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.738312>
- Kleinkauf N, Verweij PE, Arendrup MC, et al. Risk assessment on the impact of environmental usage of triazoles on the development and spread of resistance to medical triazoles in *Aspergillus* species. Stockholm: ECDC, 2013.
- Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, et al. Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. *Eur Respir J*. 2016;47(1):45-68. <https://doi.org/10.1183/13993003.00583-2015>
- Patterson TF, Thompson GR, 3rd, Denning DW, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;63(4):e1-e60. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw326>
- Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-Akdagli S, et al. Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(Suppl1):e1-e38. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.01.002>
- Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis*. 2001;32(3):358-66. <https://doi.org/10.1086/318483>
- Verweij PE, Chowdhary A, Melchers WJ, Meis JF. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: can we retain the clinical use of mold-active antifungal azoles? *Clin Infect Dis*. 2016;62(3):362-8. <https://doi.org/10.1093/cid/civ885>
- Verweij PE, Zhang J, Debets AJ, et al. In-host adaptation and acquired triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a dilemma for clinical management. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(11):e251-e260. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30138-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30138-4)
- van der Linden JW, Snelders E, Kampinga GA, et al. Clinical implications of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*, The Netherlands, 2007-2009. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(10):1846-54. <https://doi.org/10.3201/eid1710.110226>
- Howard SJ, Cerar D, Anderson MJ, et al. Frequency and evolution of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* associated with treatment failure. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(7):1068-76. <https://doi.org/10.3201/eid1507.090043>
- Zhang J, Debets AJ, Verweij PE, et al. Asexual sporulation facilitates adaptation: The emergence of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Evolution*. 2015;69(10):2573-86. <https://doi.org/10.1111/evo.12763>
- Larone DH. *Medically Important Fungi A Guide to Identification*. 5 ed. Washington DC: ASM Press, 2011.
- Procop GW, Church DL, Hall GS, et al. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 7 ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017.
- Mitchell TG. *Mycology*. In: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA, Eds. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, USA: McGraw-Hill Companies Inc.*, 2013:671-714.
- Lamoth F. *Aspergillus fumigatus*-related species in clinical practice. *Front Microbiol*. 2016;7:683. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00683>
- Schwarz C, Hartl D, Eickmeier O, et al. Progress in definition, prevention and treatment of fungal infections in cystic fibrosis. *Mycopathologia*. 2018;183(1):21-32. <https://doi.org/10.1007/s11046-017-0182-0>
- Singh A, Ralhan A, Schwarz C, Hartl D, Hector A. Fungal pathogens in CF airways: leave or treat? *Mycopathologia*. 2018;183(1):119-37. <https://doi.org/10.1007/s11046-017-0184-y>
- Chen SC, Meyer W, Pashley CH. Challenges in laboratory detection of fungal pathogens in the airways of cystic fibrosis patients. *Mycopathologia*. 2018;183(1):89-100. <https://doi.org/10.1007/s11046-017-0150-8>
- Seyedmousavi S, Melchers WJ, Mouton JW, Verweij PE. Pharmacodynamics and dose-response relationships of liposomal amphotericin B against different azole-resistant *Aspergillus fumigatus* isolates in a murine model of disseminated aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(4):1866-71. <https://doi.org/10.1128/AAC.02226-12>

22. Seyedmousavi S, Mouton JW, Melchers WJG, Verweij PE. In vivo efficacy of liposomal amphotericin B against wild-type and azole-resistant *Aspergillus fumigatus* isolates in two different immunosuppression models of invasive aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(6):e02479-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.02479-16>
23. Seyedmousavi S, Bruggemann RJ, Melchers WJ, Verweij PE, Mouton JW. Pharmacodynamics of anidulafungin against clinical *Aspergillus fumigatus* isolates in a nonneutropenic murine model of disseminated aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(1):303-8. <https://doi.org/10.1128/AAC.01430-12>
24. Seyedmousavi S, Meletiadiis J, Melchers WJ, et al. In vitro interaction of voriconazole and anidulafungin against triazole-resistant *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(2):796-803. <https://doi.org/10.1128/AAC.00980-12>
25. Schwartz S, Ruhnke M, Ribaud P, et al. Improved outcome in central nervous system aspergillosis, using voriconazole treatment. *Blood*. 2005;106(8):2641-5. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-02-0733>
26. Levitz SM. *Aspergillus* vaccines: Hardly worth studying or worthy of hard study? *Med Mycol*. 2017;55(1):103-8. <https://doi.org/10.1093/mmy/myw081>
27. Denning DW, Venkateswarlu K, Oakley KL, et al. Itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;41(6):1364-8.
28. Lockhart SR, Frade JP, Etienne KA, et al. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus* isolates from the ARTEMIS global surveillance study is primarily due to the TR/L98H mutation in the *cyp51A* gene. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(9):4465-8. <https://doi.org/10.1128/AAC.00185-11>
29. Manavathu EK, Vazquez JA, Chandrasekar PH. Reduced susceptibility in laboratory-selected mutants of *Aspergillus fumigatus* to itraconazole due to decreased intracellular accumulation of the antifungal agent. *Int J Antimicrob Agents*. 1999;12(3):213-9. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(98)00102-2)
30. Cannon RD, Lamping E, Holmes AR, et al. Efflux-mediated antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22(2):291-321. <https://doi.org/10.1128/CMR.00051-08>
31. Verweij PE, Snelders E, Kema GH, Mellado E, Melchers WJ. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use? *Lancet Infect Dis*. 2009;9(12):789-95. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70265-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70265-8)
32. Bueid A, Howard SJ, Moore CB, et al. Azole antifungal resistance in *Aspergillus fumigatus*: 2008 and 2009. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(10):2116-8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq279>
33. Diaz-Guerra TM, Mellado E, Cuenca-Estrella M, Rodriguez-Tudela JL. A point mutation in the 14alpha-sterol demethylase gene *cyp51A* contributes to itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(3):1120-4. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.3.1120-1124.2003>
34. Snelders E, van der Lee HA, Kuijpers J, et al. Emergence of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* and spread of a single resistance mechanism. *PLoS Med*. 2008;5(11):e219. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050219>
35. Mellado E, Garcia-Effron G, Alcazar-Fuoli L, Cuenca-Estrella M, Rodriguez-Tudela JL. Substitutions at methionine 220 in the 14alpha-sterol demethylase (*Cyp51A*) of *Aspergillus fumigatus* are responsible for resistance in vitro to azole antifungal drugs. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(7):2747-50. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.7.2747-2750.2004>
36. Bader O, Tunnermann J, Dudakova A, et al. Environmental isolates of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in Germany. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(7):4356-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.00100-15>
37. van der Linden JW, Arendrup MC, Warris A, et al. Prospective multicenter international surveillance of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(6):1041-4. <https://doi.org/10.3201/eid2106.140717>
38. Wei X, Chen P, Gao R, et al. Screening and characterization of a non-*cyp51A* mutation in an *Aspergillus fumigatus* cox10 strain conferring azole resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(1):e02101-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.02101-16>
39. van Ingen J, van der Lee HA, Rijs TA, et al. Azole, polyene and echinocandin MIC distributions for wild-type, TR₃₄/L98H and TR₄₆/Y121F/T289A *Aspergillus fumigatus* isolates in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(1):178-81. <https://doi.org/10.1093/jac/dku364>
40. Ozmerdiven GE, Ak S, Ener B, et al. First determination of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* strains carrying the TR₃₄/L98H mutations in Turkey. *J Infect Chemother*. 2015;21(8):581-6. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.04.012>
41. Sharma C, Hagen F, Moroti R, Meis JF, Chowdhary A. Triazole-resistant *Aspergillus fumigatus* harbouring G54 mutation: Is it de novo or environmentally acquired? *J Glob Antimicrob Resist*. 2015;3(2):69-74. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2015.01.005>
42. Shalhoub S, Luong ML, Howard SJ, et al. Rate of *cyp51A* mutation in *Aspergillus fumigatus* among lung transplant recipients with targeted prophylaxis. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(4):1064-7. <https://doi.org/10.1093/jac/dku528>
43. Mavridou E, Meletiadiis J, Jancura P, et al. Composite survival index to compare virulence changes in azole-resistant *Aspergillus fumigatus* clinical isolates. *PLoS One* 2013;8(8):e72280. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072280>
44. CLSI. CLSI Document M38-A2. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard-second edition. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
45. Espinel-Ingroff A, Diekema DJ, Fothergill A, et al. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for the triazoles and six *Aspergillus* spp. for the CLSI broth microdilution method (M38-A2 document). *J Clin Microbiol*. 2010;48(9):3251-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.00536-10>
46. Arendrup MC, Meletiadiis J, Mouton JW, et al. EUCAST Definitive Document E.DEF 9.3.1 Method for the

- determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds.(version 9.3.1 valid from 15 January, 2017). http://www.eucast.org/ast_of_fungi/methodsinantifungalsusceptibilitytesting/susceptibility_testing_of_moulds/ (Erişim Tarihi: Ocak 2018)
47. Hope WW, Cuenca-Estrella M, Lass-Florl C, et al. EUCAST technical note on voriconazole and *Aspergillus* spp. Clin Microbiol Infect. 2013;19(6):E278-80. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12148>
 48. Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Florl C, et al. EUCAST technical note on *Aspergillus* and amphotericin B, itraconazole, and posaconazole. Clin Microbiol Infect. 2012;18(7):E248-50. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03890.x>
 49. Arendrup MC, Meletiadiş J, Mouton JW, et al. EUCAST technical note on isavuconazole breakpoints for *Aspergillus*, itraconazole breakpoints for *Candida* and updates for the antifungal susceptibility testing method documents. Clin Microbiol Infect. 2016;22(6):571.e1-4. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.01.017>
 50. van der Linden JWM, Arendrup MC, van der Lee HAL, Melchers WJG, Verweij PE. Azole containing agar plates as a screening tool for azole resistance of *Aspergillus fumigatus*. Mycoses. 2009;52(s1):19.19.
 51. Denning DW, Park S, Lass-Florl C, et al. High-frequency triazole resistance found In nonculturable *Aspergillus fumigatus* from lungs of patients with chronic fungal disease. Clin Infect Dis. 2011;52(9):1123-9. <https://doi.org/10.1093/cid/cir179>
 52. Fischer J, van Koningsbruggen-Rietschel S, Rietschel E, et al. Prevalence and molecular characterization of azole resistance in *Aspergillus* spp. isolates from German cystic fibrosis patients. J Antimicrob Chemother. 2014;69(6):1533-6. <https://doi.org/10.1093/jac/dku009>
 53. Hamprecht A, Morio F, Bader O, Le Pape P, Steinmann J, Dannaoui E. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus* in patients with cystic fibrosis: a matter of concern? Mycopathologia. 2018;183(1):151-60. <https://doi.org/10.1007/s11046-017-0162-4>
 54. Lepak AJ, Marchillo K, VanHecker J, Andes DR. Impact of in vivo triazole and echinocandin combination therapy for invasive pulmonary aspergillosis: enhanced efficacy against Cyp51 mutant isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(11):5438-47. <https://doi.org/10.1128/AAC.00833-13>
 55. Ostermann H, Solano C, Jarque I, et al. Cost analysis of voriconazole versus liposomal amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis among patients with haematological disorders in Germany and Spain. BMC Pharmacol Toxicol. 2014;15:52. <https://doi.org/10.1186/2050-6511-15-52>
 56. Prigitano A, Esposito MC, Biffi A, et al. Triazole resistance in *Aspergillus fumigatus* isolates from patients with cystic fibrosis in Italy. J Cyst Fibros. 2017;16(1):64-9. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2016.06.006>
 57. Verweij PE, Ananda-Rajah M, Andes D, et al. International expert opinion on the management of infection caused by azole-resistant *Aspergillus fumigatus*. Drug Resist Updat. 2015;21-22:30-40. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2015.08.001>
 58. Camps SM, van der Linden JW, Li Y, et al. Rapid induction of multiple resistance mechanisms in *Aspergillus fumigatus* during azole therapy: a case study and review of the literature. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56(1):10-6. <https://doi.org/10.1128/AAC.05088-11>
 59. Mortensen KL, Jensen RH, Johansen HK, et al. *Aspergillus* species and other molds in respiratory samples from patients with cystic fibrosis: a laboratory-based study with focus on *Aspergillus fumigatus* azole resistance. J Clin Microbiol. 2011;49(6):2243-51. <https://doi.org/10.1128/JCM.00213-11>
 60. Astvad KM, Jensen RH, Hassan TM, et al. First detection of TR₄₆/Y121F/T289A and TR₃₄/L98H alterations in *Aspergillus fumigatus* isolates from azole-naive patients in Denmark despite negative findings in the environment. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(9):5096-101. <https://doi.org/10.1128/AAC.02855-14>
 61. Howard SJ, Harrison E, Bowyer P, Varga J, Denning DW. Cryptic species and azole resistance in the *Aspergillus niger* complex. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55:4802-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.00304-11>