

Pediyatrik Hematoloji - Onkoloji Hastalarında Candida Kolonizasyonu

Ayşegül YAĞCI(*), Cengiz AKBENLİOĞLU (**), Cengiz CANPOLAT (***), Mustafa BAKIR (****)

(*) Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

(**) Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, İstanbul

(***) Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, Hematoloji- Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul

(****) Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, İnfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Bu çalışmada Marmara Üniversitesi Hastanesi pediyatrik hematoloji- onkoloji bölümüne yatırılan hastalarda Kasım 2000- Eylül 2001 tarihleri arasında fungal kolonizasyonu takip etmek amacıyla, hastalardan hastaneye yatışlarından itibaren ilk gün , üçüncü gün, yedinci gün toplam 3 kez ve yatışları süre içinde haftada 1 kez boğaz, aksilla, burun ve perianal bölgeden örnek alınmıştır. Yirmibir hastadan alınan toplam 496 örneğin 102 (%20.5)'inde Candida üremesi olmuştur. Yirmi bir hastanın yedisinde çalışma dönemi boyunca alınan örneklerde Candida üremesi olmamıştır. Beş hastada ilk yatıştan itibaren alınan örneklerde üreme olmuştur. Dokuz hastada ilk örnekler negatifken daha sonra alınan örneklerde Candida üremesi saptanmıştır. Candida suşlarının tür düzeyinde tiplendirilmesi tümü perianal bölge kaynaklı örneklerde bir örnekte *C. kefry*, birinde *C. tropicalis*, birinde *C. glabrata* hariç tüm suşların *C. albicans* olduğunu göstermiştir. Oniki hastada orofarengeal bölgede kolonize olan *C.albicans* suşlarının genotipik analizi üç hastada aynı genotipin üç aydan uzun süre kalıcı olduğunu gösterirken aynı dönemde izlenen hasta suşları arasında genotipik benzerlik gösterilememiştir. Çalışma süresi içinde hastaların hiçbirinde invazif Candida enfeksiyonu gelişmemiştir.

Anahtar kelimeler: Candida, kolonizasyon, pediyatrik hematoloji- onkoloji hastaları

SUMMARY

Candida Colonisation In Pediatric Hematology- Oncology Patients

In this study, in order to evaluate fungal colonization of patients admitted to pediatric hematology- oncology unit of Marmara University Hospital between October 2000 to September 2001, swab samples were taken from nostrils, oral cavity, rectum and axillary regions. Samples were taken in the first day of hospitalization and procedure was repeated in the 3rd- 7th day and once in a week during the hospitalization period. Candida species were isolated from 102(20.5%) of 496 samples. Seven out of 21 patients remained non-colonized during the study period whereas five patients were initially colonized. Nine patients were colonized during the hospitalization. Candida strains were typed to species level and all the isolates except one *C. kefry*, one *C. tropicalis*, one *C. glabrata* were evaluated as *albicans*. Genotypic analysis of oropharyngeal Candida *albicans* strains colonised in 12 patients revealed that the same genotype was persisted in three patients for more than three months and no cross- colonisation between patients was demonstrated. Systemic candidiasis was detected in any of the patients.

Key words: Candida, colonization, pediatric hematology- oncology patients

GİRİŞ

Kanser hastalarında kolonize olan mikro-organizmalarla enfeksiyon etkenleri arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. Febril nötropenide tedavi başarısı etken mikroorganizmayı bilmekle doğrudan orantılıdır. Marmara Üniversitesi Hastanesi Pediyatrik Hematoloji-Onkoloji servisinde Ocak 1994 - Mart 2000 tarihleri arasında kanser tanısıyla tedavi gördükleri dö-

nemde febril nötropeni nedeniyle yatırılmış olan hastalar retrospektif olarak incelendiğinde kültürlerde ancak %37 oranında üreme sağlanabildiği, en sık görülen mikroorganizmaların ise başta Candida türleri olmak üzere, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve gram negatif basiller (sırasıyla *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda onkoloji servisinde izlenen hastalarda fungal kolonizasyonun belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu hastalarda sistemik fungal infeksiyonlar sık görülmekte ve genellikle normalde saprofit kabul edilen etkenlerden kaynaklanmaktadır (1). Fungal infeksiyonların büyük çoğunluğu Candida türlerine bağlıdır ve sistemik Candida infeksiyonlarının prognozu kötüdür. Sistemik kandidoz gelişebileceğini erkenden saptamak hastanın en kısa zamanda tedavi edilebilmesiyle hayat kurtarıcı olabilirken, gelişmeyeceğini öngörmek de gereksiz antifungal kullanımını ortadan kaldıracaktır(2,3). Çalışmamızda pediatrik onkoloji hastaları yattıkları süre boyunca fungal kolonizasyon açısından izlenmiş ve izole edilen suşların genotipik analiziyle suşların endojen kaynaklı mı olduğu yoksa hastane ortamında mı edinildiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Marmara Üniversitesi Pediatrik Hematoloji-Onkoloji servisi 6 hastalık bir koğu düzenine sahiptir. Bu servise Kasım 2000- Eylül 2001 tarihleri arasında yatırılan kanserli çocuklardan yatışın 1., 3. ve 7. günü olmak üzere toplam üç kez ve yattıkları süre içinde haftada bir kez örnek alınmıştır. Boğaz, aksilla, burun ve perianal bölgeden steril serum fizyolojik ile ıslatılmış pamuklu çubukla (Copan, İtalya) alınan sürüntü örnekleri taşıma besiyerinde laboratuvara nakledilmiştir. Sabraud dextrose agar besiyerine ekim sonrasında plaklar 48 saat süreyle 37 °C 'de inkübe edilmiştir. Besiyerinde üreyen maya kolonilerinin tür düzeyinde tanımlanması için karbonhidrat assimilasyon reaksiyonları ticari bir kit ile değerlendirilmiştir (ID32C, Biomerioux, Fransa).

Oral C.albicans kolonizasyonuna neden olan suşların DNA tiplendirmesi AP-PCR (arbitrarily primed polymerase chain reaction) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. On iki hastadan izole edilen 23 C. albicans suşunda DNA izolasyonu için Philip-pessen ve ark.'ın metodu kullanılmıştır (4). Amplifikasyonlar 10 mM TRIS-HCL, 2.5 mM MgCl₂, 50 mM KCL, % 0.01 jelatin, %0.1Triton-x, 0.2 mM dNTP, 50 pmol primerler, 0.5 U Taq polimerase ve 10 ng DNA içeren 100 ml reaksiyon karı-

şımı içinde gerçekleştirilmiştir. VanBelkum tarafından önerilen aşağıdaki primerler kullanılmıştır (5) :

ERIC1(AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG)
ERIC2(ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC)

PCR Biomed 60 "thermocycler" içinde 94°C'de 5 dakika denaturasyonu takiben, 94°C'de 1 dakika, 25°C'de 1 dakika, 74°C'de 1 dakika basa-maklarından oluşan 35 döngü ve son olarak 74°C'de 10 dakika tutularak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon ürünü etidyum bromidli %2'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra UV transiluminatörde incelenmiş ve bant paternleri gözle değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Kasım 2000-Eylül 2001 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi hematoloji-onkoloji servisinde izlenen 21 hasta çalışmaya alınmıştır (çalışma döneminde hasta yatışlarıyla ilgili hastane resmi protokolündeki değişiklik nedeniyle hasta sayısı 21 ile sınırlı kalmıştır). Alınan toplam 496 örneğin 102 (%20.5)'sinde (21 hastanın 14'ünde) Candida üremesi olmuştur. Hastaların yedisinde çalışma dönemi boyunca alınan örneklerin hiçbirinde Candida üremesi olmamıştır. Beş hastada yatışın ilk gününden itibaren alınan örneklerde üreme olmuştur. Tümü perianal bölge kaynaklı olmak üzere örneklerde üretilen Candida kökenlerinin biri C. kefyur, biri C. tropicalis, biri C. glabrata, diğerleri C. albicans olarak belirlenmiştir. İzole edilen Candida suşlarına ait veriler Tablo 1' de sunulmuştur. Çalışma süresi içinde hastalarımızın hiç birinde invazif Candida infeksiyonu gelişmemiştir.

Oniki hastada orofarengal bölgeden izole edilen 23 farengal Candida albicans suşu genotipik olarak AP-PCR ile değerlendirildiğinde aynı zamanda izlenen hastalardan izole edilen suşlarda genotipik benzerlik görülmemiştir (Resim 1). Üç hastada aynı suşun 3 ay boyunca kolonize olduğu saptanmıştır.

TARTIŞMA

Pediatrik kanser hastalarında primer hastalık veya kemoterapi ve/veya radyoterapiye sekonder gelişen

Tablo 1. Hastalardan izole edilen Candida suşlarının izolasyon tarihleri, izole edildikleri bölge ve türleri

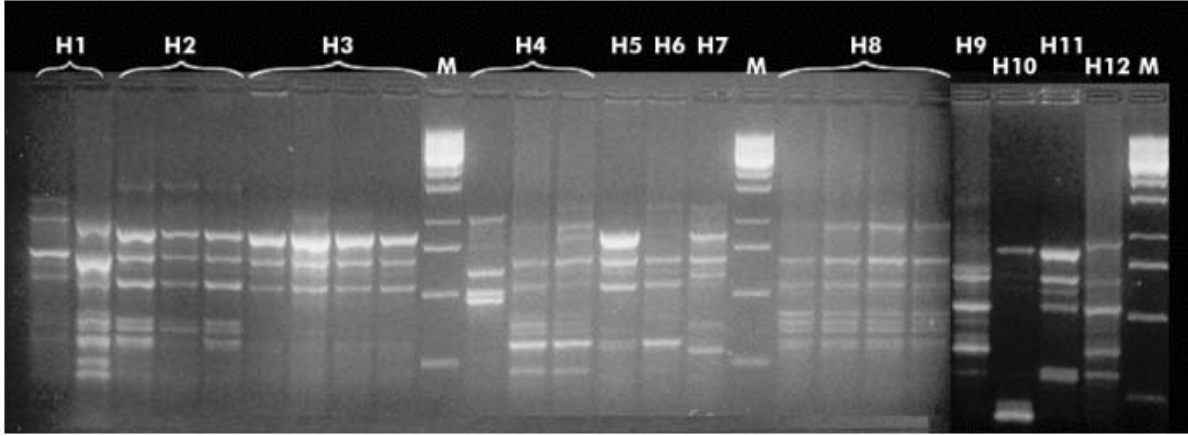
HASTA NO	İZOLASYON TARİHİ	İZOLASYON YERİ	TÜRÜ
1	28/11/2000	O/P	ALBICANS
	5/12/2000	O/P	ALBICANS
	12/12/2000	O/P	ALBICANS
	19/12/2000	O/P	ALBICANS
	26/12/2000	O/P	ALBICANS
		O/P	
2	13/11/2000	O	ALBICANS
	24/11/2000	O	ALBICANS
	27/11/2000	O	ALBICANS
	5/12/2000	O	ALBICANS
	13/12/2000	O	ALBICANS
		O	
3	30/11/2000	O	ALBICANS
	21/12/2000	O	ALBICANS
	25/12/2000	O/P	ALBICANS
	27/2/2001	O/P	ALBICANS
	26/6/2001	O/P	ALBICANS
		O/P	
4	9/1/2001	O/P	ALBICANS
	18/1/2001	O/P	ALBICANS
	27/1/2001	O/P	ALBICANS
	15/3/2001	O/P	ALBICANS
	9/4/2001	O	ALBICANS
	13/4/2001	O	ALBICANS
5	6/1/2001	O	ALBICANS
	9/1/2001	O	ALBICANS
	18/1/2001	O/P	ALBICANS
	26/1/2001	O/P	ALBICANS
	14/3/2001	O/P	ALBICANS
	9/4/2001	O/P	ALBICANS
6	4/1/2001	O/P	ALBICANS
	9/4/2001	O/P	ALBICANS
7	2/1/2001	P	ALBICANS
8	24/1/2001	O/P	ALBICANS
	27/1/2001	O/P	ALBICANS
	27/2/2001	O/P	ALBICANS/GLABRATA
9	4/2/2001	O/P	ALBICANS
	7/2/2001	O/P	ALBICANS
	27/2/2001	O/P	ALBICANS
	7/3/2001	O/P	ALBICANS
	14/3/2001	O/P	ALBICANS
	30/3/2001	O/P	ALBICANS
	6/4/2001	O/P	ALBICANS
	13/4/2001	O/P	ALBICANS
10	15/3/2001	P	KEFYR
	27/3/2001	P	KEFYR
	30/3/2001	P	KEFYR
11	26/3/2001	O/P	ALBICANS/TROPICALIS
	30/3/2001	O/P	ALBICANS/TROPICALIS
12	9/4/2001	P	ALBICANS
13	19/6/2001	O/P	ALBICANS
	22/6/2001	O/P	ALBICANS
	27/6/2001	O/P	ALBICANS
	2/7/2001	O/P	ALBICANS
14	19/6/2001	O/P	ALBICANS
	22/6/2001	O/P	ALBICANS

*O= Orafarinks

** P= Perianal bölge

Resim 1: Orofarengeal *C. albicans* suşlarının genotipik analizi

H1: 28/11/2000- 12/2/2000 H2: 30/11/2000- 25/12/2000- 27/2/2000
H3: 5/12/2000- 9/1/2001- 27/1/2001- 15/3/2001 H4: 6/1/2001- 13/2/2001- 9/4/2001
H5: 4/1/2001 H6: 2/1/2001 H7: 24/1/2001
H8: 4/2/2001- 27/2/2001- 14/3/2001- 6/4/2001
H9: 30/7/2001 H10: 22/6/2001 H11: 22/6/2001 H12: 13/11/2000



immün yetmezlik döneminde görülen infeksiyon hastalıkları önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir.

Deri ve mukoza bütünlüğü konağı mikroorganizma invazyonuna karşı koruyan doğal bir bariyer iken, tümör invazyonu veya tedavi yöntemlerine bağlı olarak bu bütünlüğün bozulması infeksiyona duyarlılığı arttırmaktadır (1).

Febril nötropeni onkoloji hastalarında sık karşılaşılan bir komplikasyondur. Bu hastalarda mortalite oranı 1960' larda %80' lere iken erken dönemde ampirik antibiyotik tedavisi uygulanmaya başlanması ve 3 gün içinde düşmeyen ateş varlığında sistemik antifungal eklenmesiyle %3' lere düşmüştür (6,7). Ancak antibiyotiklere dirençli suşlarla infeksiyon sıklığının artması ampirik antibiyotik seçim kriterlerini yeniden değerlendirmek gerekliliğine yol açmıştır. Febril nötropenik hastalardan alınan kültürlerden izole edilen mikrororganizmaların %80'den fazlası endojen floradan kaynaklanmaktadır.

Bu hastalarda fungal enfeksiyonlar ayrı bir öneme sahiptir. Ağız boşluğunun özellikle *Candida* türlerine bağlı olan infeksiyonları ağız nedeniyle beslenmeyi engellediği gibi, mikroorganizmanın sistemik olarak yayılmasıyla da sonuçlanabilir (8). *Candida albicans* sağlıklı bireylerin çoğunun ağız boşluğunda ve

ya barsaklarında bulunan zararsız bir mikroorganizma olmasına rağmen immün sistemi baskılanmış hastalarda önemli bir patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hastalarda immün cevabın zayıflaması çoğunlukla daha önceden ağızda kolonize olan suşların doku penetrasyonu ve enflamasyon oluşturmasıyla sonlanmaktadır. Özellikle hematolojik malinite tedavisi gören hastalarda immün sistemi baskılayıcı tedavi oral *Candida* infeksiyonlarının tekrarlamasına yol açabilmektedir. Bu konuda ilk çalışmaları gerçekleştiren Sanford ve ark. tarama örneklerinin %21,6'sında *Candida* üremesi saptamıştır(2). Bu örneklerin %67'si *C. albicans* üremesidir ve hastaların %2'sinde *C. albicans*' a bağlı sistemik infeksiyon gelişmiştir. Oysa *C. tropicalis* ile kolonize olan hastalarda bu oran %60'a çıkmıştır. Yazarlar *C. albicans* için tarama kültürlerinde saptanan pozitifliğin sistemik infeksiyon gelişmesini öngörmeye kullanılamayacağını, *C. tropicalis* kolonizasyonu ile sistemik infeksiyon gelişmesinin öngörülebileceğini ancak tarama kültürlerinin negatif kalması durumunda her iki mikroorganizmaya bağlı sistemik hastalık gelişmeyeceğini öngörülebileceğini belirtmişlerdir. Benzer bir çalışmayı 822 lösemi hastası ve 290 lenfoma hastasıyla gerçekleştiren Marina ve ark (9) hastaları 8 yıl boyunca izlemişler , lösemi hastalarında *C. albicans* ile kolonize olanların %2'sinde, *C. tropicalis* ile

kolonize olanların %11.2'sinde invaziv infeksiyon geliştiğini ancak lenfoma hastalarının hiçbirinde invaziv infeksiyon gelişmediğini saptamışlardır.

Örneklerimizin %20.5'inde üreme olması Stanford ve ark'nın bulguları ile 42 hematolojik malignite hastasından alınan örneklerin %28'inde üreme saptayan Salonen ve ark'nın bulgularıyla uyumludur(2,10). Hoppe ve ark (11) tümü antifungal tedavi verilen 46 maligniteli çocuğun %24'ünde alınan ilk örnekte kolonizasyon saptamış ve hastaların %28'inin çalışma süresince kolonize olmadığını saptamışlardır. Bizim çalışmamızda hastaların 7'sinde(%33.3) çalışma dönemi boyunca alınan örneklerde Candida üremesi olmamış, 5(%23.8) hasta da ilk yatıştan itibaren alınan örneklerde üreme olmuştur.

Türkiye'den bu konuda yapılan tek çalışmayı gerçekleştiren Gözdaşoğlu ve ark(12) 52 kanser hastası çocuğun 36'sında (%69.2) kolonizasyon saptamışlardır. Tümü antibiyotik alan hastalarda yalnızca C. albicans kolonizasyonu saptanmış ve 2 olguda kandidemi gelişmiştir. Çalışmamızda hastaların hiçbirinde invaziv fungal infeksiyon gelişmemesi profilakside kullanılan antifungallerin etkinliğine bağlanabilir. Ancak diğer yazarlarca da belirtildiği gibi dirençli suşların ortaya çıkması riski vardır(10).

Hastalardan izole edilen Candida suşlarının genotipik analizi amacıyla AP-PCR yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin kullanılmasıyla Candida kolonizasyonunun stabilitesini araştıran çalışmalarda 24 nötrope-nik hastanın %55'inde, 11 kemik iliği transplantasyon hastasının %90'ında, 28 AIDS hastasının %38'inde aynı genotipin kalıcı olduğu gösterilmiştir(5,13,14). Bu oran tarafımızdan yapılan bir çalışmada 12 erişkin nötrope-nik hastada %58.4 olarak saptanmıştır(15). Pediatrik hematoloji hastalarından izole edilen orofarengeal Candida suşlarının genotipik analizini yaptığımız çalışmamızda 3 hastada aynı suşun 3 aydan uzun süre kalıcı olduğu gösterilirken aynı dönemde izlenen hastalarda genotipik benzerlik olmaması kolonizasyonun endojen kaynaklı olduğunu düşündürmektedir. Genotipik analiz yapılabilen suş sayısının 23 ile sınırlı kalması nedeniyle çalışmamızın bu kısmını bir ön rapor şeklinde sunmaktayız ve daha çok sayıda suş ile çalışılabilmesi durumunda daha detaylı veriler elde edilebileceğine inanmaktayız.

KAYNAKLAR

1. Pizzo P: Infectious complications in the pediatric cancer patient. "Paplock D(ed): Principles and Practice of Pediatric Oncology", p 1069, Lippincott-Raven, Philadelphia, (1997).
2. Sanford GR, Merz WG, Wingard JR, Charache P, Saral R: The value of fungal surveillance cultures as predictors of systemic fungal infections. J Infect Dis 142: 503 (1980).
3. Pfaller M, Cabezudo I, Koontz F, Bale M, Gingrich R: Predictive value of surveillance cultures for systemic infections due to Candida species. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 6: 628(1987).
4. Phillippsen, P, Stotz A, Scherf C: DNA of Saccharomyces cerevisiae. Meth Enzymol 194:169(1991).
5. Van Belkum A, Melchers W, Pauw B, Shere S, Quint W: Genotypic characterization of sequential Candida albicans strains isolated from flucanazole treated neutropenic patients. J Infect Dis 169: 1062(1994).
6. Wehl G, Allerberger F, Heitger A, Meister B, Maurer K, Franz- Martin F: Trends in infection morbidity in a pediatric oncology ward, 1986- 1995. Med Ped Oncol 32: 336 (1999).
7. Hughes W, Armstrong D: 1997 Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. Guidelines from the Infectious Diseases Society of America: 551(1997).
8. Stinnet EA, Childers NK, Wright JT, Rodu BK, Bradley EL: The detection of oral candida in pediatric leukemia patient. Pediatr Dent 14: 236(1992).
9. Marina NM, Flynn PM, Rivera GK, Hughes WT: Candida tropicalis and Candida albicans fungemia in children with leukemia. Cancer 68: 594(1991).
10. Salonen JH, Richardson MD, Galacher K, Issakainen J, Helenius H, Lehtonen OP, Nikoskelainen J: Fungal colonization of hematological patients receiving cytotoxic chemotherapy. J Hosp Infect 45: 293(2000).
11. Hoppe JE, Friess D, Niethammer D: Orointestinal yeast colonization of pediatric oncologic patients during antifungal prophylaxis. Mycosis 38: 41(1995).
12. Gözdaşoğlu S, Ertem M, Büyükeçeci Z, Yavuzdemir S, Bengisun S, Özenci H, Taçyıldız N, Ünal E, Yavuz G, Deda G, Aysev D : Fungal colonization and infection in children with acute leukemia and lymphoma during induction therapy. Med Pediatr Oncol 32: 344(2000).
13. VanBelkum A, Mol W, Saene R, Ball L, Velzen D,

Quint W: PCR mediated genotyping of *Candida albicans* strains from bone marrow transplanted patients. *Bone Marrow Transplant* 13: 811(1994)

14. Barchiesi F, Hollis R, McGough D, Scalise G, Rinaldi M, Pfaller M: DNA subtypes and fluconazole susceptibilities of *Candida albicans* strains isolated from the oral cavities of patients with AIDS. *Clin Infect Dis* 20: 634(1995).

15. Eskiürk A, Ener B, Quint W: Nötropenik hastaların tekrarlayan orofarengeal kandidoz ataklarından izole edilen *Candida albicans* suşlarının genotipik analizi. *Flora* 1: 16(1997).