



Fusarium Türlerinin Multilokus Sekans ile Tiplendirilmesi

Dr. Burcu Dalyan Cilo
Bursa Yüksek İhtisas
Eğt. Ve Arş. Hastanesi

Giriş

- Doğada yaygın
 - Toprak, bitki artıkları, organik maddeler

- Önemli bitki patojeni
 - Ekonomik kayıplar



- Hayvan ve insanlar

Fırsatçı enfeksiyonlar



- International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plants

Ocak 2013

"One fungus one name"

Her fungal türün anamorfik ya da teleomorfik bir tek isim taşıması görüşü

- *Heamonectria*
 - *Gibberella*
- } ***Fusarium***
- 200'den fazla tür
 - 20'den fazla tür kompleksi

Filogenetik açıdan yüksek ilişkili türler "tür kompleksi"

F. fujikuroi tür kompleksi

F. oxysporum tür kompleksi

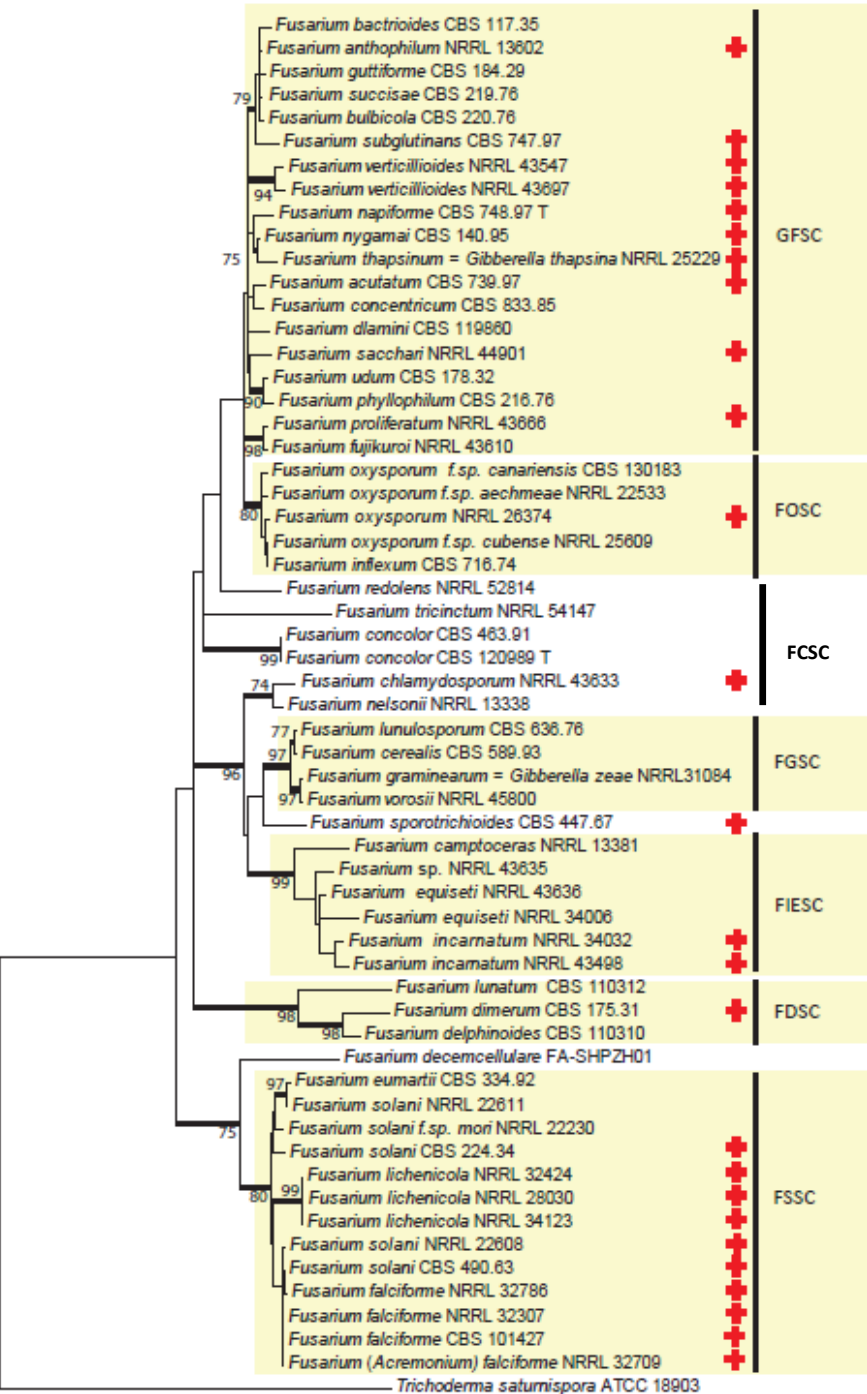
F. chlamyosporum tür kompleksi

F. sporotrichioides'in yer aldığı tür kompleksi

F. incarnatum-equiseti tür kompleksi

F. dimerum tür kompleksi

F. solani tür kompleksi



Trichoderma saturnispora ATCC 18903

0.05

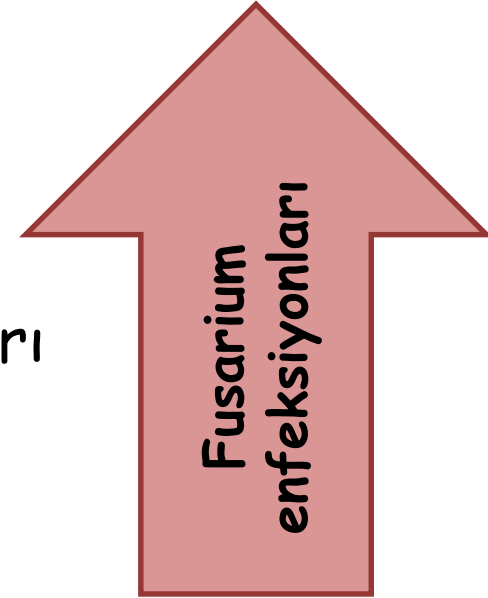
Fusarium enfeksiyonları

- Hastanın bağışıklık durumu
- Etkenin vücuda giriş yolu

Epidemiyoloji

Son yıllarda,

- İmmünsüpresif hasta sayısındaki artış
- Profilaktik ve teropatik tedavi yaklaşımları
- Surveyin uzaması



Dissemine Fusariyoz

Mortalite oranları %70-%90

Etkenin tanımlanmasındaki yetersizlikler

Birçok antifungale yüksek direnç



Tanı

- Klinik bulgular
- Radyolojik bulgular
- Histopatoloji
 - Dokuda *Fusarium* hifleri
 - Dar (3-8 mikron çapında)
 - Hyalin
 - Septalı
 - 45° dallanma

- *Aspergillus* spp.
- *Scedosporium* spp.

KÜLTÜR

Tanımlama

- Sikloheksimid içermeyen besi yerlerinde
- Hızla çoğalır
- Beyaz, eflatun, pembe, gri veya somon rengi
- Kadifemsi, yünümsü koloniler

Mikroskopi:

- Makrokonidiyum
 - hyalin, çok hücreli, muz benzeri
- Mikrokonidiyumlar
 - hyalin, tek hücreli, oval-silindirik

***Fusarium* generusu** için karakteristik

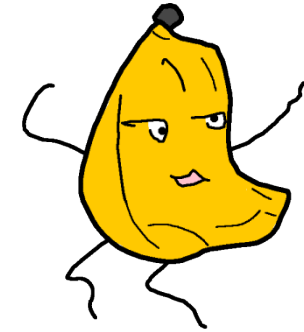
Tür Tanımlaması

- **Morfolojik Tanımlama**

- Deneyim gerektiriyor
- Standart ve özgül besiyeri
- Özgül yapıların görülmesi 6-8 hafta
- %50 hata

- Klinik suşlar

- Koloni dejenerasyonu
- "Pionnotal" fenotipe dönüşüm



- **Moleküler Tanımlama**

- DNA dizi analizi

Epidemiyoloji

- %50 *Fusarium solani* tür kompleksi
- %20 *Fusarium oxysporum*
- %10 *Fusarium fujikuroi* tür kompleksi

• Tür dağılımı coğrafi farklılıklar

• Duyarlılık paterninde türe özgü değişiklikler



Klinik örneklerden izole edilen *Fusarium* türlerinin multilokus filogenetik analizi



CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre
An institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences

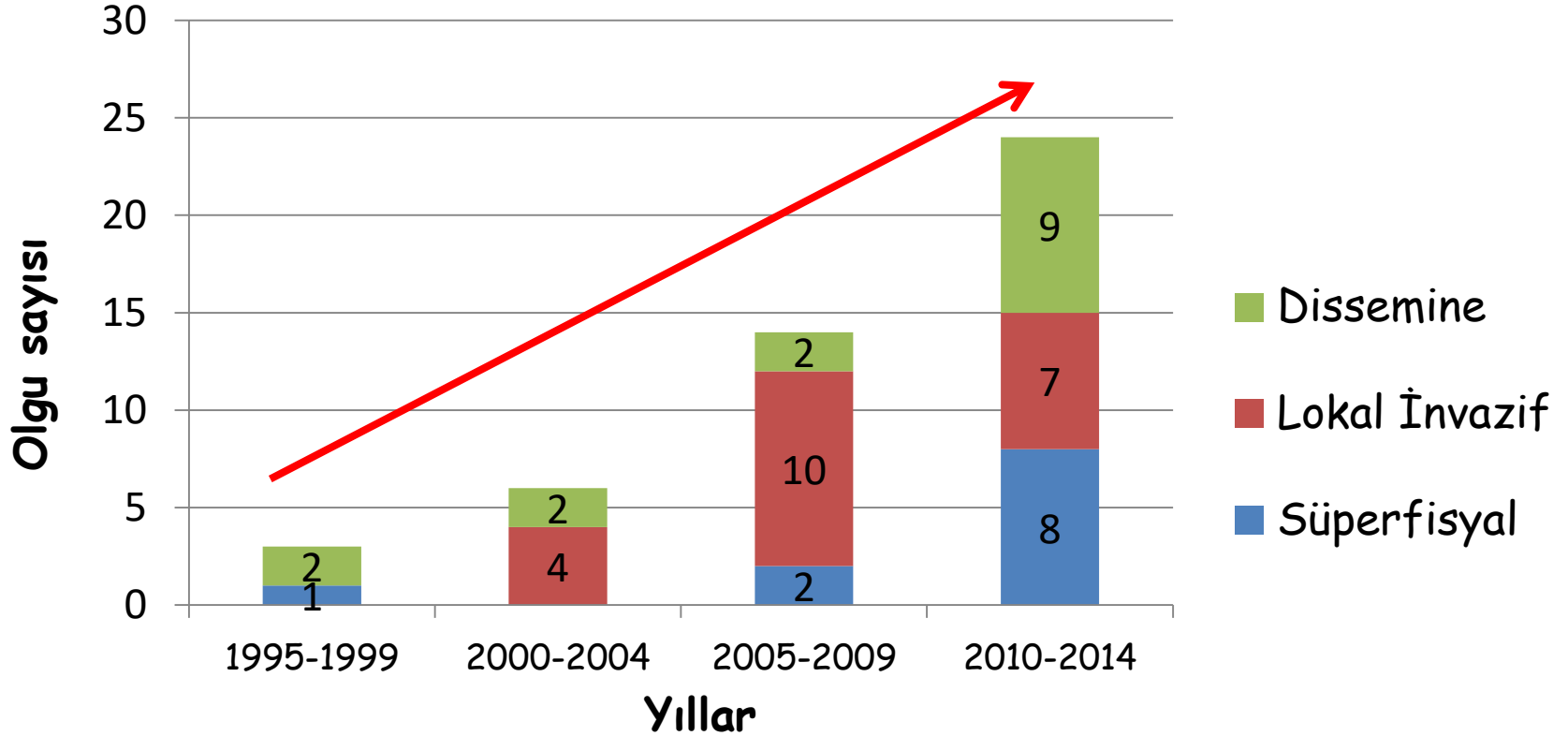
ARTICLE

Emergence of fusarioses in a university hospital in Turkey during a 20-year period

B. Dalyan Cilo¹ · A. M. S. Al-Hatmi^{2,3,4} · S. Seyedmousavi^{10,11,12} · A. J. M. M. Rijs¹⁰ · P. E. Verweij¹⁰ · B. Ener¹ · G. S. de Hoog^{2,3,5,6,7,8,9} · A. D. van Diepeningen³

- Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
- 1995-2014 yılları arasında
- *Fusarium* enfeksiyonu gelişen 47 olgu
 - %23,4 süperfisyal
 - %44,7 lokal invazif
 - %31,9 dissemine

1995-2014 yılları arasında UÜTF Hastanesi'nde *Fusarium* spp. enfeksiyonu gelişen olgular



P<0.01

Fusarium enfeksiyonu gelişen olgularda altta yatan hastalıklar

Altta yatan hastalık (hasta sayısı)	Fusarium Enfeksiyonu		
	Süperfisyal	Lokal invazif	Dissemine
Hematolojik maligniteler ^a (19)	-	7	12
Solid organ kanseri ^b (5)	-	4	1
Kronik hastalıklar ^c (12)	2	9	1
Keratit (4)	4		
Onikomikoz (4)	4		
Diğer (3)	1 ^d	1 ^e	1 ^f
Toplam(47)	11	21	15

^aAkut myeloid lösemi (11), Akut lenfoblastik lösemi (5), Multipl myelom (1) Myelodisplastik sendrom(1), T hücreli lenfoma (1)

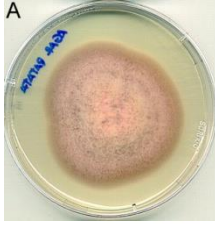
^bLarinks kanseri (1), Akciğer kanseri(1), Malign melanom (1), Adrenal korteks kanseri (1), Pankreas kanseri(1)

^cPeriferik arter hastalığı (2), Aplastik anemi(2), Wegener granülomatozu (1), Serebrovasküler hastalık (1),

Renal transplant (1), Kronik renal yetmezlik (1), Hepatik siroz (1), Parapleji (1), KOAH (1), Diyabet (1)

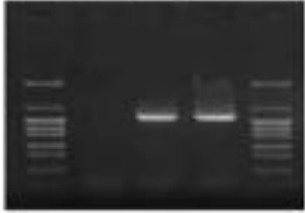
^dYanık, ^eKist hidatik, ^fDüşük doğum ağırlıklı yenidoğan

Tür Tanımlaması



DNA izolasyonu

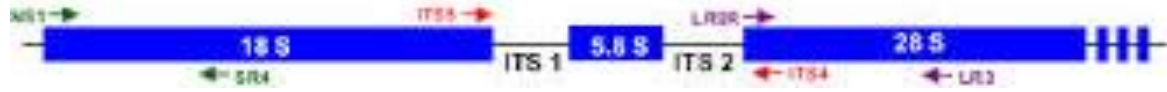
Hedef DNA'nın PCR ile amplifikasyonu



Sekans reaksiyonu
Pürifikasyon



ITS (internally transcribed spacer)
LSU (28S large ribosomal subunit)
EF-1 α (transcription elongation factor 1 alpha)
RPB-2 (subunit of the RNA polymerase)



Sonuçların analizi



Kapiller elektroforez ile
oluşturulan dizilerin
saptanması

İzole edilen *Fusarium* suşlarının tür dağılımı

<i>Fusarium species</i>	<i>Fusarium</i> Enfeksiyonu (hasta sayısı)			
	Süperfisyal	Lokal invazif	Dissemine	Toplam
<i>Fusarium petroliphilum</i> (FSSC-1)		1	4	5
<i>Fusarium solani</i> s.s. haplotype 5 (FSSC-5)	4	2		6
<i>Fusarium keratoplasticum</i> (FSSC-2)	2			2
<i>Fusarium solani</i> s.s. haplotype 6 (FSSC-6)		1		1
<i>Fusarium proliferatum</i> (FFSC)	1	8	4	13
<i>Fusarium verticillioides</i> (FFSC)			3	3
<i>Fusarium andiyazi</i> (FFSC)			1	1
<i>Fusarium oxysporum</i> (FOSC)		1		1
<i>Fusarium dimerum</i> (FDSC)		1		1
Total	7	14	12	33

Fusarium suşlarının antifungal duyarlılık oranları

Species (n)	MIC/MEC (mg/L)													
	Amphotericin B		Voriconazole		Posaconazole		Fluconazole		Itraconazole		Anidulafungin		Caspofungin	
	MIC	GM	MIC	GM	MIC	GM	MIC	GM	MIC	GM	MEC	GM	MEC	GM
	Range	MIC	Range	MIC	Range	MIC	Range	MIC	Range	MIC	Range	MEC	Range	MEC
FSSC (15)	0.25-2	0.91	2-16	6,06	0.12->16	12.12	>64	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>16
<i>Fusarium petroliphilum</i> (FSSC-1) (6)	0.25-1	0.71	8-16	8.98	>16	>16	>64	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>16
<i>Fusarium solani s.s</i> (FSSC-5) (6)	0.25-1	0.79	2-8	4.49	>16	>16	>64	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>16
<i>Fusarium keratoplasticum</i> (FSSC-2) (2)	2	2	8	8	0.12-16	1.41	>64	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>16
<i>Fusarium solani</i> haplotype 6 (1)	2	2	2	2	>16	>16	>64	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>16
FFSC (17)	0.12-8	0.88	1-8	2.77	0.12-16	2.26	16-64	58.99	8-64	56.63	>16	>16	8-16	15.36
<i>Fusarium proliferatum</i> (FFSC)(13)	0.12-1	0.59	1-8	3.60	0.12-16	4.22	>64	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>16
<i>Fusarium verticillioides</i> (FFSC)(3)	2-4	2.51	1	1	0.12-0.25	0.20	>64	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>16
<i>Fusarium andiyazi</i> (1)	8	8	2	2	1	1	16	16	8	8	^a	^a	8	8
FOSC (1) <i>Fusarium oxysporum</i>	0.5	0.5	2	2	16	16	>64	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>16
FDSC (2) <i>Fusarium dimerum</i>	0.5	0.5	4-8	5.65	>16	>16	>64	>64	>64	>64	>16	>16	>16	>16
TOTAL (35)	0.12-8	0.85	1-16	4	0.12-16	5.38	16->64	61,51	8->64	60.30	>16	>16	8->16	15,67

^a Not examined

Colour code:

≤1 mg/l	2 mg/l	4 mg/l	8 mg/l	≥16 mg/l
---------	--------	--------	--------	----------

Sonuç

- *Fusarium* enfeksiyonları artış göstermekte
- Antifungal duyarlılık paternlerinde türe özgü farklılıklar mevcut
- Tür tanımlaması önemli, ancak uygulanması zor
- Antifungal duyarlılık testleri tedaviye yardımcı
- Tedaviye yön vermek açısından daha fazla in-vitro ve in-vivo klinik çalışmalara ihtiyaç var

Teşekkür ederim..

