

Vajinit tanısında geleneksel yöntemlerle nükleik asit hibridizasyon yöntemlerinin karşılaştırılması

C.Elif Öztürk¹, Asli Somunkiran², A.Demet Kaya¹, Mustafa Behçet¹

¹ Doç Dr, Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

² Yrd Doç Dr, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

³ Prof Dr, Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

⁴ Asistan Dr, Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Düzce

Poster olarak sunulmuştur. Microbiologia Balkanica 2003, 3rd Balkan Conference of Microbiology, 4-6 September, 2003, Istanbul, Turkey

Özet

Çalışmanın amacı *Candida* suları, *Gardnerella vaginalis* ve *Trichomonas vaginalis* tanısında nükleik asit hibridizasyon tekniği ile mikroskopik inceleme ve kültür gibi geleneksel yöntemlerin karşılaştırılmasıdır. Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran ve vajinit tanısı alan 24 hasta çalışmaya dahil edildi. Pelvik muayene esnasında posterior vaginal fornixten alınan örnekler direkt mikroskopik inceleme, Gram boyama, kültür ve hibridizasyon testi için kullanıldı. Hibridizasyon testi *Gardnerella vaginalis* için % 85.7 duyarlı ve % 100 özgül bulundu. Testin *Candida* türleri ve *Trichomonas vaginalis* için duyarlılık ve özgülüğü % 100 olarak saptandı. Vajinitli olguların çoğunda jinekologlar tedaviyi hemen düzenlemek istedikleri için nükleik asit hibridizasyon yöntemleri gibi hızlı teknikler, kültür ve gram boyama gibi geleneksel yöntemlere ek olarak kullanılabilir. Bu tanı yaklaşımı tedavi başarısını da artıracaktır.

Anahtar kelimeler: nükleik asit hibridizasyon testi, *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, kültür.

Rapid diagnosis of vaginitis: Conventional Methods Versus Nucleic Acid Hybridization Techniques

Summary

The aim of the present study was to compare the results of nucleic acid hybridization technique with microscopic evaluation and culturing in determination of *Candida* spp, *Gardnerella vaginalis* and *Trichomonas vaginalis*. 24 patients with vaginitis complaints were enrolled to the study. The samples were obtained from the posterior vaginal fornix. All samples were evaluated by wet mount preparation, Gram staining, bacterial and yeast culturing and hybridization techniques. Hybridization was found to be 85.7 % sensitive and 100 % specific for *Gardnerella vaginalis*, and 100 % sensitive and specific for both *Candida species* and *Trichomonas vaginalis*. Since gynecologists prefer to begin the treatment immediately in most cases with vaginitis, rapid techniques such as nucleic acid hybridization technique can be employed as well as conventional methods for diagnosis. This approach will increase the success in treatment.

Keywords: Nucleic acid hybridization test, *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, culturing.

GİRİŞ

Vajinit kadın hastalıkları ve doğum kliniklerine en sık başvuru nedenlerinden biridir. Genellikle vaginal akıntı, vulvar kasıntı, yanma ve koku ile karakterizedir. Üreme çağındaki kadınlarda vajinitlerin %90'ından bakteriyel vajinit, kandidiazis veya trikomoniazis sorumludur (1,2). *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Candida* türleri vajinite en sık neden olan mikroorganizmalardır (3). Direkt mikroskopik

inceleme bakteriyel vajinit için duyarlı ve özgül olmakla beraber kandida enfeksiyonu tanısında duyarlılığı düşüktür (4). Kültür hem bakteriyel vajinit hem de kandidiazis için altın standart olmasına rağmen sonuç için 24-48 saat beklenmesi gerekmektedir. Trikomoniazis tanısı genellikle taze preparatta hareketli mikroorganizmanın görülmesi ile konur. En yaygın yöntem vaginal sekresyona %0.9'luk NaCl damlatılarak hazırlanan preparatın mikroskopik olarak incelenmesidir. Taze

preparatların avantajı kolay uygulanabilir olmaları ve bir iki dakika içinde sonuç alınabilmesidir. Ancak göreceli olarak düşük duyarlılık olmaları dezavantajlarıdır (5).

Dolayısıyla klinik pratikte en sık görülen üç ajan için de duyarlı ve özgül olan ve daha çabuk yanıt veren bir tanı metoduna ihtiyaç vardır.

Nükleik asit hibridizasyon teknikleri ile *Candida* suları, *G. vaginalis* ve *T. vaginalis*'in tespit edilmesi ve ayrimlanması yaklaşık bir saatlik sürede mümkün olmaktadır. Affirm VPIII (Becton Dickinson, İngiltere), nükleik asit hibridizasyon tekniğine dayalı bir mikrobiyolojik tanı testidir (6).

Çalışmamızın amacı vajinite neden olan ajanların tanısındaki duyarlılık ve özgüllük açısından nükleik asit hibridizasyon tekniği olan Affirm VPIII ile konvansiyonel tanı yöntemlerinden mikroskopik inceleme ve kültürün karşılaştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Düzce Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine vajinit düşündüren şikayetlerle başvuran hastalardan bakteriyel vajinit, trikomonas vajiniti ya da kandidiazis semptom ve bulguları olan 24 hasta çalışmaya dahil edildi. Son bir hafta içinde antibakteriyel, antifungal ya da antiparaziter ilaç alan hastalar ve son 24 saat içinde vaginal dış öyküsü olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Kuru vaginal spekulum yerleştirildikten sonra steril Dacron silgiçlerle arka fornixten dört örnek alındı.

Sürüntü örneklerinden biri mikroskopik inceleme için 0.5 ml steril serum fizyolojik içeren tüpe yerleştirildi. Mikroskopik inceleme taze preparat incelemesi, Gram ve giemsa boyaları ile yapıldı. *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis* ve clue hücreler direkt mikroskopik baki ile araştırıldı. Gram boyalı yaymaların değerlendirilmesinde Nugent kriterleri kullanıldı (7). Bu kriterlerde Grade 0; hiçbir ajan içermeyen yayma, Grade 1; normal

Lactobacillus hakimiyeti (Nugent Skoru <4), Grade 2; ara flora (Nugent Skor 4-6), Grade 3; *G. vaginalis* ve diğer anaerob bakterilerin hakimiyeti ve *Lactobacillus* eksikliği ile karakterize tipik bakteriyel vaginosis florasını (Nugent skor >6) ifade eder.

İkinci sürüntü örneği modifiye Stuart mediumuna yerleştirildi. Sonrasında *Gardnerella vaginalis* kültürü için % 5'lik kanlı agar (Oxoid) besiyerine ekim yapıldı. Besiyerleri 35°C'de ve % 5-10 CO₂ atmosferde 48 saat inkübe edildiler. Aynı sürüntü kandida türleri için Sabouraud dextrose agar besiyerine de ekildi. Besiyeri 30 °C'de 48-72 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi. *Trichomonas vaginalis* için kültür yapılmadı. Üçüncü sürüntü vaginal pH ölçümü için pH kagidına sürüldü. Son sürüntü örneği DNA probe testi için steril örnek toplama tüpüne yerleştirildi. Hibridizasyon, test prosedürüne uygun olarak yapıldı. Tüm örnekler bekletilmeden alındıktan hemen sonra laboratuara teslim edildi.

Affirm test *G. vaginalis* için 2 x 10⁵ ve altındaki mikroorganizma sayılarında pozitif sonuç vermemektedir. *Candida*, *Gardnerella* and *Trichomonas* için negatif sonuç alınan örnekte kandida için 1x10⁴; *G. vaginalis* için 2x10⁵; *Trichomonas* için 5x10³'den az nükleik asit varlığını ifade eder.

Verilerin analizi SPSS 11.0 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Her mikroorganizma için o mikroorganizmaya özgü en değerli tanı yöntemi temel alınarak nükleik asit hibridizasyon yönteminin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif belirleyicilik değeri hesaplandı.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 24 hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması 33.3 ± 7.6 idi (17- 55 yaş arası).

Tablo 1: Pozitif olgularda yöntemlerin karşılaştırılması

Ajan	Pozitif olgular		
	Mikroskopik inceleme	Kültür	Hibridizasyon
<i>Gardnerella vaginalis</i>	7	6	6
<i>Candida türleri</i>	2	5	5
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1	-	1

Gardnerella vaginalis mikroskopik inceleme, kültür ve hibridizasyon yöntemleri ile sırasıyla 7, 6 ve 6 hastada tespit edildi. Kandida türleri

direkt mikroskopik inceleme, kültür ve hibridizasyon yöntemleri ile sırasıyla 2, 5 ve 5 hastada tespit edildi. *Trichomonas vaginalis*

mikroskopik inceleme ile 1, hibridizasyon yöntemi ile de bir hastada tespit edildi. Pozitif olgularda metodların karşılaştırması Tablo 1'de verilmiştir.

Mikroskopik inceleme ile karşılaştırıldığında hibridizasyon testi *Gardnerella vaginalis* için % 85.7 duyarlı ve % 100 özgül bulundu. Affirm testin *Gardnerella vaginalis* için pozitif belirleyicilik değeri % 87.7, negatif belirleyicilik değeri ise % 95.5 olarak saptandı. Testin kandida türleri için duyarlılık ve özgüllüğü kültür ile esdeğer olup % 100 olarak saptandı.

TARTISMA

Vajinit üreme çağındaki kadınların jinekoloji kliniklerine en sık başvuru nedenlerinden biridir. Vajinite neden olan ajanların tanımlanabilmesi için gereken kültür sonuçlarının alınması 24-48 saate kadar uzayabildiği için klinik pratikte vajinit tanisi genellikle muayene bulguları ile konur, böylece isgücü ve zaman kaybı ortadan kaldırılmış olur. Ayrıca muayene ile aynı gün tedavinin düzenlenmesi hastanın tedavi uyumunu da artırır. Çünkü bir grup hasta kültür sonucunu beklerken semptomlarının gerilemesi nedeniyle sonuçlarını ilgili doktora göstermemekte ve gerekli tedaviyi almamaktadır. Ancak muayene ile eşzamanlı tedavi bazı olgularda tedavinin gereksiz yere başlanmasına ya da etkene yönelik tedavinin düzenlenememesine yol açmaktadır. Nükleik asit hibridizasyon testleri 40 dakika içinde sonuç verdiği için etkene yönelik tedavinin aynı gün başlanmasına olanak sağlamaktadır. Affirm testi *G. vaginalis* için 2×10^5 ve altındaki değerlerde pozitif sonuç vermemesi nedeniyle yalancı pozitiflik oranı düşük bir testtir.

Witt ve ark. gebelikte bakteriyel vaginosis tanısında Affirm VPIII testi ile Gram

Kaynaklar

1. Spinillo A, Bernuzzi AM, Cevini C, Gulminetti R, Stefania Luzi, Santolo AD. The relationship of bacterial vaginosis, Candida and Trichomonas infection to symptomatic vaginitis in postmenopausal women attending a vaginitis clinic. *Maturitas* 1997; 27:253-260.
2. Helvacı S, Gedikoglu S, Aydın Ö. Vajinal akıntı örneklerinde saptanan mikroorganizmalar. *Infeksi Derg* 1992; 2:203-205.
3. Baron EJ, Finegold SM. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology Genital and Sexually Transmitted Pathogens Eighth

boyamanın duyarlılığını 1725 gebe üzerinden karşılaştırmışlar ve testin Gram boyama ile esdeğer sonuçlar verdiğini buna ilave olarak hızlı tani olanığı sağladığı için bakteriyel vajinitin ekarte edilmesinde güvenle kullanılabileceğini bildirmişlerdir (6). Gazi ve ark. bakteriyel vaginosis tanısında gram boyama ile nükleik asit hibridizasyon yöntemini 321 semptomatik olguda karşılaştırmışlardır. Nükleik asit hibridizasyon testinin duyarlılığını % 87.7, özgüllüğünü ise % 96 olarak tespit etmişlerdir (8). Affirm testin *Candida* suları için kültür ve direkt mikroskopik incelemeye üstün olduğu bildirilmiştir (9). Brown ve ark. *Gardnerella* ve *Candida* tanısında direkt mikroskopik inceleme ile Affirm VPIII'ü karşılaştırmışlar ve nükleik asit hibridizasyon yönteminin pozitif ve negatif belirleyicilik değeri ve duyarlılık açısından direkt incelemeye üstün olduğu sonucuna varmışlardır (10). Affirm testi *T. vaginalis* tanısında özgüllük ve duyarlılık açısından kültür ile esdeğer olduğunu bildirilmiştir (11). Çalışmamıza dahil edilen olgu sayısı az olmasına rağmen incelenen her üç mikroorganizma için de özgüllük ve duyarlılık açısından sonuçlarımız literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur.

Sonuç olarak Affirm VPIII DNA hibridizasyon testi vajinitin en sık nedenleri olan üç ajanın tespiti açısından kolay ve hızlı bir tani yöntemi olarak umut vermektedir. Testin pratikte kullanılıp kullanılmayacağına daha geniş olgu sayıları ile değerlendirilmesi gerekmektedir.

Yazisma adresi: Doç Dr Elif Öztürk Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi Konuralp, Düzce Tel: 5414107/2122

Edition, Mosby Company, St.Louis Missouri 263-278,1990.

4. Sobel JD. Vaginitis. *N Engl J Med*. 1997; 337:1896-1903.
5. DeMeo LR, Draper DL, McGregor JA, Moore DF, Peter CR, Kapernick PS, McCormack WM. Evaluation of a deoxyribonucleic acid probe for the detection of *Trichomonas vaginalis* in vaginal secretions. *Am J Obstet Gynecol*. 1996; 174:1339-1342.
6. Witt A, Petricevic L, Kaufmann U, Gregor H, Kiss H. DNA hybridization test: rapid diagnostic tool for excluding bacterial vaginosis in pregnant women with

- symptoms suggestive of infection. J Clin Microbiol. 2002; 40:3057-3059.
7. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. J Clin Microbiol 1991; 29:297-301.
 8. Gazi H, Degerli K, Kurt O, Teker A, Uyar Y, Caglar H, Kurutepe S, Surucuoglu S. Use of DNA hybridization test for diagnosing bacterial vaginosis in women with symptoms suggestive of infection. APMIS. 2006;114:784-787.
 9. Hillier SL, Gendreau RM, Dix K, Correia GS. Rapid direct detection of Candida species. Presented at ASM Conference on Candida and Candidiasis, March 25-28, 1993, Baltimore.
 10. Brown HL, Fuller DD, Jasper LT, Davis TE, Wright JD. Clinical evaluation of affirm VPIII in the detection and identification of Trichomonas vaginalis, Gardnerella vaginalis, and Candida species in vaginitis/vaginosis. Infect Dis Obstet Gynecol. 2004;12:17-21.
 11. Briselden AM, Hillier SL. Evaluation of affirm VP Microbial Identification Test for Gardnerella vaginalis and Trichomonas vaginalis. J Clin Microbiol. 1994; 32:148-152.