

İmmün Kompetan Bir Hastada *Aspergillus protuberus*'un Neden Olduğu İlk İnatçı Vajinit Olgusu*

The First Case of Persistent Vaginitis Due to *Aspergillus protuberus* in an Immunocompetent Patient

Bariş Ata BORSAL¹, Gonca ÖZGÜN², Jos HOUBRAKEN³, Fırat ÖKMEN⁴

¹ İstanbul Kemerburgaz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

¹ Istanbul Kemerburgaz University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

² Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Baskent University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Ankara, Turkey.

³ CBS-KNAW Mantar Biyoçeşitlilik Merkezi, Utrecht, Hollanda.

³ CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Netherlands.

⁴ Mardin Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Mardin.

⁴ Mardin Gynecology and Pediatrics Hospital, Gynecology and Obstetrics Clinic, Mardin, Turkey.

* Bu olgu, 23. ECCMID Kongresi (27-30 Nisan 2013, Berlin, Almanya)'nde sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 10.09.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 04.10.2014

ÖZ

Vajinal mantar enfeksiyonlarının büyük çoğunluğu *Candida* türleri tarafından oluşturulmakta, küf mantarlarının neden olduğu vajinitlere ise oldukça nadir rastlanmaktadır. Bu raporda, immün kompetan bir hastada *Aspergillus protuberus*'un neden olduğu ilk vajinit olgusu sunulmaktadır. *A. protuberus*, yakın zamana kadar, sıklıkla immün sistemi zayıf kişilerde enfeksiyonlara neden olabilen *Aspergillus* section *Versicolores* grubunun bir üyesi olarak bilinen küf mantarıdır. Bu grup mantarların insanlarda nadiren de olsa pulmoner enfeksiyonlar, göz enfeksiyonları, otomikoz, osteomyelit ve onikomikoz gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabildiği bilinmekle beraber, *A. protuberus*'a bağlı bir enfeksiyon henüz bildirilmemiştir. Hastamız, yaklaşık bir aydır pelvik ağrı, vajinal akıntı ve kaşıntı şikayetleri ile hastanemize başvuran ve *Candida* vajiniti ön tanısı alan 42 yaşında immün kompetan bir olgudur. Mikonazol nitrat ve klotrimazol ile yapılan vajinal kandidiyaz tedavilerine rağmen hastanın şikayetlerinin devam etmesi üzerine yapılan servikal yayma incelemesinde, dallanan septalı mantar hifleri ve konidyumları görülmüştür. Bunun üzerine, alınan vajinal akıntıdan yapılan mikroskopik incelemede görülen mantar hif ve konidyumları da servikal yayma ile uyumlu bulunmuş ve etkenin *Aspergillus* spp. mantar olduğu düşünülmüştür. Vajinal akıntı örnekleri, biri oda ısısında, diğeri 37°C'de inkübe edilmek üzere iki ayrı Saboraud dekstrozu agar (SDA)

İletişim (Correspondence): Yrd. Doç. Dr. Barış Ata Borsa, İstanbul Kemerburgaz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34217 Bağcılar, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 539 671 9543, **E-posta (E-mail):** baris.borsa@kemerburgaz.edu.tr

besiyerine ekilmiş; oda ısısında inkübe edilen besiyerinde 5 gün sonunda beyaz, pudramsı ve saf görünümlü mantar kolonileri ürettiği halde diğerinde üreme olmamıştır. Üreyen küf mantarı tanımlanmak üzere CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center kurumuna gönderilmiş ve burada yapılan fenotipik analizler mantar kolonilerinin *Aspergillus* section *Versicolores* grubuna ait olduğunu göstermiştir. Tanının doğrulanması amacıyla Malt Extract agar besiyerine pasajlanan mantar kolonilerinden 7 günlük inkübasyon sonunda, DNA izolasyonu ve ITS (Internal Transcribed Spacer) dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen dizilerin NCBI ve CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center bilgi bankaları ile kıyaslanması sonucu, izolat *Aspergillus* section *Versicolores* olarak doğrulanmıştır. Kısa süre sonra mantarların sınıflandırmasında ortaya çıkan değişiklikler nedeniyle ek olarak kısmi β -tubulin ve kalmodulin dizi analizi yapılması uygun görülmüş; çalışma sonunda mantar türü *Aspergillus* section *Versicolores* grubundan son sınıflandırma ile ayrılan türlerden olan *A. protuberus* olarak tanımlanmıştır. Vajinal akıntının mikroskopik incelemesine dayanarak "*Aspergillus* spp." şeklinde yapılan ilk raporlamanın ardından hastaya bir daha ulaşılamamış; bu nedenle ayrıntılı demografik bilgiler, etkenin olası kaynağı ve bulaş yolu ve hastalığın prognozu ile ilgili veriler alınamamıştır. Sonuç olarak, bir küf mantarı olan *A. protuberus* tarafından oluşturulan, klinik, patolojik, mikrobiyolojik ve moleküler veriler ile kanıtlanmış inatçı bir vajinit olgusu tanımlanmıştır.

Anahtar sözcükler: *Aspergillus protuberus*; vajinit; tanı.

ABSTRACT

The vast majority of vaginal fungal infections are caused by *Candida* species. However, vaginitis cases caused by molds are extremely rare. *Aspergillus protuberus* is previously known as a member of *Aspergillus* section *Versicolores* which can cause opportunistic infections in immunocompromised patients, however it has recently been described as a separate species. Although the members of *Aspergillus* section *Versicolores* have been isolated rarely in cases of pulmonary infections, eye infections, otomycosis, osteomyelitis and onychomycoses, to the best of our knowledge, there is no published case of human infection caused by *A. protuberus*. In this report, the first case of persistent vaginitis due to *A. protuberus* in an immunocompetent patient was presented. A 42-year-old female patient was admitted to our hospital with the complaints of pelvic pain, vaginal itching and discharge during one month. Her symptoms had been persistent despite of the miconazole nitrate and clotrimazole therapies for probable candidal vaginitis. Fungal structures such as branched, septate hyphae together with the conidial forms were seen in microscopic examination as in the cervical smear. Thereafter, a vaginal discharge sample was taken for microbiological evaluation and similar characteristics of fungal structures were observed in the microscopic examination as of cervical smear. Then, preliminary result was reported as *Aspergillus* spp. At the same time, the sample was plated on Sabouraud dextrose agar (SDA) in duplicate and incubated at room temperature and at 37°C. After 5 days, white, powdery and pure-looking fungal colonies were observed in SDA which was incubated at room temperature, while the other medium remained sterile. The culture was submitted to the CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center for further characterization. Phenotypic identification showed that the isolated strain belonged to the *Aspergillus* section *Versicolores*. The strain was grown for 7 days on malt extract agar and then ITS regions were amplified and sequenced from isolated DNA for genomic characterization. The obtained sequences were compared with the NCBI database and internal databases of the CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre and confirmed as *Aspergillus* section *Versicolores*. As a result of recent changes in classification of fungi, analysis of partial β -tubulin and calmodulin sequences have also been used to obtain a detailed and precise characterization. Eventually, the strain has been identified as *A. protuberus* which is a recently accepted species distinct from *Aspergillus* section *Versicolores*. As the patient could not be contacted after the preliminary report, detailed demographical information, probable origin and route of transmission of the agent and prognosis of infection remained obscure. In conclusion, the first case of vaginitis caused by *A. protuberus* was described in this report with the support of clinical, pathological, microbiological and molecular data.

Keywords: *Aspergillus protuberus*; vaginitis; diagnosis.

GİRİŞ

Aspergillus türleri, doğada yaygın olarak bulunan küf mantarlarıdır. *Aspergillus* cinsi 185'in üzerinde tür içermekle beraber bunlardan 20'den fazlasının insanda fırsatçı enfeksiyonlara neden olabildiği gösterilmiştir. Bunların arasında *A. fumigatus* klinik örneklerden en sık izole edilen tür olup, bunu *A. flavus* ve *A. niger* takip etmektedir. Ayrıca *A. clavatus*, *A. glaucus* grup, *A. nidulans*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *A. ustus* ve *A. versicolor* gibi türlerin de fırsatçı enfeksiyonlara neden olabildiği gösterilmiştir¹. *A. versicolor*, atmosferde, toprakta, su kaynaklarında ve bitkilerde sıklıkla bulunabilen, doğada yaygın bir mantar türü olmakla beraber insanlarda nadiren fırsatçı enfeksiyonlara neden olur². Çeşitli kaynaklarda bu türe bağlı akciğer enfeksiyonları^{3,4}, endoftalmit^{5,6}, epikorneal asperjilloma⁷, otomikoz⁸ ve osteomyelit⁹ olguları bildirilmiş; ayrıca nadiren onikomikoz etkeni olarak da izole edilmiştir¹⁰⁻¹³. *A. protuberus* ise, önceleri *Aspergillus* section *Versicolores* grubunun bir üyesi olarak bilinmekte iken, mantarın olgumuzdan ilk izolasyonu ve tanımlanmasından kısa süre sonra ayrı bir tür olarak tanımlanmıştır¹⁴. Bu raporda, immün kompetan bir hastada *A. protuberus* tarafından oluşturulan inatçı bir vajinit olgusu sunulmaktadır.

OLGU SUNUMU

Tıbbi geçmişinde immün yetmezlik ve/veya intrauterin cihaz kullanım öyküsü bulunmayan; bir ay süresince pelvik ağrı, vajinal kaşıntı ve akıntı şikayetleriyle Mardin Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesine başvuran 42 yaşında kadın hastanın semptomları, kandida vajiniti ön tanısı ile mikonazol nitrat ve klotrimazol tedavisi almasına rağmen inatçı şekilde devam etmiştir. Patoloji laboratuvarımıza gönderilen servikal yayma örneğinde; dallanan, septalı mantar hifleri ve konidyaların görülmesi üzerine hastadan mikolojik inceleme amacıyla vajinal akıntı örneği alınmıştır. Örnek, iki ayrı Sabouraud dekstroz agar (SDA) besiyerine ekilerek bir tanesi oda ısısında, diğeri 37°C'de olacak şekilde inkübe edilmiştir. Ayrıca, örnekten yapılan Gram boyamada, servikal yayma örneğindeki uygun şekilde *Aspergillus* cinsine benzeyen mantar hifleri görülmüştür. Bunun üzerine ilk rapor mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından *Aspergillus* spp. şeklinde verilmiş ve kültür sonuçları beklenmiştir. Oda ısısında inkübe edilen SDA besiyerinde 5 gün sonunda beyaz, pudramsı ve saf görünümlü mantar kolonilerinin ürettiği, buna karşın 37°C'de inkübe edilen besiyerinde üreme olmadığı görülmüştür. Üreyen mantar kolonilerinin kontamine olmasını engellemek amacıyla petri hiç açılmadan, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center ile bağlantıya geçilmiş ve tanımlama için besiyeri bu kuruma gönderilmiştir. Burada yapılan çalışmalar, mantar kolonilerinin fenotipik olarak *Aspergillus* section *Versicolores* grubuna ait olduğunu göstermiş ve ileri tanımlama için moleküler analiz uygun görülmüştür. İzolat, Malt Extract agar (MEA) besiyerinde 7 gün süresince inkübe edilmiş ve üreyen kolonilerden Ultraclean™ Microbial DNA izolasyon kiti (MoBio, ABD) kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. DNA'nın "Internal Transcribed Spacer" (ITS) bölgeleri, V9G ve LS266 primerleri kullanılarak çoğaltılmış ve dizilenmiştir^{15,16}. Elde edilen veriler NCBI ve CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center dizi bilgi bankaları ile kıyaslanarak mantar türü *Aspergillus* section *Versicolores* olarak doğrulanmıştır. Kısa süre sonra mantarların sınıflandırmasında ortaya çıkan değişiklikler¹⁴ nedeniyle ITS dizi analizi tür tanımlanması için yetersiz bulunmuş; daha ileri tanımlama amacıyla kısmi β-tubulin ve

kalmodulin dizi analizi uygulanmıştır. Çalışma sonunda mantar türü *Aspergillus* section *Versicolores* grubundan son sınıflandırma¹⁴ ile ayrılan türlerden olan *A. protuberus* olarak tanımlanmıştır. Vajinal akıntının mikroskopik incelemesine dayanarak yapılan ilk raporların ardından hastaya bir daha ulaşılamamış, bu nedenle ayrıntılı demografik bilgiler, etkenin olası kaynağı ve bulaş yolu ve hastalığın prognozu ile ilgili veriler alınamamıştır.

TARTIŞMA

Mantarlara bağlı vajinitler, immün sistemi normal bireylerde genellikle *Candida* türleri tarafından oluşturulmaktadır. Vajinal enfeksiyonlarda etken olarak küf mantarlarına ise son derece nadir rastlanmaktadır. *Mucor indicus*¹⁷ ve *Paecilomyces lilacinus*¹⁸ literatürde immün kompetan kişilerde vajinal enfeksiyonlara neden oldukları bildirilen küf mantarlarıdır. Olgumuz, bir küf mantarı olan *A. protuberus* tarafından oluşturulan; klinik, patolojik, mikrobiyolojik ve moleküler veriler ile kanıtlanmış inatçı bir vajinit olgusudur. İzole edilen mantar türü, sınıflandırmadaki yeri henüz değişmiş ve insan enfeksiyonlarında son derece nadir rastlandığı tahmin edilen bir türdür. İnsanlar ile *A. protuberus* türleri arasındaki ilişkilere dair yapılmış çalışmalar oldukça sınırlıdır. Mathan ve arkadaşları¹⁹ yaptıkları çalışmada, bazı *A. protuberus* alt tiplerinin antimikrobiyal ve anti-kanser etkilerinin olduğunu iddia etmişlerdir. Bildiğimiz kadarıyla olgumuz, *A. protuberus* tarafından insanda oluşturulmuş ilk enfeksiyon olma özelliğini taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Patton DD. *Aspergillus*, Health Implication & Recommendations for Public Health Food Safety. Internet Journal of Food Safety 2006; 8: 19-23.
2. Liang Y, Zhao W, Xu J, Miller DJ. Characterization of two related exoantigens from the biodeteriogenic fungus *Aspergillus versicolor*. Int Biodeterior Biodegrad 2011; 65(1): 217-26.
3. Hodgson MJ, Morey P, Leung WY, et al. Building-associated pulmonary disease from exposure to *Stachybotrys chartarum* and *Aspergillus versicolor*. J Occup Environ Med 1998; 40(3): 241-9.
4. Charles MP, Noyal MJ, Easow JM, Ravishankar M. Invasive pulmonary aspergillosis caused by *Aspergillus versicolor* in a patient on mechanical ventilation. Australas Med J 2011; 4(11): 632-4.
5. Perri P, Campa C, Incorvaia C, et al. Endogenous *Aspergillus versicolor* endophthalmitis in an immunocompetent HIV-positive patient. Mycopathologia 2005; 160(3): 259-61.
6. Bifrare YD, Wolfensberger TJ. Protracted *Aspergillus versicolor* endophthalmitis caused by corneal microperforation. Klin Monbl Augenheilkd 2007; 224(4): 314-6.
7. Weichel ED, Bower KS, Ward TP, Hidayat A. Epicorneal aspergilloma after penetrating keratoplasty. Cornea 2002; 21(8): 825-7.
8. Rotoli M, Sascaro G, Cavalieri S. *Aspergillus versicolor* infection of the external auditory canal successfully treated with terbinafine. Dermatology 2001; 202(2): 143.
9. Liu Z, Hou T, Shen Q, Liao W, Xu H. Osteomyelitis of sacral spine caused by *Aspergillus versicolor* with neurologic deficits. Chin Med J (Engl) 1995; 108(6): 472-5.
10. López-Jodra O, Torres-Rodríguez JM. Unusual fungal species causing onychomycosis. Rev Iberoam Micol 1999; 16(S): S11-5.
11. Torres-Rodríguez JM, Madrenys-Brunet N, Siddat M, López-Jodra O, Jimenez T. *Aspergillus versicolor* as cause of onychomycosis: report of 12 cases and susceptibility testing to antifungal drugs. J Eur Acad Dermatol Venereol 1998; 11(1): 25-31.

12. Moreno G, Arenas R. Other fungi causing onychomycosis. Clin Dermatol 2010; 28(2): 160-3.
13. Veraldi S, Chiaratti A, Harak H. Onychomycosis caused by *Aspergillus versicolor*. Mycoses 2010; 53(4): 363-5.
14. Jurjevic Z, Peterson SW, Horn BW. *Aspergillus* section Versicolores: nine new species and multilocus DNA sequence based phylogeny. IMA Fungus 2012; 3(1): 59-79.
15. Houbraken J, Frisvad JC, Samson RA. Taxonomy of *Penicillium* section Citrina. Stud Mycol 2011; 70(1): 53-138.
16. Houbraken J, Spierenburg H, Frisvad JC. *Rasamsonia*, a new genus comprising thermotolerant and thermophilic *Talaromyces* and *Geosmithia* species. Antonie van Leeuwenhoek 2012; 101(2): 403-21.
17. Sobel JD. Vaginal mucormycosis: a case report. Infect Dis Obstet Gynecol 2001; 9(2): 117-8.
18. Carey J, D'Amico R, Sutton DA, Rinaldi MG. *Paecilomyces lilacinus* vaginitis in an immuno-competent patient. Emerg Infect Dis 2003; 9(9): 1155-8.
19. Mathan S, Smith AA, Kumaran J, Prakash S. Anticancer and antimicrobial activity of *Aspergillus protuberus* SP1 isolated from marine sediments of South Indian Coast. CJNM 2011; 9(4): 286-92.