

# Elli Olguluk Bir Seride Onikomikoz Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması

İkbal E. Aydıngöz\*, A. Deniz Akkaya\*, Fügen Aker\*\*, Rıza Adaleti\*\*\*

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi,  
\*Dermatoloji Kliniği, \*\*Patoloji ve \*\*\*Mikrobiyoloji Bölümü

## Özet

Onikodistrofi olgularının yaklaşık yarısı onikomikoz nedeniyle oluşmaktadır. Uzun ve zahmetli olan sistemik antifungal tedaviye başlamadan önce tanı, laboratuvar yöntemlerinin yardımı ile doğrulanmalıdır. Bu çalışmaya dermatoloji polikliniğine başvuran, klinik olarak onikomikoz tanısı almış, 50 erişkin hasta alınarak onikomikoz tanısında kullanılan başlıca 3 yöntemin karşılaştırılması planlandı. Tırnak örneklerinde direk mikroskopi, fungal kültür ve PAS boyası ile mantar elemanları aranarak tanı yöntemlerinin duyarlılığı araştırıldı. İncelenen 50 tırnak örneğinin, 48'inde (%96) direk mikroskopik inceleme ile, 45'inde (%90) PAS boyasıyla yapılan histopatolojik incelemede ve 20'sinde (%40) kültür ile mantar elemanları saptanarak, tanı doğrulandı.

Onikomikoz tanısında kültür altın standart olarak kabul edilse de duyarlılığı en düşük yöntem olarak saptandı. Tırnakların histopatolojik incelemesi ise % 90 duyarlılık oranıyla iyi bir alternatif olarak değerlendirildi. Ancak onikomikoz tanısının doğrulanmasında, dermatologların kısa sürede sonuç alabilecekleri kolay ve ucuz bir yöntem olan direk mikroskopik incelemenin, hem duyarlılığı en yüksek hem de en pratik yöntem olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Onikomikoz, tinea, tanı, tanı yöntemleri

*Aydingöz İE, Akkaya AD, Aker F, Adaleti R. Elli olguluk bir seride onikomikoz tanısında kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması. Türkderm 2006;40(1):20-22*

## Summary

**Background and design:** Only half of the cases of onychodystrophies are due to onychomycosis. Before starting the systemic antifungal treatment, which is a rather lengthy and arduous process, the diagnosis should be confirmed via the assistance of laboratory methods.

**Material and Method:** In this study fifty adult patients, attending to the dermatology outpatient clinic who had had a clinical diagnosis of onychomycosis, were evaluated. It was planned to compare the sensitivities of 3 principal methods, which have been used for the diagnosis of onychomycosis. In the nail specimens, direct microscopic examination, fungal culture and PAS staining were done for detection of fungal elements.

**Results:** In the samples of 50 patients examined, direct microscopy was positive in 48 (96%) and histopathological examination was positive in 45 (90%). Twenty (40%) of the nail specimens were positive in fungal culture.

**Conclusion:** Although fungal culture is mentioned to be the gold standard for diagnosing onychomycosis, it showed the least sensitivity. The histopathologic examination of nails was determined as a good alternative with a sensitivity of 90%. However direct microscopic examination; a quick and cost efficient method, proved not only to be the most sensitive method, but also the most practical, for the diagnosis of onychomycosis.

**Key Words:** Onychomycosis, tinea, diagnosis, diagnostic techniques

*Aydingöz İE, Akkaya AD, Aker F, Adaleti R. Comparison of methods for the diagnosis of onychomycosis in a series of 50 cases. Türkderm 2006;40(1):20-22*

**Yazışma Adresi:** Doç.Dr. İkbal Esen Aydıngöz, Başkan Sokak Soyak Gökyüzü Konutları B Blok No: 39, 34756 Üsküdar-Istanbul  
Tel: 0532 3589500 Fax: 0216 5665502 E-posta: aydingözi@yahoo.com **Alındığı tarih:** 08.04.2005 **Kabul tarihi:** 23.09.2005



Tırnak distrofilerine 65 yaş üzerinde % 94.2 oranında rastlanmaktadır. Onikomikoz prevalansı ise genel toplumda % 2-13 iken, 70 yaş üzerinde bu oran %48'e kadar ulaşmaktadır<sup>1</sup>. Ayırıcı tanıda travma, periferik damar hastalıkları vb nedenlerle oluşan distrofik tırnaklar ile psöriasis, liken planus, ekzema gibi hastalıkların tırnak tutulumları bulunmaktadır<sup>2</sup>. Sistemik antifungal ajanlar ile tedavi maliyetinin yüksek olması, tedavi süresinin uzunluğu ve ciddi potansiyel yan etkileri nedeniyle, klinik tanının, tedaviye başlamadan önce laboratuvar yöntemleri ile doğrulanması gereklidir.

Onikomikoz tanısında kültür, halen altın standart olarak kabul edilmesine rağmen yalancı negatif sonuçlar vermektedir. Direk mikroskopik inceleme ise fungus tipinin belirlenememesi nedeni ile eleştirilmektedir. Histopatolojik inceleme, ülkemizde rutin olarak kullanılmasına rağmen, 1993 yılından beri bu yöntemin uygulanabilirliği çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir<sup>3-6</sup>.

Bu çalışmada, klinik olarak distal-lateral ve/veya total onikomikoz tanısı almış 50 olguda, direk mikroskopik inceleme, fungal kültür ve histopatolojik inceleme yöntemlerinin duyarlılığı karşılaştırılmalı olarak araştırıldı.

## Gereç ve Yöntem

Dermatoloji polikliniğine başvuran, yaşları 27 ve 77 arasında değişen (ortalama 54.4), 29 erkek, 21 kadın toplam 50 hasta çalışma kapsamına alındı. Hastalarda son 2 ay içerisinde topikal veya sistemik antifungal tedavi kullanılmaması şartı arandı. Klinik olarak onikomikoz tanısı, subungual hiperkeratoz ile onikoliz ve diskolorasyon bulgularının birarada bulunması ile koyuldu. Hastalar diyabet, AIDS, psöriasis gibi eşlik eden hastalık ve travma öyküsü açısından sorgulandı. Tutulmuş olan tırnak sayısı ve ait oldukları ekstremitelere kaydedildi. Hastaların etkilenmiş olan tırnağı ve tırnak çevresi, olası bakteriyel ve fungal kontaminasyonun engellenmesi amacıyla alkol ile temizlendi. Örnekler, tırnağın serbest distal ucunun, steril pedikür makası ile kesilmesi ve subungual hiperkeratozun debridmanı ile temin edildi. Direk mikroskopi, fungal kültür ve histopatolojik inceleme için 3 eşit parçaya bölünerek, steril kuru tüplere yerleştirildi. Direk mikroskopik inceleme için örnekler, %20 KOH solüsyonunda eriyene kadar (2-24 saat) bekletildikten sonra, bir enjektör yardımı ile tüpten alındı ve lam-lamel arasına konularak fungal elemanların varlığı araştırıldı. Hif saptanan örnekler pozitif olarak kabul edildi.

Mantar kültürü için örnekler, Sabouraud dekstroz agar (SDA) ve aktidiyonlu (sikloheksimid+kloramfenikol) Sabouraud dekstroz agar (ASDA) besi yerlerine ekildi. SDA ve ASDA besiyerleri 25° ve 37° C'de inkübe edildi. Yapılan ekimler 3-4 günde bir kontrol edildi ve üreme olmayan kültürlerin inkübasyon işlemi bir aya kadar uzatıldı. Üreyen kültürler ise tanımlama işlemine tabi tutuldu. Üreyen dermatofitler klasik tanımlama metodu ile tanımlandı. Mayalardan 'Germ tüp testi' pozitif olanlar *Candida albicans*, negatif olanlar ise *Candida spp.* olarak belirlendi. Kültürde dermatofit dışı mantarlar ürediğinden ikinci defa kültür yapma imkanı bulunamadığından, bu üreme immun yeterliliği olanlarda patojen olarak, immun sistemi normal hastalarda ise kontaminasyon olarak değerlendirildi.

Histopatolojik inceleme için alınan örnekler, %10'luk formaldehit ile fiksasyon sonrasında rutin doku takip işlemine alındı ve parafin bloklar hazırlandı. Doku yüzeyi açığa çıkana kadar parafin yüzey traşlandı. Açığa çıkan doku yüzeyi yaklaşık 16-18 saat (bir gece boyunca) sodyum tiyoglukolat ile muamele edildi. Ardından 5 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. PAS (peridok asit-Schiff) ile boyama uygulandı. Direk mikroskopik ince-

lemede mantar hiflerinin keratin tabakası üzerinde görülmesi sonucunda tanı konuldu.

## Bulgular

Klinik olarak bir hastada lateral subungual onikomikoz, bir hastada beyaz süperfisyel onikomikoz, 18 hastada distal subungual onikomikoz, 30 hastada ise total subungual onikomikoz saptandı. Klinik olarak onikomikoz tanısı almış tırnakların tümünde en az bir yöntemle fungal mikroorganizmalar pozitif olarak bulundu. Tüm hastalarda proksimal tırnak katlantısı doğaldı. Elli tırnak örneğinin 48 tanesinde (%96) direk mikroskopik inceleme ile mantar elemanları saptanırken, 45'inde (%90) de PAS ile boyanarak yapılan histopatolojik inceleme pozitif bulundu. 50 tırnak örneğinden yapılan kültürlerin 20 tanesinde (%40) başta trikofiton cinsi dermatofitler olmak üzere üreme oldu. Geriye kalan 24 örnekte üreme olmazken, 6'sı da kontaminasyon olarak değerlendirildi.

Örneklerden 2 tanesinde direk mikroskopik inceleme negatif sonuç verdi; birincisinde kültürde *T. rubrum* ürediğinden ve histopatolojik inceleme pozitif bulunduğundan, incelenen materyalin yetersiz olduğu düşünüldü. İkinci KOH (-) örnekte, kültürde üreme olmazken histopatolojik inceleme pozitif. Histopatolojik inceleme ise 5 örnekte negatifti; bunların tümünde direk bakı pozitif bulundu; 2 tanesinde kültürde de üreme olmazken, 2 örnekte *Trichophyton rubrum*, 1 örnekte *Aspergillus niger* üredi. Kültüre ekilen örneklerinin 24'ünde üreme olmadı. Üreme saptanmayan örneklerin sadece bir tanesinde direk bakı, 2 tanesinde histopatolojik inceleme de negatif bulundu. En sık üretilen patojen fungus trikofiton cinsi dermatofitlerdi (%28). 12 örnekte *Trichophyton rubrum*, 1 örnekte *Trichophyton verrucosum* ve 1 örnekte *Trichophyton violaceum* üredi. 9 örnekte (%18) *Aspergillus türleri* üredi. Bunlardan 6 tanesi kontaminasyon olarak kabul edildi. Patojen kabul edilenlerden 1 tanesi *Aspergillus niger*, 1 tanesi *Aspergillus fumigatus*, 1 tanesi *Aspergillus sp.* olarak isimlendirildi. 1 örnekte *Candida albicans*, 1 örnekte *Candida sp.* 1 örnekte *Alternaria sp.* üredi.

## Tartışma

Tırnağın mantar hastalıkları, 40-60 yaş grubundaki bireylerin % 15-20'sinde görülmekle beraber<sup>7</sup>, tüm tırnak hastalıklarının yaklaşık % 50'sini oluşturmaktadır<sup>8</sup>. Bu boyutlarıyla bile tırnağın mantar enfeksiyonları dermatolojinin uğraş alanları arasında önemli bir yer kaplamaktadır. Ayrıca tüm dünyada yaşam süresinin uzaması, immunosupresif hastalıklar ve immunosupresif ilaçların çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın şekilde kullanılmaya başlanması nedenleriyle bu sorun daha da artacağı düşünülmektedir. Tedavinin düzenlenmesi ve takibi sırasında fungal etyoloji, ilaç yan etkileri, diğer ilaçlarla etkileşim ve toplam harcama miktarı göz önünde bulundurulduğunda, tedaviye başlamadan önce en az bir laboratuvar yöntemi ile tanının doğrulanması gerekli görülmektedir.

Günümüzde, onikomikozlarda direk mantar incelemesi, mantar kültürü ve histopatolojik inceleme kabul gören tanı yöntemleridir ve bu yöntemlerin etkinliğini karşılaştıran çeşitli araştırmalar da vardır<sup>3,9</sup>. Bu çalışmada klinik olarak onikomikoz tanısı konulmuş 50 olgunun % 96'sında direk mantar incelemesi ile, % 90'ında histopatolojik inceleme ile, % 40'ında ise kültür ile bu tanı doğrulanmıştır.

Onikomikoz tanısında mantar kültürü halen altın standart olarak kabul ediliyor<sup>10</sup> olmasına rağmen diğer yöntemlerle mantar tanısı konan olguların ancak %43-50'sinde kültürde üreme elde edilebilmektedir<sup>11,12</sup>. Sensitivitesi düşük ancak spesifitesi en yük-

sek klasik yöntem olarak kabul edilmektedir. Hatta Arca ve ark tarafından yeni yapılan bir çalışmada, onikomikoz tanısında kültür pozitifliği % 23 olarak saptanmıştır<sup>13</sup>. Transport sırasında mantarların canlılığı ve kültürde üretilebilir olma özelliği kaybolabilmektedir. Kültürün en önemli üstünlüğü fungal etkenin dermatofit, nondermatofit küf veya maya olarak sınıflandırılabilmesine olanak sağlamasıdır ki bu da tedavinin seçimini değiştirebilir. Fakat üreyen etkenin kontaminasyon ya da gerçek patojen olup olmadığı hakkında bilgi vermez. Ayrıca kültür sonucu için yaklaşık 3-4 hafta kadar bir bekleme süresine ihtiyaç vardır; hatta bu süre nondermatofit mantar etkenleri için daha da uzun tutulmaktadır. Olgularımızda saptanan kesin kültür pozitifliğinin % 40 olması temelde beklenen bir sonuçtur ve bu yöntemin güvenilir bir tarama testi olarak kullanılamayacağı göstermektedir. Bilindiği gibi onikomikozda dermatofit, dermatofit olmayan küfler ve mayalar neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar dermatofitlerin, onikomikozda etken olma oranının dermatofit dışı küfler ve mayalara (%1.5-17) nazaran çok daha yüksek olduğunu göstermektedir<sup>14</sup>. Ancak, daha önce saprofit olarak bilinen mikroorganizmalar giderek artan oranlarda etken olabilmektedir. Çalışmamızda 19 örnekte (% 12) dermatofit olmayan mantar üremiştir. Dermatofit dışındaki etkenlerin geçekten patojen olup olmadığını karar verebilmek ise başlı başına bir sorun oluşturmaktadır. Tanı, değişik zamanlarda alınmış olan kültür örneklerinde aynı etkenin ısrarla üretilmesiyle veya aynı materyalden yapılan çok sayıda ekimlerin çoğunluğunda aynı etkenin izole edilmesi ile konulabilir<sup>15</sup>. Oysa bu çalışmada hastalardan alınan materyal çok sayıda ekim yapmaya imkân vermemiştir. Bu nedenle dermatofit dışı küflerin değerlendirilmesinde, hastalarda eşlik eden immün sistemi bozan hastalık varsa etkenin patojen olduğuna karar verilmiştir.

Son yıllarda PAS ile boyanmış tırnak örneklerinin histopatolojik incelemesi onikomikozlarda en yüksek duyarlılığa sahip tanı yöntemi olarak sunulmaktadır<sup>2,3,10,12</sup>. Bu çalışmalarda % 41.6-85 gibi farklı değerler elde edilse de karşılaştırılan diğer yöntemlere göre üstünlük sağlamıştır. Ayrıca sonuçların saklanarak yeniden değerlendirilmesine de olanak vermektedir. Bazı araştırmacılar dikkatli bir histopatolojik inceleme ile hif ve sporların morfolojisinden yola çıkarak patojen ajanın dermatofit, maya veya küf grubundan hangisine ait olduğunun belirlenebileceğini ileri sürmektedir<sup>3</sup>. Türkiye'de histopatolojik inceleme rutin olarak kullanılmadığından, çalışma çerçevesinde bu tekniğin tanılabilirliği de araştırılmıştır. Çalışma için tipik klinik özellikler gösteren olguların seçilmiş olması sensitiviteyi artırmış olabilir ancak güvenilir bir karşılaştırma yapabilmek için tipik olguların seçilmesi başlangıçta bir zorunluluk olarak değerlendirilmiştir. Bu yöntemle hastalarımızın % 90'ında fungal elemanlar saptanabilmiştir. Bu sonuç şimdiye kadar bildirilen en yüksek orandır. Daha önce PAS boya yöntemini araştıran çalışmalardan biri hariç diğerlerinde tırnak örnekleri, distal kenardan kesme yerine invaziv bir girişim olan tırnak biyopsisi ile alınmıştır. Çalışmamızda kullanılan yöntem, materyal alınımının kolaylığı, duyarlılığının yüksek olması ve çabuk sonuç alınması nedenleriyle klasik yöntemlere çok iyi bir alternatiftir.

Çalışma grubumuzdaki hastaların % 96'sında direk mantar incelemesi pozitif sonuç vermiştir. Direk mikroskopinin duyarlılığı konusunda % 59-96 arasında değişen farklı araştırma sonuçları vardır<sup>3,11</sup>. Bu farklılık yetersiz materyal alınması, kristallenmiş KOH kullanılması, mikroskopta tüm alanların taranmaması, klinik olarak şüpheleniliyor olsa da testlerin tekrarlanmaması ile ilgili olabilir<sup>11</sup>. Ayrıca incelemenin etkene ait bilgi vermemesi de bir dezavantaj olarak ele alınmaktadır. Direk mantar incelemesi için yapılan eleştirilerden bir diğeri de tırnak plağındaki kera-

tin matriksin eritilmesiyle hifaların penetran özelliğinin görülemez hale gelmesidir. Araştırmacılar, patojenik mikroorganizmaların yüzeydeki kontaminasyondan bu özelliğiyle ayrılabilceğini savunmaktadırlar<sup>12</sup>. Bulaş nedeniyle tırnak yüzeyinde bulunabilecek mikroorganizmalar tırnakta distrofiye neden olmaz. Biz hastalarımızdan örnek almadan önce tırnağı alkollü pamukla silerek olabildiğince mekanik bir temizleme yapmayı amaçladık. Bizim çalışma grubumuzda direk mikroskopik inceleme ve histopatoloji yöntemlerinin duyarlılığı sırasıyla % 96 ve % 90 olmak üzere birbirine yakın sonuçlar vermiştir. Bu oranlar oldukça yüksek olmasına rağmen bizim araştırmamızda direk mantar incelemesi üstün bulunmuştur. Ayrıca % 10 KOH ile direk incelemenin duyarlılığını daha da arttırmak üzere Calcofluor beyazı kullanılabilir. Ancak değerlendirme için floresan mikroskop gereklidir.

Sonuç olarak onikomikoz, hiflerin tırnak plağına yerleşerek çoğalmasıyla karakterize, bulaşıcı bir enfeksiyon hastalığıdır. Klinik bulgular özellikle başlangıç safhasında ayırt ettirici değildir; enfeksiyöz veya non-enfeksiyöz bazı hastalıklarla karıştırılabilmesi nedeniyle tedaviden önce kesin tanı konulması zorunlu görülmektedir. Bu çalışmada onikomikoz tanısında kullanılan başlıca araçlar olan; direk mantar incelemesi, histopatolojik inceleme ve kültür yöntemlerinin duyarlılığı araştırılmıştır. Direk mantar incelemesi % 96 duyarlılık oranıyla, dermatologlar tarafından poliklinik şartlarında yapılabilecek, basit, hızlı, ucuz ve güvenilir bir yöntem olarak öne çıkmıştır. PAS ile histopatolojik inceleme de iyi bir alternatif olarak değerlendirilmiştir.

## Kaynaklar

1. Helfand AE: Foot problems in older patients: a focused podiatric assessment study in ambulatory care. *J Am Podiatr Med Assoc* 2004;94: 293-304.
2. Lawry MA, Haneke E, Strobeck K, Martin S, Zimmer B, Romano PS: Methods for diagnosing onychomycosis. *Arch Dermatol* 2000;136:1112-1116
3. Gianni C et al: Usefulness of histological examination for the diagnosis of onychomycosis. *Dermatology* 2001;202:283-288.
4. Grover C, Reddy BSN, Chaturvedi KU: Onychomycosis and the diagnostic significance of nail biopsy. *J Dermatol* 2003;30:116-122.
5. Zabawski EJ, Styles AR, Cockerell CJ: Routine Periodic acid-Schiff staining of nail plate fragments in fungal cultures for onychomycosis: a method to increase the sensitivity of diagnosis. *Cutis* 2000;66:456-458.
6. Liu HN, Lee DD, Wong CK: KONCPA: a new method for diagnosing tinea unguinum. *Dermatology* 1993;187:166-168.
7. Scherer WP, McCreary JP, Hayes WW: The diagnosis of onychomycosis in geriatric population. *J Am Podiatr Med Assoc* 2001;91(9):456-464.
8. Elewski BE: Diagnostic techniques for confirming onychomycosis. *J Am Acad Dermatol* 1996;35:56-59.
9. Machler BC, Kirsner RS, Elgart GW: Routine histologic examination for the diagnosis of onychomycosis: an evaluation of sensitivity and specificity. *Cutis* 1998;61:217-219.
10. Reisberger EM, Abels C, Landthaler M, Szeimies RM: Histopathological diagnosis of onychomycosis by periodic-acid-Schiff-stained nail clippings. *Br J Dermatol* 2003;148:749-754.
11. Daniel CR III: The diagnosis of nail fungus infection revisited. *Arch Dermatol* 2000;136:1162-1164.
12. Borkowski P, Williams M, Holewinski J, Bakotic B: Onychomycosis: An analysis of 50 cases and a comparison of diagnostic techniques. *J Am Podiatr Med Assoc* 2001;91::351-355.
13. Arca E, Saraçlı MA, Akar A, Yıldırım ST, Kurumlu Z, Gur AR: Polymerase chain reaction in the diagnosis of onychomycosis. *Eur J Dermatol* 2004;14:52-55.
14. Tosti A, Piraccini BM, Lorenzi S: Onychomycosis caused by nondermatophytic molds: Clinical features and response to treatment of 59 cases. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:217-224.
15. Gupta AK, Ryder JE, Summerbell RC: The diagnosis of nondermatophyte mold onychomycosis. *Int J Dermatol* 2003;42:272-273.

