

# Gebelerde *Candida* Vajinitinin Epidemiyolojisi

## Epidemiology of *Candida* Vaginitis in Pregnant Women

Ahmed Chaabaawi<sup>\*@</sup>, Mete Sucu<sup>\*\*@</sup>, Ayşe Sultan Karakoyun<sup>\*@</sup>, Nevzat Ünal<sup>\*\*\*@</sup>, Ertan Kara<sup>\*\*\*\*@</sup>, Macit İlkit<sup>\*\*@</sup>

\* Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Bilim Dalı, Adana, Türkiye

\*\* Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

\*\*\* Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Adana Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Adana, Türkiye

\*\*\*\* Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

**Atf/Cite as:** Chaabaawi A, Sucu M, Sultan Karakoyun A, Ünal N, Kara E, İlkit M. Gebelerde *Candida* vajinitinin epidemiyolojisi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2022;52(2):109-118.

### Öz

**Amaç:** Her dört kadından üçünün yaşamları boyunca en az bir kez maruz kaldığı *Candida* vajiniti (CV)'nin en önemli risk faktörlerinden birisi de gebeliktir. Sunulan çalışmada, rutin gebelik takibi yapılan kadınlarda CV'nin prevalansı, trimesterlere göre dağılımı, etken mantar türlerinin belirlenmesi ve identifikasyon yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlandı.

**Yöntem:** Nisan 2021–Haziran 2021 tarihleri arasında hastanemize başvuran rastgele seçilmiş 250 gebeden posterior forniks sürüntü örneği alındı. Klinik örnekler, doğrudan mikroskop incelemesi, Gram boyaması, mantar kültürleri (CHROMagar *Candida* [CAC] ve Sabouraud glikoz agar) ile değerlendirildi. İzole edilen maya mantarları germ-tüp testi, mısır unlu-tween 80 agarda yapısal özelliklerinin değerlendirilmesi, CAC'da üreme özellikleri ve MALDI-TOF MS yöntemi ile identifiye edildi.

**Bulgular:** Mantar vajinitlerinin prevalansı %43.2 idi. Mantar vajinitli 108 olgunun 22'si (%20.4) rekürren vajinit atakları tarif etti ve olguların %82.4'ü ikinci ve üçüncü trimesterde idi ( $p>.05$ ). En sık izole edilen mantar türü *Candida albicans* (%49.6) olup, diğer türler *C. glabrata* (%35.3), *C. krusei* (%7.5), *C. kefyr* (%3.4), *C. tropicalis* (%1.7), *Saccharomyces cerevisiae* (%1.7) ve *C. dubliniensis* (%0.8) idi. Polifungal popülasyon 10 olguda (%9.3) görüldü ve en sık *C. albicans* + *C. glabrata* (%60) birlikteliği bulundu.

**Sonuç:** Geçtiğimiz 10 yıl içerisinde, hastanemizde vajinit etkeni olarak belirlenen *C. albicans* oranı azalma eğiliminde iken, *C. glabrata* ve *C. krusei*deki artış endişe vericidir.

**Anahtar kelimeler:** Kromojenik agar, tanı, vulvovajina kandidozu

### ABSTRACT

**Objective:** *Candida* vaginitis (CV), which involves three in four women at least once in their lifetimes, poses a significant risk to pregnancy. This study aimed to determine the prevalence of CV in women undergoing follow-up routine pregnancy examinations, its distribution by trimester, and the most common causative species and to compare identification methods.

**Methods:** Posterior fornix swab samples were taken from 250 randomly selected pregnant women presenting to our hospital between April and June 2021. The samples were evaluated by direct microscopic examinations, Gram staining, and fungal cultures (CHROMagar *Candida* [CAC] and Sabouraud glucose agar). Yeast isolates were identified by germ-tube tests, micromorphology on corn meal-Tween 80 agar, colony appearance on CAC, and the MALDI-TOF MS.

**Results:** The prevalence of fungal vaginitis was 43.2%. Of the 108 diagnosed patients with fungal vaginitis, 20.4% experienced recurrent vaginitis, and 82.4% were in the second or third trimester ( $p>.05$ ). The most common fungal species were *Candida albicans* (49.6%), followed by *C. glabrata* (35.3%), *C. krusei* (7.5%), *C. kefyr* (3.4%), *C. tropicalis* (1.7%), *Saccharomyces cerevisiae* (1.7%), and *C. dubliniensis* (0.8%). Polifungal populations were present in 10 cases (9.3%), in which *C. albicans* + *C. glabrata* (60%) was the most common coexistence.

**Conclusion:** While the rate of *C. albicans* identified as the causative agent of vaginitis in our hospital has declined in the last decade, the increase in *C. glabrata* and *C. krusei* is alarming.

**Keywords:** Chromogenic agar, diagnosis, vulvovaginal candidosis

### Alındığı tarih / Received:

05.01.2022 / 05.January.2022

### Kabul tarihi / Accepted:

03.03.2022 / 05.March.2022

### Erken çevrimiçi / First Published:

10.06.2022 / 10.June.2022

### ORCID Kayıtları

A. Chaabaawi: 0000-0003-3530-2247

M. Sucu: 0000-0002-6889-7147

A. S. Karakoyun: 0000-0002-2717-6343

N. Ünal: 0000-0001-5121-3100

E. Kara: 0000-0003-2486-8683

M. İlkit: 0000-0002-1174-4182

✉ macitilkit@gmail.com

## GİRİŞ

*Candida* cinsi maya mantarları, insanlarda deri, gastrointestinal sistem ve vajinanın normal florasında bulunur. Ancak, fırsatçı veya nozokomiyal hastalıklara neden olurlar<sup>(1)</sup>. Vajinada *Candida* sayısının artmasına karşılık, mukoza hasarı veya immünsüpresyon olmadığında hastalık belirtisi olmaz. Bu durum, asemptomatik *Candida* kolonizasyonu olarak tanımlanır. *Candida* vajiniti (CV) veya vulvovajina kandidozu ise vajinada *Candida* türlerine bağlı inflamasyon sonucu farklı semptom ve bulguların olmasıdır<sup>(2)</sup>.

*Candida* vajiniti, tüm dünyada her yıl milyonlarca kadını yalnızca fiziksel olarak değil psikolojik ve sosyal olarak da olumsuz etkileyen önemli bir sorundur<sup>(3)</sup>. Kadınların %70–75'i yaşamları boyunca en az bir kez, %40'ından fazlası ise iki veya daha fazla CV atağı geçirmektedir<sup>(2-5)</sup>. En az bir atağın mantar kültürü ile kanıtlanmış olduğu ve yılda dört ve üzeri CV atağı geçirilmesi, rekürren CV (RCV) olarak tanımlanır<sup>(2)</sup>. RCV, bir yılda 130 milyondan fazla kadını etkilemektedir. Bu sayının 2030 yılından itibaren 158 milyonu aşacağı öngörülmüştür. RCV'nin tüm dünyada yıllık prevalansı 100.000 kadında 3.871 olup, Türkiye'de ise bu sayı 100.000 kadında 3.342 olarak hesaplanmıştır<sup>(3,6)</sup>.

Gebelikte yükselen östrojen seviyesi, vajinada flora üyesi *Candida* türlerinin maya şeklinden hife dönüşümünü ve vajina epitelinde glikojen yapımını uyarır. Sonuçta, kolonize *Candida* türlerinin kolayca kullanabileceği karbon kaynağını oluşturur. Bu nedenle gebelerde CV insidansı artmaktadır<sup>(5,7,8)</sup>. CV'nin tipik semptomları arasında kaşıntı, yanma, kızarıklık, şişme ve akıntı bulunur. Benzer semptomlar gebe kadınlarda da izlenir. Gebelik sırasında CV'nin, erken membran rüptürü ve kötü gebelik sonucu gibi gebelik komplikasyon riskini artırdığına ilişkin kanıtlar vardır. CV ender olarak korioamniyonite neden olur, ancak gerçekleşmesi durumunda neonatal enfeksiyon, yüksek oranda mortalite ve nörolojik bozukluğa yol açabilir<sup>(7,9)</sup>. Üstelik gebelikte CV'nin tedavisinde bazı sınırlamalar söz konusu olup, genellikle imidazol türevi ilaçların vajinal uygulamaları tercih edilmektedir.

En sık görülen CV etkenleri *Candida albicans* başta olmak üzere *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* ve *Candida krusei*'dir. CV'lerinde etken olarak genellikle tek bir tür mantar izole edilmekle birlikte, %1–10'unda birden fazla mantar türü (polifungal populasyon) etkindir<sup>(8,10,11)</sup>. Son yıllarda CV etkenleri arasında *albicans*-dışı *Candida* türlerinin sıklığı artmaktadır. Bu artışın başlıca nedenlerinin CV tanısının çoğu zaman yanlış ve eksik konulması veya yaygın reçetesiz ilaç kullanımının olduğu düşünülmektedir<sup>(2)</sup>.

CV'nin tanısında klinik semptom ve bulgulara ek olarak risk faktörleri sorgulanmalı, vajinanın pH ölçümü, doğrudan mikroskop değerlendirmesi ve mantar kültürü rutin olarak uygulanmalıdır<sup>(2,5,8)</sup>. Doğrudan mikroskop değerlendirmesinde artan sayıda tomurcuklanan maya hücrelerine ek olarak yalancı hif ve/veya gerçek hif yapısının görülmesi CV'nin ön tanısını destekler. Ancak, tedaviye dirençli türlerin ve *albicans*-dışı *Candida* türlerinin belirlenmesi için ön tanının kültürle doğrulanması önerilir. *Candida*'ların izolasyonunda ve laboratuvar tanısında en sık kullanılan besiyeri Sabouraud glikoz agar (SGA)'dır. Bu besiyerinde izole edilen maya kolonilerinin tür düzeyinde identifikasyonu 2–6 gün kadar sürebilir. Alternatif olarak tek plakta izolasyon ve tür düzeyinde hızlı (48 saat) identifikasyona olanak veren kromojenik besiyerleri kullanılabilir<sup>(12)</sup>. Ayrıca, SGA tek başına kullanıldığında farklı türlerin varlığı (polifungal populasyon) saptanamayabilir. Bu nedenle CV'nin laboratuvar tanısı için en az bir kromojenik besiyeri kullanılması önerilmektedir<sup>(8,10)</sup>.

Bu çalışmada, rutin gebelik takibi yapılan gebelerde CV'nin; (i) prevalans, (ii) klinik şekil (akut ve rekürren), (iii) etken türler ve (iv) trimesterlere göre dağılımının belirlenmesi planlandı. CV'nin mikolojik tanısı için SGA ile CHROMagar *Candida*™ v9.0 (CAC) besiyerleri tercih edildi. Ayrıca, CAC besiyerinin tanımlama sonuçları MALDI-TOF MS yöntemi ile karşılaştırıldı. Çalışma sonuçları, ayrıca, hastanemize ait 10 yıl önceki gebe CV verileri ile kıyaslandı ve sunuldu<sup>(13)</sup>.

## GEREÇ ve YÖNTEM

**Çalışma popülasyonu ve klinik örneklerin alınması:** Nisan 2021–Haziran 2021 tarihleri arasında Çukurova

Üniversitesi Balcalı Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne gebelik takibi amacı ile başvuran rastgele seçilmiş 250 gebe çalışmaya dâhil edildi. Çalışmaya katılmayı kabul eden gebelerden aydınlatılmış onam belgesi alındı. Gebelerin vajina posterior forniks bölgesinden steril eküvyon ile alınan sürüntü örnekleri 1–2 ml sıvı Sabouraud besiyeri içerisinde aynı gün Tıbbi Mikoloji Laboratuvarı'na ulaştırıldı. Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (14.02.2020 tarih ve 44 kayıt numarası) onaylandı.

#### **Klinik örneklerin laboratuvar değerlendirmesi:**

Doğrudan mikroskop değerlendirmesi: Laboratuvara gelen klinik örnekler lam-lamel arası preparat ve Gram boyamasının ardından mantar elemanları (tomurcuklanan maya hücreleri, gerçek ve/veya yalancı hif oluşumu) yönünden değerlendirildi.

Mantar kültürleri: Vajinit tanısında mantar kültürü "altın standart" kabul edildi<sup>(8)</sup>. Klinik örneklerin SGA ve CAC besiyerlerine seyreltme/tek koloni ekim yöntemi ile eş zamanlı olarak ekimleri yapıldı. Her iki besiyeri 37°C'de iki gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Yirmi dört ve 48 saat sonunda besiyerlerinde üreme varlığı/yokluğu, koloni sayısı, koloni morfolojileri ve pigmentasyonu, polifungal üreme değerlendirildi ve kaydedildi<sup>(10,11)</sup>. Klinik ve mikolojik bulgulara göre akut ve rekürren CV ayırımı yapıldı<sup>(10)</sup>.

#### ***Candida*'ların tür düzeyinde identifikasyonu:**

CHROMagar *Candida*: Üretici firmanın önerileri doğrultusunda kolonilerin renk ve şekli değerlendirildi. Buna göre, yeşil (*C. albicans*), metalik mavi (*C. tropicalis*), kuru pembe (*C. krusei*), lila/kahverengi (*C. glabrata/C. kefyr*) ve beyaz (diğer *Candida* türleri) olarak kabul edildi ve tür ön tanıları kaydedildi.

Germ-tüp (Çimlenme borusu) testi: Test edilecek koloniden öze ucu ile bir miktar alındı, steril ependorfıta 0.5 ml taze insan serumu içinde süspanse

edildi. Hazırlanan karışım 37°C'de 2 saat inkübasyona bırakıldı. İki saat sonunda süspansiyondan lam-lamel arasına alınan bir damla ışık mikroskopunda incelendi. Germ-tüp oluşturan maya kolonileri *C. albicans* olarak tanımlandı. 37°C'de 24 saat sonunda germ-tüp oluşturmayan maya mantarları ise *C. glabrata* olarak tanımlandı<sup>(14)</sup>.

Mısır unlu-Tween 80 (Corn-meal) agarda yapısal özelliklerin değerlendirilmesi: Aktif üreyen bir maya kolonisi Dalmau yöntemi esas alınarak mısır unlu agar besiyeri plağının ortasına, plağı kesmeden veya hafifçe çizerek, birbirine paralel dört çizgi şeklinde ekildi, ekim çizgileri üzerine lamel kapatıldı. 27°C'de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Yetmiş iki saat sonunda ışık mikroskopunda 40× büyütmele objektif ile blastospor, gerçek ve/veya yalancı hif ve klamidospore varlığı ve yokluğu ile şekil ve dizimleri değerlendirildi<sup>(14)</sup>.

Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS): CAC besiyerinde farklı renk oluşturan her bir koloninin tanımlanması amacıyla MALDI-TOF MS (Bruker Biotyper; Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) kullanıldı. Koloniden 1 µl alınıp MALDI kaset kuyusuna konuldu ve oda ısısında kuruması beklendi. Sonrasında üzerine 1 µl %70'lik formik asit ve biyomarkerların belirlenmesi için matriks solüsyonu eklendi ve yine oda ısısında kuruması beklendi. Kuruyan kaset kuyularındaki örnekler cihaza yerleştirilip analiz işlemine başlandı. MALDI-TOF MS skorları üreticinin talimatlarına göre; 2.3–3 arası log-skore değeri yüksek doğrulukta tür düzeyinde tanı, 2–2.29 arası skor güvenli cins ve olası tür düzeyinde tanı, 1.7–1.99 arası olası cins düzeyinde tanı ve 0–1.69 arası skor ise güvenilir olmayan tanı şeklinde değerlendirildi<sup>(15)</sup>.

Referans izolatlar: Maya kolonilerinin CAC besiyerinde renk ve şekilleri yanında germ-tüp testi ve yapısal özelliklerinin incelenmesinde; *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida krusei* ATCC 6258 ve *Candida parapsilosis* ATCC 90018 kontrol izolat olarak kullanıldı.

İstatiksel analiz: Verilerin girilmesi ve analizi için "Statistical Package for the Social Sciences IBM SPSS Statistics 22.0" istatistik programı kullanıldı. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde, sayısal değişkenler ise ortalama ve standart sapma olarak verildi. Çapraz tablolar için, Pearson ki-kare testi kullanılarak istatistiksel anlamlılık belirlendi. Normal dağılıma uymamalarından dolayı tek değişkenli analizlerde Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis testi kullanıldı. Analizler %95 güven aralığında çalışıldı. Tüm analizlerde,  $p < .05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Tüm katılımcıların yaş ortalaması  $29 \pm 5.8$  iken, mantar vajiniti tanımlanan 108 gebenin yaş ortalaması  $29 \pm 5.7$  (min: 17, maks: 48) idi. Mantar vajinitlerinin en fazla görüldüğü yaş grubu 26–30 yaş aralığı ve olguların %59.4'ü 30 yaş ve altında idi (Tablo 1). Yaş grupları ile akut ve rekürren vajinit olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ( $p=0.52$ ). Mantar vajiniti saptanan gebelerin toplam %82.4'ü gebeliğin üçüncü (%42.6) ve ikinci (%39.8) trimesterlerinde idi ( $p>0.05$ ; Tablo 2). CV'li 108 olgunun 22'si (%20.4) rekürren vajinit atakları tarifledi. Rekürren mantar vajinitlerinin en sık görüldüğü yaş aralığı ise 21–25 idi. Mantar vajinitlerinin gebelik trimesterlerine ve klinik şekillere göre dağılımları Şekil 1'de verilmiştir.

**Tablo 1. Gebelerin yaş grupları ve vajinit klinik şekillerine göre dağılımı; n (%)**

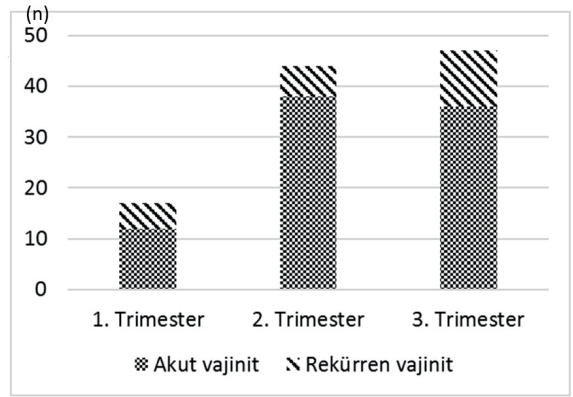
Yaş grupları	Tüm katılımcılar	Akut vajinit	Rekürren vajinit
15–20	17 (6.8)	5 (83.3)	1 (16.7)
21–25	59 (23.6)	19 (76.0)	6 (24.0)
26–30	71 (28.4)	28 (82.4)	6 (17.6)
31–35	69 (27.6)	24 (85.7)	4 (14.3)
36–40	29 (11.6)	7 (58.3)	5 (41.7)
41–45	4 (1.6)	2 (100)	-
$\geq 46$	1 (0.4)	1 (100)	-
Toplam	250 (100.0)**	86 (79.6)*	22 (20.4)*

Yaş grupları ile akut ve rekürren vajinit olmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ( $p=0.52$ ). \*Satır yüzdesi; \*\*Kolon yüzdesi.

**Tablo 2. Gebelerin ve mantar vajiniti tanılı olguların gebelik trimesterlerine göre dağılımı; n (%)**

Trimester	I.	II.	III.	Toplam
Mantar vajiniti – var	17 (15.7)	44 (40.7)	47 (43.6)	108 (100.0)
Mantar vajiniti – yok	32 (22.5)	46 (32.4)	64 (45.1)	142 (100.0)
Toplam	49 (19.6)	90 (36.0)	111 (44.4)	250 (100.0)

$p>0.05$



**Şekil 1. Gebelik trimesterlerine göre akut ve rekürren vajinitli 108 olgunun dağılımı**

Mikolojik bulgular: Vajina sürüntü örneklerinden 108 (%43.2)'inde mantar üremesi oldu. Her iki besiyeri arasında izolasyon farkı yoktu. Bu 108 klinik örnekten 117'si *Candida* türleri ve 2'si *Saccharomyces cerevisiae* olmak üzere 119 maya mantarı izolasyonu yapıldı (Tablo 3). En çok izole edilen mantar türü *C. albicans* (59 izolat; %49.6) idi. Diğer türler, sırası ile *C. glabrata* (%35.3), *C. krusei* (%7.5), *C. kefyr* (%3.4), *C. tropicalis* (%1.7), *S. cerevisiae* (%1.7) ve *C. dubliniensis* (%0.8) idi.

Doğrudan mikroskop değerlendirmesi: 250 gebenin vajina sürüntü örneklerinin doğrudan mikroskop değerlendirmesi ve Gram boyaması sonucu 35 (%14) örnekte artmış sayıda maya hücreleri (blastospor), yalancı hif veya gerçek hif görüldü.

CHROMA<sub>g</sub>ar *Candida* (CAC)'da üreme özellikleri: Maya kolonilerinin renk ve şekil yönünden 24 saat sonu değerlendirmelerine kıyasla 48 saat sonunda yapılan değerlendirmelerinde renklenme daha belirgin olmakla birlikte, aralarında fark yoktu. Mantar kültürlerinin 98'inde (%90.7) monofungal

popülasyon, 10'unda ise (%9.3) polifungal popülasyon görüldü. Tablo 3'te izole edilen mantar türleri, monofungal ve polifungal popülasyon ve vajinitlerin klinik türlerinin (akut veya rekürren) dağılımları verilmiştir. *Candida kefyr* izolatlarından 2 izolat beyaz, 1 izolat pembe ve 1 izolat ise lila renkte idi. *Candida dubliniensis* izolatı yeşil ve 2 *S. cerevisiae* izolatı ise lila koloni oluşturdu. İzole edilen diğer türlerde renk oluşumu firmanın önerileriyle uyumlu idi. CAC besiyerinin etken türlere göre duyarlılık ve özgüllük değerleri Tablo 4'te verilmiştir.

Polifungal izolasyon: İki veya daha fazla mantar üremesi olan 10 hasta örneğinden toplam 21 *Candida*

**Tablo 3. CHROMagar *Candida* besiyerinde izole edilen maya mantarlarının vajinit kliniğine göre dağılımı**

Maya türleri (n)	Vajinit kliniği	
	Akut vajinit	Rekürren vajinit
<b>Monofungal izolasyon</b>		
<i>C. albicans</i> (49)	38	11
<i>C. glabrata</i> (35)	28	7
<i>C. krusei</i> (7)	6	1
<i>C. kefyr</i> (3)	2	1
<i>C. tropicalis</i> (1)	1	-
<i>C. dubliniensis</i> (1)	1	-
<i>S. cerevisiae</i> (2)	2	-
<b>Polifungal izolasyon</b>		
<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> (6)	4	2
<i>C. albicans</i> + <i>C. krusei</i> (2)	2	-
<i>C. albicans</i> + <i>C. kefyr</i> (1)	1	-
<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> + <i>C. tropicalis</i> (1)	1	-
<b>Toplam</b> (108)	86	22

**Tablo 4. CHROMagar *Candida* besiyerinin çeşitli maya türlerinde duyarlılık, özgüllük, PPV, NPV ve doğruluk değerleri (%)**

	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<b>Duyarlılık</b>	100.0	100.0	100.0	100.0
<b>Özgüllük</b>	98.3	96.1	99.1	100.0
<b>PPV</b>	98.3	93.3	90	100.0
<b>NPV</b>	100.0	100.0	100.0	100.0
<b>Doğruluk</b>	99.1	97.5	99.2	100.0

izolatı elde edildi. Polifungal popülasyonların hepsine *C. albicans* eşlik ediyordu.

iii. Germ-tüp testi: İkinci saatte değerlendirilen germ-tüp testi; 59 *C. albicans* izolatının 52'sinde ve 1 *C. dubliniensis* izolatında pozitif bulundu. *Candida glabrata* suşlarının hiçbirinde 24 saat sonunda germ-tüp oluşumu görülmedi. Germ-tüp testinin *C. albicans* için duyarlılık ve özgüllüğü, sırası ile %88.1 ve %98.3 idi.

MALDI-TOF MS sonuçları: Bu çalışmada, CAC ve MALDI-TOF MS tür tanımlamaları karşılaştırıldı (Tablo 5). MALDI-TOF MS identifikasyonda altın standart yöntem olarak kabul edildi. İzole edilen 119 maya izolatından yedisi (4'ü *C. kefyr*, 2'si *S. cerevisiae* ve 1'i *C. dubliniensis*) CAC besiyerinde doğru tanımlanamadı. CAC besiyerinde *C. albicans* olarak tanımlanan bir maya izolatı MALDI-TOF MS yöntemi ile *C. albicans* var. *africana* olarak tanımlandı. Ayrıca, Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi'ne gebelik takibi amacı ile başvuran kadınlarda mantar vajinitlerinin prevalansı ve etkenleri 10 yıl önceki veriler<sup>(13)</sup> ile karşılaştırıldı (Tablo 6).

## TARTIŞMA

*Candida* vajiniti, tanı ve tedavi yöntemlerinin teorik olarak iyi bilinmesine karşılık, günlük uygulamalarda ihmal edilen ve gelişigüzel tedavi edilen bir hastalıktır.

**Tablo 5. CHROMagar *Candida* ve MALDI-TOF MS tür tanımlamalarının karşılaştırılması**

	CHROMagar <i>Candida</i> Pozitif (n)	MALDI-TOF MS Pozitif (n)
<i>Candida albicans</i>	60	59
<i>Candida krusei</i>	10	9
<i>Candida tropicalis</i>	2	2
<i>Candida glabrata</i>	45	42
<i>Candida kefyr</i>	-	4
<i>Candida dubliniensis</i>	-	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	2
Diğer mantar türleri (beyaz koloni)	2	-
<b>Toplam</b>	119	119



**Tablo 6. Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesine gebelik takibi amacı ile başvuran kadınlarda mantar vajinitlerinin prevalansının ve etkenlerinin 2011 ve 2021 yılları karşılaştırılması; n (%)**

	2011 <sup>(13)</sup> # (n=372)	2021 <sup>(Sunulan çalışma)</sup> (n=250)
Prevalans	139 (37.4)	108 (43.2)
<i>Candida albicans</i>	119 (65.7)	59 (49.6)
<i>Candida glabrata</i>	40 (22.1)	42 (35.3)
<i>Candida krusei</i>	6 (3.3)	9 (7.6)
Toplam izolat sayısı	181	119

#: Güzel ve ark.<sup>(13)</sup>

Özellikle gebelikte anne ve yenidoğan sağlığını etkileyebilen önemli bir halk sağlığı sorunudur<sup>(2,7,8)</sup>. Bu çalışmada, hastanemize gebelik takibi amacı ile başvuran gebelerde CV'nin güncel epidemiyolojisinin belirlenmesi amaçlandı ve sonuçlar hastanemize ait 10 yıl önceki verilerle karşılaştırıldı<sup>(13)</sup>.

Çalışmamızda, CV olgularının en fazla görüldüğü yaş grubu 26–30 yaş aralığı olup, birçok literatür verisiyle uyumludur<sup>(3,16-18)</sup>. CV'nin üreme çağındaki kadınlarda diğer yaş gruplarına kıyasla daha sık görülmesinin nedenlerinden birisi de östrojen maruziyetidir. Literatürde, östrojen-CV ilişkisini sorgulayan araştırmalarda östrojen artışının (hormon tedavisi, gebelik vb.) CV'nin prevalansını artırdığı, östrojen azlığı ve over atrofisinin (menopoz vb.) ise prevalansı azalttığı bildirilmiştir<sup>(2,8)</sup>. Leli ve ark.<sup>(19)</sup> İtalya'da, 344 hastada CV'nin prevalansını gebelerde (%31.4) gebe olmayanlara göre (%19.9) daha yüksek bulmuşlardır. Hindistan'da<sup>(20)</sup> ise bu oranlar, sırası ile %45 ve %28.9, Nijerya'da<sup>(21)</sup> %43 ve %29, yine Nijerya'da<sup>(22)</sup> %54 ve %18.6, Brezilya'da<sup>(23)</sup> ise %92.3 ve %72.9 olarak bildirilmiştir.

Waikhom ve ark.<sup>(17)</sup> çalışmalarında, trimesterlere göre CV'nin dağılımını üçüncü trimesterde belirgin şekilde baskın (%88.3) bildirmiş, ancak semptomlar ile gebelik trimesteri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını vurgulamışlardır. Çalışmamızda, CV tanısı alan gebelerin %82.4'ü ikinci ve üçüncü trimesterde idi. CV olgularının yalnızca %20.4'ünün RCV olarak tanımlandığı çalışmamıza karşılık, Güzel ve ark.'nın<sup>(13)</sup> CV epidemiyolojisini değerlendirdikleri çalışmalarında, 372 gebenin 193'ünde (%51.9)

RCV (semptomlu+semptomsuz) tanımlanmıştır. Çalışmamızda, RCV oranının düşük bulunmasının nedeninin hastaların vajina enfeksiyonlarını tarif etme konusunda çekince göstermeleri olabileceği düşünüldü. Fardiazar ve ark.<sup>(18)</sup> CV'li 150 gebenin takibini yaptıkları ve gebelik trimesterlerinde rekürrens oranlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında, çoğunluğu ikinci ve üçüncü trimesterlerde olmak üzere, RCV'lerinde trimesterler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bildirmişlerdir ( $p < 0.001$ ). Hormon düzeylerinde (östrojen ve progesteron) artışın CV'ne yatkınlık oluşturması, gebelerde, özellikle ikinci ve üçüncü trimesterde, prevalansın ve rekürrenslerin yüksek olmasını açıklar<sup>(5,7)</sup>.

CV prevalansı farklı bölgelerde iklim, etnik kökene, kadınların beslenme ve hijyen alışkanlıklarına göre farklılık gösterir<sup>(3,8)</sup>. Yakın zamanda yayınlanan bazı literatür verilerine göre, gebelerde CV prevalansı %17–65 olarak bildirilmiştir<sup>(13,17,24-27)</sup>. Çalışmamız sonucu ortaya koyduğumuz prevalans %43.2 (108/250) olup, Güzel ve ark.<sup>(13)</sup> tarafından 2011'de %37.4 (139/372) olarak bildirilen bölgemiz verilerine kıyasla artış görüldü.

Vajina sürüntü örneklerinin doğrudan mikroskopik ve Gram boyalı değerlendirmesinin, CV tanısı için duyarlılığı %19–80 arasında bildirilmiştir<sup>(2,8,28)</sup>. Çalışmamızda, mantar kültürü ile tanımlanan CV'li olgulardan yalnızca %32.4'ünde vajina sürüntüsünün mikroskopik incelemesinde mantar hücresi görüldü. Düşük mikroorganizma yoğunluğu veya taşıma besiyerinden yayma preparat hazırlanmasının yalancı-negatifliğe neden olabileceği düşünüldü<sup>(4)</sup>. Bu durumun önüne geçmek için klinik örneklerin hasta başında doğrudan lam üzerine yayması yapılabilir veya 1–2 saat içerisinde ekim yapılacak ise taşıma besiyeri miktarı 0.5 ml'ye düşürülebilir.

Mantar vajinitlerinde etken türlerin doğru ve hızlı tanımlanmasına gereksinim vardır. Kromojenik besiyerlerinin performansı ve mantar vajinitlerinde tutarlılığı daha önce birçok çalışmada değerlendirilmiştir. Çalışmamızda, CAC besiyerinin, *C. albicans*, *C. glabrata* ve *C. krusei* için duyarlılığı %100 iken, özgüllük değerleri, sırası ile %98.3, %96.1 ve %99.1 idi. Buna karşılık, Özcan ve ark.<sup>(11)</sup> vajina

kaynaklı 104 *C. albicans* için 72 saat inkübasyon sonrası CAC besiyerinin duyarlılık ve özgülüğünü, sırası ile %87.5 ve %100 bildirmişlerdir. Bu farklılık, inkübasyon sürelerinin farklı olması nedeniyle olabilir. *Candida krusei* için CAC'nın doğruluk değeri sınırlı izolat sayısına karşılık yüksek idi (%99.2). *Candida krusei* kolonilerinin pembe renginin yanında bulanık, düzensiz sınırlı olması identifikasyonda yardımcıdır<sup>(12)</sup>. *Candida glabrata* ve diğer mayaların CAC besiyerinde benzer renkte (lila) koloni oluşturabildiği görüldüğünden *C. glabrata* tanısında CAC besiyerinin doğruluğu konusunda ortak bir görüş yoktur<sup>(11,12)</sup>. Buna karşılık çalışmamızda, *C. glabrata* için CAC'nın özgülüğünün yüksek olması (%96.1) ve yalancı negatiflik olmaması bu türün identifikasyonu için önemlidir.

*Candida albicans*, mantar vajinitlerinde en baskın etken (%85–95) iken, *albicans*-dışı *Candida* ve diğer mayaların etken olduğu vajinitlerin prevalansı artmaktadır<sup>(29)</sup>. Bu çalışmada izole edilen *C. albicans* (%49.6) oranı Çukurova bölgesinden bildirilen önceki çalışmalar [%50.4<sup>(10)</sup>, %57.1<sup>(11)</sup> ve %65.7<sup>(13)</sup>] ile Çin ve Tanzanya verilerine kıyasla [%79.8<sup>(24)</sup> ve %63.4<sup>(25)</sup>] önemli ölçüde düşük bulundu. Çalışmamızda, *albicans*-dışı *Candida* türleri arasında en sık izole edilen etken *C. glabrata* (%35.3) idi. *Candida glabrata*, CV tedavisinde öncelikli tercih edilen ilaçlara dirençli olup, rekürren vajinitlere neden olmasına rağmen, çoğu zaman göz ardı edilmektedir<sup>(8,29)</sup>. *Candida glabrata* vajinitlerinin prevalansı 2007'de Çetin ve ark.<sup>(30)</sup> tarafından %29.6 ve 2011'de ise Güzel ve ark.<sup>(13)</sup> tarafından %22.1 olarak bildirilmiştir. *Candida krusei* vajinitlerinin prevalansı önceleri %1 olarak tahmin edilmesine karşılık,<sup>(29,31)</sup> çalışmamızda bu oran %7.5 idi. Güzel ve ark.<sup>(31)</sup> farklı olguların vajina sürüntülerinden elde edilen 560 *Candida* izolatından 28'inin *C. krusei* (%5) olduğunu bildirmişlerdir. *Candida krusei* flukonazole doğal dirençli olduğundan tedavi başarısızlıklarına ve alternatif tedavi arayışlarına neden olur<sup>(29)</sup>. *Albicans*-dışı *Candida* vajinitlerinin, özellikle *C. glabrata* ve *C. krusei*'nin, prevalansı literatür verilerinde %10–20 olarak gösterilirken, hastanemiz örneğinde görüldüğü gibi son 10 yılda bu oranların hızla artışı hastalar ve hekimler açısından endişe vericidir. Bu durum, antifungal ilaçların yaygın ve rastgele kullanımı ile tetiklenmektedir<sup>(2,29)</sup>.

Ülkemizde Hazırolan ve ark.<sup>(32)</sup> CV'li olgularda *C. dubliniensis* ve *C. africana*'nın prevalansını değerlendirdikleri çalışmada, daha önce *C. albicans* olarak tanımlanmış 376 vajina kaynaklı *Candida* izolatının *HWP1* gen polimorfizmini incelemişlerdir. İzolatların üçü *C. africana* (%0.8) ve üçü *C. dubliniensis* (%0.8) olarak tanımlanmış ve Türkiye'de vajina örneklerinden ayrılan ilk *C. africana* izolatlarını bildirmişlerdir<sup>(32)</sup>. Bu varyant ve türlerin klinik ve mikolojik öneminin anlaşılması için daha fazla sayıda ve çok merkezli çalışmalara gereksinim vardır.

Bir klinik örnekte polifungal popülasyonun belirlenmesinde kromojenik besiyerlerinin kullanılması ideal kabul edilir<sup>(10,11)</sup>. Çalışmamızda, polifungal popülasyonun oranı %9.3 idi ve *C. albicans* popülasyonlara daima eşlik ediyordu. Bölgemizde vajina sürüntü örneklerinde bu oran daha önce %14.1<sup>(10)</sup>, %13<sup>(11)</sup> ve %12.7<sup>(13)</sup> olarak bildirilmiştir. Bu çalışmalarda bildirilen en yaygın polifungal popülasyon dağılımı ise, *C. albicans* + *C. glabrata*<sup>(10,11)</sup> veya *C. albicans* + *C. tropicalis*<sup>(13)</sup> idi. *Candida albicans* vajina örneklerinde en yaygın *Candida* türü olduğundan tüm popülasyonlara eşlik etmesi beklenen bir durumdur<sup>(8)</sup>. Kromojenik besiyeri kullanılmadığında *albicans*-dışı *Candida* türleri, özellikle *C. glabrata* gözden kaçabilir ve tedavide sorun yaşanabilir bu nedenle en az bir kromojenik besiyeri kullanımının CV'lerinin hızlı ve doğru tanısını kolaylaştırdığı ortadadır<sup>(10)</sup>.

Germ-tüp testi, *C. albicans*'ın identifikasyonu için ucuz ve hızlı bir yöntemdir, ancak yalancı-pozitif ve yalancı-negatif sonuçlar verebilir<sup>(12)</sup>. Çalışmamızda, germ-tüp testinde yalancı-pozitiflik bulunmamasına karşılık, 59 *C. albicans* izolatının yedisinde germ-tüp negatif idi. Pereira ve ark.<sup>(33)</sup> benzer bir çalışmada, kromojenik agar ve MALDI-TOF MS yöntemi ile doğruladıkları vajina kökenli 79 *C. albicans* izolatından 75'inde germ-tüp oluşumu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, referans yöntem olarak kullanılan MALDI-TOF MS, maya türlerinin identifikasyonu için yaygınlaşmaya başlayan bir yöntemdir ve %90'ın üzerinde özgülüğe sahiptir<sup>(33)</sup>. Ayrıca, Erdem ve ark.<sup>(34)</sup> *Candida* türlerinin identifikasyonunda "altın standart" olan DNA dizi analizi kullanıldığında

MALDI-TOF MS yönteminin morfolojik yöntemlerden (mısırunlu-Tween 80 agar) daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir. MALDI-TOF MS cihazı ve kurulumu ilk aşamada pahalı olsa da yüksek doğruluk oranları ve test başına kullanılan malzemelerin ucuz olması maliyeti önemli ölçüde azaltır<sup>(35)</sup>. Sonuç olarak, MALDI-TOF MS yöntemi *Candida* türlerinin tanımlanması için hızlı ve doğru bir tekniktir. Ancak, daha güvenli identifikasyon sonucu için klasik yöntemler (germ-tüp testi, mısır unu-Tween 80 agar ve kromojenik besiyeri) ile birlikte kullanılması önerilmektedir<sup>(8,15,34,35)</sup>. Genel olarak MALDI-TOF MS, maya mantarlarının tür düzeyinde tanısında başarılı bir yöntemdir ve tanımlama için log-skor değerlerinin 1.7'ye dek düşürülmesinde sakınca olmadığı bildirilmiştir<sup>(36)</sup>.

Sonuç olarak, tanı konulmamış veya tedavi edilmemiş mantar vajinitleri önemli bir halk sağlığı sorunudur. Hastanemizde gebelerde mantar vajiniti prevalansı %43.2 olup, son 10 yılda özellikle *C. glabrata* ve *C. krusei* prevalansındaki artış dikkat çekicidir. Gebelerde mantar vajinitlerinin tanısının ve tedavi planının göz ardı edilmesi gebe ve yenidoğan sağlığı için birçok risk barındırmaktadır. Mantar vajinitlerinin tanı ve tedavisinin yalnızca klinik semptom ve bulgulara dayanarak yapılması; (i) tam kür sağlanamamasına, (ii) rekürrenslerin artmasına, (iii) ilaca dirençli türlerin ortaya çıkmasına ve (iv) *albicans*-dışı *Candida* vajinitlerinin artmasına zemin hazırlar. Bu durumun önüne geçmek için öncelikle klinik muayene ve mikolojik tanının mesleki eğitim basamaklarında yeri ve önemi vurgulanmalıdır.

Mantar vajinitleri ile mücadelede:

1. Birinci basamak sağlık hizmetleri dâhil olmak üzere tüm sağlık çalışanları CV'nin klinik ve mikolojik tanısı ve yönetimi hakkında bilgilendirilmelidir.
2. Kür sağlanamayan veya rekürrens olan hastalarda; klinik tanının laboratuvar tanı ile desteklenmesi (olabiliyorsa kromojenik besiyeri kullanılmalı), etken olan türlerin belirlenmesi ve gerekirse ilaç direnci çalışmaları yapılması konusunda Tıbbi Mikrobiyoloji veya

Tıbbi Mikoloji laboratuvarlarından destek istenmelidir.

3. Geçtiğimiz 10 yıl içerisinde, hastanemizde vajinit etkeni olarak belirlenen *C. albicans* oranı azalma eğiliminde iken, *C. glabrata* ve *C. krusei*'deki artış endişe vericidir.
4. Gebelerde CV önemli bir halk sağlığı sorunudur ve klinisyen-mikrobiyolog iş birliği ile yönetilmelidir.

**Etik kurul onayı:** Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (14.02.2020 tarih ve 44 kayıt numarası) onaylanmıştır.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansman:** Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TYL-2020-12831 no. proje olarak desteklenmiştir.

**Ethics Committee Approval:** This study was conducted with the approval of Cukurova University, Non-invasive Clinical Research Ethics Committee (02.14.2020; 44).

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Funding:** Çukurova University Scientific Research Projects (TYL-2020-12831)

## KAYNAKLAR

1. Seyedmousavi S, İlkit M, Durdu M, et al. *Candida* ve kandidoz: Epidemiyoloji, tanı, tedavi, antifungal ilaç direnci ve konağın genetik yatkınlığında güncel durum. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2015;45(1):1-11. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2015.001>
2. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. Lancet. 2007;369(9577):1961-71. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60917-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60917-9).
3. Denning DW, Kneale M, Sobel JD, Rautemaa-Richardson R. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: A systematic review. Lancet Infect Dis. 2018;18(11):e339-47. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30103-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30103-8)



4. Sustr V, Foessleitner P, Kiss H, Farr A. Vulvovaginal candidosis: Current concepts, challenges and perspectives. *J Fungi (Basel)*. 2020;6(4):267. <https://doi.org/10.3390/jof6040267>
5. Gonçalves B, Ferreira C, Alves CT, Henriques M, Azeredo J, Silva S. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. *Crit Rev Microbiol*. 2016;42(6):905-27. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2015.1091805>
6. Hilmioglu-Polat S, Seyedmousavi S, Ilkit M, et al. Estimated burden of serious human fungal diseases in Turkey. *Mycoses*. 2019;62(1):22-31. <https://doi.org/10.1111/myc.12842>
7. Aguin TJ, Sobel JD. Vulvovaginal candidiasis in pregnancy. *Curr Infect Dis Rep* 2015;17(6):462. <https://doi.org/10.1007/s11908-015-0462-0>
8. Ilkit M, Guzel AB. The epidemiology, pathogenesis, and diagnosis of vulvovaginal candidosis: A mycological perspective. *Crit Rev Microbiol*. 2011;37(3):250-61. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2011.576332>
9. Maki Y, Fujisaki M, Sato Y, Sameshima H. *Candida* chorioamnionitis leads to preterm birth and adverse fetal-neonatal outcome. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2017;2017:9060138. <https://doi.org/10.1155/2017/9060138>
10. Guzel AB, Ilkit M, Akar T, Burgut R, Demir SC. Evaluation of risk factors in patients with vulvovaginal candidiasis and the value of chromID *Candida* agar versus CHROMagar *Candida* for recovery and presumptive identification of vaginal yeast species. *Med Mycol*. 2011;49(1):16-25. <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.497972>
11. Ozcan K, Ilkit M, Ates A, Turac-Bicer A, Demirhindi H. Performance of Chromogenic *Candida* agar and CHROMagar *Candida* in recovery and presumptive identification of monofungal and polyfungal vaginal isolates. *Med Mycol*. 2010;48(1):29-34. <https://doi.org/10.3109/13693780802713224>
12. Pincus DH, Orenge S, Chatellier S. Yeast identification—past, present, and future methods. *Med Mycol*. 2007;45(2):97-121. <https://doi.org/10.1080/13693780601059936>
13. Guzel AB, Ilkit M, Burgut R, Urunsak IF, Ozgunen FT. An evaluation of risk factors in pregnant women with *Candida* vaginitis and the diagnostic value of simultaneous vaginal and rectal sampling. *Mycopathologia*. 2011;172(1):25-36. <https://doi.org/10.1007/s11046-011-9392-z>
14. Walsh TH, Hayden TH, Larone DH. Larone's Medically Important Fungi: A Guide to Identification. 6th ed. Washington DC: ASM Press, 2018.
15. Marklein G, Josten M, Klanke U, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J Clin Microbiol*. 2009;47(9):2912-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.00389-09>
16. Yang L, Su MQ, Ma YY, et al. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility, and ERG11 mutations of *Candida* species isolated from pregnant Chinese Han women. *Genet Mol Res*. 2016;15(2):gmr7168. <https://doi.org/10.4238/gmr.15027168>
17. Waikhom SD, Afeke I, Kwawu GS, et al. Prevalence of vulvovaginal candidiasis among pregnant women in the Ho municipality, Ghana: species identification and antifungal susceptibility of *Candida* isolates. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020;20(1):266. <https://doi.org/10.1186/s12884-020-02963-3>
18. Fardiazar Z, Ronaci F, Torab R, Goldust M. Vulvovaginitis candidiasis recurrence during pregnancy. *Pak J Biol Sci*. 2012;15(8):399-402. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2012.399.402>
19. Leli C, Mencacci A, Meucci M, et al. Association of pregnancy and *Candida* vaginal colonization in women with or without symptoms of vulvovaginitis. *Minerva Ginecol*. 2013;65(3):303-9. PMID: 23689173.
20. Siddiqui R. Clinical patterns and risk factors of vulvovaginal candidiasis among women of reproductive age attending a tertiary Hospital in Central India. *Stam J Microbiol*. 2020;9(1):27-31. <https://doi.org/10.3329/sjm.v9i1.45655>
21. Sampson T, George AP. Evaluating the risk of *Candida albicans* associated with gestation amongst women in Port Harcourt, River State, Nigeria. *IJPR*. 2020;3(3-4):1-7. <https://doi.org/10.9734/IJPR/2019/v3i430098>
22. Wokem GN, Ndukwu CB. *Albicans* candidiasis among women and infants at two health facilities in Port Harcourt, Rivers State, Nigeria. *Nigerian J Parasitol*. 2015;36(1):55-60.
23. Dias LB, de Souza Carvalho Melhem M, Szesz MW, Filho JM, Hahn RC. Vulvovaginal candidiasis in Mato Grosso, Brazil: Pregnancy status, causative species and drugs tests. *Braz J Microbiol*. 2011;42(4):1300-7. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000400009>
24. Zhai Y, Liu J, Zhou L, et al. Detection of *Candida* species in pregnant Chinese women with a molecular beacon method. *J Med Microbiol*. 2018;67(6):783-9. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000740>

25. Mushi MF, Mmole A, Mshana SE. *Candida* vaginitis among symptomatic pregnant women attending antenatal clinics in Mwanza, Tanzania. BMC Res Notes. 2019;12(1):775. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4793-z>
26. Ghaddar N, Anastasiadis E, Halimeh R, et al. Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida albicans* causing vaginal discharge among pregnant women in Lebanon. BMC Infect Dis. 2020;20(1):32. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4736-2>
27. Abdelaziz ZA, Ibrahim ME, Bilal NE, Hamid ME. Vaginal infections among pregnant women at Omdurman Maternity Hospital in Khartoum, Sudan. J Infect Dev Ctries. 2014;8(4):490-7. <https://doi.org/10.3855/jidc.3197>
28. Mylonas I, Bergauer F. Diagnosis of vaginal discharge by wet mount microscopy: A simple and underrated method. Obstet Gynecol Surv. 2011;66(6):359-68. <https://doi.org/10.1097/OGX.0b013e31822bdf31>
29. Makanjuola O, Bongomin F, Fayemiwo SA. An update on the roles of non-albicans *Candida* species in vulvovaginitis. J Fungi (Basel). 2018;4(4):121. <https://doi.org/10.3390/jof4040121>
30. Cetin M, Ocak S, Gungoren A, Hakverdi AU. Distribution of *Candida* species in women with vulvovaginal symptoms and their association with different ages and contraceptive methods. Scand J Infect Dis. 2007;39(6-7):584-8. <https://doi.org/10.1080/00365540601148491>
31. Güzel AB, Aydın M, Meral M, Kalkanç A, Ilkit M. Clinical characteristics of Turkish women with *Candida krusei* vaginitis and antifungal susceptibility of the *C. krusei* isolates. Infect Dis Obstet Gynecol. 2013;2013:698736. <https://doi.org/10.1155/2013/698736>
32. Hazirolan G, Altun HU, Gumral R, Gursoy NC, Otlu B, Sancak B. Prevalence of *Candida africana* and *Candida dubliniensis*, in vulvovaginal candidiasis: First Turkish *Candida africana* isolates from vulvovaginal candidiasis. J Mycol Med. 2017;27(3):376-81. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.04.106>
33. Pereira LC, Correia AF, da Silva ZDL, et al. Vulvovaginal candidiasis and current perspectives: new risk factors and laboratory diagnosis by using MALDI-TOF for identifying species in primary infection and recurrence. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2021;40(8):1681-93. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04199-1>
34. Erdem H, Erganiş S, Evren E, Aksakal FN, Çağlar K, Kalkanç A. *Candida* cinsi mayaların tür düzeyinde tanımlanmasında kullanılan yöntemlerin karşılaştırmalı analizi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2017;47(3):114-24. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2017.114>
35. Dhiman N, Hall L, Wohlfiel SL, Buckwalter SP, Wengenack NL. Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast. J Clin Microbiol. 2011;49(4):1614-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.02381-10>
36. Quintilla R, Kolecka A, Casaregola S, et al. MALDI-TOF MS as a tool to identify foodborne yeasts and yeast-like fungi. Int J Food Microbiol. 2018;266:109-118. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.016>