

ÜROGENİTAL İNFEKSİYONLARDA CHLAMYDİA TRACHOMATİS'İN SİTOLOJİ, İMMUNOFLORESAN, HÜCRE KÜLTÜRÜ VE ELISA YÖNTEMLERİYLE GÖSTERİLMESİ*

Dr. Cumhur Özkuyumcu**

Dr. Ekrem Gülmezoğlu***

Key words : Chlamydia trachomatis, Urogenital infectious, Cytology, IF Stain
McCoy Cell Culture, ELISA.

Anahtar terimler : Chlamydia trachomatis, Ürogenital infeksiyonlar, Sitoloji,
İmmunofloresan, McCoy, ELISA.

Chlamydia trachomatis, Chlamydiae cinsinin iki türünden birisidir. C.trachomatis 15 serotip içermektedir.^{1,2} Tüm serotipler üç grupta toplanmaktadır; (a) trahom ve inkluzyon konjunktiviti etkenleri (serotip A-K), (b) lenfogranuloma venerum etkenleri (serotip D1-3) ve (c) fare pnömoni etkeni. C.trachomatis'in trahom ve inkluzyon konjunktiviti etkeni olduğu bilinmesine rağmen ürogenital infeksiyonlara neden olduğu çok daha sonra anlaşılmıştır.³ Mikroorganizmin izolasyonun zor olması nedeniyle uzun yıllar üzerinde çalışılmamıştır. 1965 yılında C.trachomatis'in izolasyonunda hücre kültürlerinin kullanılması⁴ ve bunu takip eden yıllarda serolojik yöntemlerin C.trachomatis tanısında kullanılmasıyla⁵ geniş klinik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda C.trachomatis'in üretrit, servisit, epididimit, salpinjit gibi infeksiyonların etkeni olduğu ayrıca infekte anneden bebeğe doğum esnasında geçerek pnömoni, konjunktivit ve otitis mediaya neden olduğu gösterilmiştir.^{2,3,6}

Tüm dünyada C.trachomatis ile ilgili birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen yurdumuzda bu konuda fazla bir çalışma yapılmamıştır. Bizim çalış-

* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalışmalarından.

** Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yrd. Doçenti.

*** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Profesörü.

çalışmamızın amacı ürogenital infeksiyonlarda *C.trachomatis*'in araştırılmasıdır. Çalışmamız bir prevalans çalışmasından ziyade bu infeksiyonlarda sitolojik boyamalar, hücre kültürleri ve diğer yöntemler (IFA, ELISA) yardımıyla *C.trachomatis*'in saptanması olarak ele alınmalıdır.

Materyal ve Metod

Çalışmamızda alınan örnekler Giemsa, iyot boyamaları ve IF ile doğrudan inceleme, hücre kültürü ve ELISA yöntemleriyle *C.trachomatis* açısından araştırılmıştır.

A. Doğrudan İnceleme : Örnekler spatül ile alınmış metanol ile tesbit edilmiştir. Giemsa, iyot ve IFA (Ortho) ile boyanarak incelenmiştir.

B. Hücre Kültürü : Özel eküvyonlarla usulüne uygun olarak serviks ve üreteradan alınan örnekler 2 SP (Sukroz-fosfat tamponlu besiyeri) taşıyıcı besiyeri ile laboratuvara getirilmiştir.^{7,8,9} Gelen örnekler McCoy hücrelerine (Flow) ekilmiştir. Ekimden önce RPMI 1640 (% 10 Fötal dana serumu, vankomisin 100 mikrogram/ml., gentamisin 5 mikrogram/ml. amfoterisin B 2.5 mikrogram/ml.) kullanılmıştır. Örnek ekilen şişeler 2500 devir/dakikada 60 dakika santrifuj edilmiş ve daha sonra kullanılan vasata sikloheksimid (1 mikrogram/ml.) ilave edilmiştir. Örnek ekili şişeler 48-72 saat sonra Giemsa, iyot ve IFA ile incelenmiştir.

C. ELISA Yöntemi : Özel eküvyonlar ile alınan örnekler SSR (Medical Media Laboratory) ile laboratuvara getirilmiş ve ELISA (Abbott) yöntemiyle incelenmiştir.⁹

Bulgular

Çalışmamızda Ankara'da bulunan altı kliniğe başvuran altı grup toplam 422 hasta ve kontrolden alınan örnekler incelendi.

Gruplar : (a) Ürogenital yakınması olan kadın hastalar, (b) üretrit yakınması olan erkek hastalar, (c) hamileler, (d) genelev kadınları, (e) normal kadınlar ve (f) normal erkekler olmak üzere altı kısımdan oluşmaktadır. Hasta ve kontrollerin yaşları 15-62 arasında değişmekte olup gruplara göre yaş durumları aşağıdaki tabloda görülmektedir.

TABLO I

	15 - 19		20 - 24		25 - 29		30 - 34		35 - 39		40		
	S	%	S	%	S	%	S	%	S	%	S	%	Toplam
GA	5	5.3	21	22.8	17	18.0	31	32.9	13	13.8	7	7.4	94
GB	9	14.7	33	54.0	10	16.3	8	13.1	1	1.6	0	0.0	61
GC	7	16.6	18	42.8	12	28.5	3	7.0	1	2.3	1	2.3	42
GD	3	3.9	7	9.2	34	44.7	21	27.6	3	3.9	8	10.5	76
GE	14	13.7	26	25.4	29	28.4	18	17.6	13	12.7	2	1.9	102
GF	11	23.4	15	31.9	14	29.7	3	6.3	4	8.5	0	0.0	47
	49	11.6	120	28.4	116	27.4	84	19.9	35	8.29	18	4.2	422
	49	11.6	120	28.4	116	27.4	84	19.9	35	8.29	18	4.2	422

NOT : G (Grup), A (Ürogenital yakınması olan kadınlar), B (Üretrit yakınması olan erkekler, C (Hamileler, D (Genelev kadınları), E (Normal kadınlar), F (Normal erkekler).

Tablo I'de görüldüğü gibi hasta ve kontrollerin büyük çoğunluğu (% 75.7) 20-34 yaş arasındadır. 40 yaş ve üzerindeki en küçük grubu oluşturmaktadırlar.

TABLO II

Ürogenital Yakınması Olan Kadın Hastalarda Klinik Özellikler (94 Olgu).

Özellikler	Hasta Sayısı	Yüzde
Servikal Erozyon	57	60.6
Endoservikal Akıntı	42	46.9
Kasık Ağrısı	14	14.8
Daha Önce Tedavi Görme	11	11.7
Servikal Folikül	3	3.1
Frajil Serviks	2	2.1
Eşinde Üretrik Öyküsü	2	2.1

Tablo II'de görüldüğü gibi ürogenital yakınması olan kadın hastalarda en fazla görülen fizik inceleme bulgusu servikal erozyondur. Servikal folikül ve frajil serviks en az görülen klinik bulgudur.

Üretrit tanısı konulan hastalarda en fazla görülen fizik inceleme bulgusu disüridir (% 77). Bunu üretral akıntı izlemektedir (% 55.7). Hastaların sadece sekizi şüpheli cinsel temas öyküsü vermektedir (Tablo III).

TABLO III

Üretritli 61 Hastada Klinik Belirtiler

Klinik Belirtiler	Hasta Sayısı	Yüzde
İdrar Yaparken Yanma	47	77.0
Üretral Akıntı	34	55.7
Daha Önce Tedavi Görme	12	19.6
Şüpheli Cinsel Temas	8	13.1
Eşinde Genital İnfeksiyon	5	8.1
Üretral Ödem	2	3.2

Çalışmaya alınan genelev kadınlarının % 85.5'inin bir veya daha fazla antibiyotigi devamlı kullandığını saptadık. Yine bu grubun % 80.2'sinin kontrole gelmeden önce dezenfektanlar ile vajinal lavaj yaptığını saptadık. Giemsa ve iyot ile yapılan doğrudan incelemede bir hastada C.trachomatis saptadık. Aynı hastada C.trachomatis IF ile gösterildi. Yine IF ile C.trachomatis saptanan bir başka olgunun pozitifliği ELISA ile gösterildi.

TABLO IV

2 Pozitif Olgunun Özellikleri

	Yaş	Grup	Klinik Tanı	Örneğin Alındığı Klinik	Yöntem
1. nci Hst.	38	A	Servisit + İnfertilite	Hacettepe Tıp Fak. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği	Sitoloji + IFA
2. nci Hst.	42	D	Normal	Ankara Belediyesi Dışkapı Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği	ELISA + IFA

Tartışma

Çalışmamızda *C.trachomatis* direkt preparatlarda ve ELISA yöntemiyle gösterilmiş olup, klinik olgulardan etken izole edilmemiştir. Yapılan birçok klinik çalışmada *C.trachomatis* infeksiyonunun asemptomatik kadın ve erkeklerde %3-5, semptomatik kadın ve erkeklerde % 15-20, hamilelerde % 5-7 oranında olduğu gösterilmiştir.¹⁰⁻¹⁴ Literatürdeki bulgular ile bizim sonuçlarımız karşılaştırıldığı zaman bulunduğumuz değerlerin düşük olduğu görülmektedir. Çalışmamıza bakıldığı zaman gerek yaş gerekse veneral hastalık yönünden farklı gruplarla çalıştığımız görülmektedir. Diğer taraftan *C.trachomatis* servisitlerinde en fazla görülen klinik bulgu frajil serviks ve ödemli ektopi iken bizim olgularımızda bu bulguların son derece düşük olduğu görülmektedir. Genelev kadınlarının % 85'inin etki spektrumunda *C.trachomatis* de bulunan antibiyotikleri devamlı kullandığı ve % 80'inin kontrole gelmeden önce denefektanlar ile vajinal lavaj yaptığı saptanmış olup bunlar sonucu fevkalâde etkileyen hususlardır. Diğer taraftan üretrit olgularımızın % 42'sinin 30 yaşın üzerinde olması bu olgularda *C.trachomatis*'in varlığı olasılığını uzaklaştırmaktadır. Ayrıca yaşın artışı ile beraber *C.trachomatis* izolasyonunun güçleştiği bilinmektedir.⁴ Bizim de *C.trachomatis* infeksiyonu saptadığımız ama etkeni izole edemediğimiz olguların yaşları otuzun üzerindedir (Tablo IV). *C.trachomatis* infeksiyonlarında lokal antikorlar izolasyonu güçleştirmektedir.^{3,4} Bizim olgularımızda lokal antikorlara bakılmamıştır. Ancak neden izole edilmedi derken bu nokta da düşünölmelidir.

American Type Culture Collection'dan sağladığımız serotip D(VR 885) ve The National Bacteriology Laboratory'den sağladığımız serotip D, E ve G (UV-3cx, WW-5cx ve TRIC) suşları ile çalışarak kullandığımız tüm malzemeleri kontrol ettik. Çalışmamızda IFA ve ELISA yöntemlerini de kullanmamız bizim diğer bir kontrolümüz olmuştur.

İleride yapılacak geniş epidemiyolojik çalışmalarda IFA ve ELISA yöntemlerinin yanında mikroimmünfloresan gibi yöntemlerin kullanılmasının da yararlı olacağı kanısındayız. Özellikle genelev kadınlarında kültür yöntemi yerine antijen gösteren testlerin kullanılmasının yalancı negatifliği engelleyeceği kanısındayız. Ayrıca üretral ve servikal salgılarda özgül antikor çalışmalarının izolasyon çalışmaları ile birlikte yürütölmесinin anlamlı olacağını vurgulamak isteriz. Çalışmamızı değerlendirirken bu açıklamaların gözönünde tutulmasının gerekli olduğuna inanıyoruz. Ayrıca bizim bu çalışmayı bir prevalans çalışması olarak ele almadığımızı tekrar vurgulamak isteriz.

Özet

Çalışmamızda ürogenital yakınması olan kadın ve erkek hastalar, hamileler; genelev kadınları, normal kadın ve erkekler olmak üzere toplam 422 kişide C.trachomatis araştırılmıştır.

Çalışmamızda Giemsa, iyot ve immunofloresan ile doğrudan inceleme yapılmış ayrıca hücre kültürü ve ELISA yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmamızda ELISA ve immunofloresan yöntemlerinin epidemiyolojik çalışmalarda yararlı olacağı görülmüştür.

SUMMARY

Determination of Chlamydia Trachomatis with sitology, IF stain, cell culture and ELISA methods in urogenital tract infections

In this study 422 patients who had urogenital diseases and control group (pregnant women and sexually active men and women) were tested in order to determine Chlamydia trachomatis. In our study direct examination (Giemsa, iod and IF stain), tissue culture and ELISA were used by us to determine C.trachomatis. The ELISA and IF stain method was found useful test according to our research.

KAYNAKLAR

- 1 — Schacter V. Biology of Chlamydia trachomatis. In: King K. Holmes, P. Fiederic Sporting and Paul Vierner eds. **Sexually Transmitted Diseases and Etiologic Agent**, John Wiley Publication, Washington, 1984, pp 243-257.
- 2 — Schalter J. and Caldwell HD. **Ann. Rev. Microbiol.** 1980, 34 : 285-309.
- 3 — King K. Holmes and PA Mardh eds. **International Perspectives on Neglected sexually Transmitted Diseases**, McGraw-Hill Book Company, Washington, 1983, pp 3.
- 4 — Gordon F. B. and Quan A.L. Isolation of trachoma agents in cell culture. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 1965, 118 : 354.
- 5 — Wang S. P. and Grayston J. T. Immunologic relation ship between genital TRIC, lypmhogranuloma venerum and and related organism in a new microtitre indirect immunflorescense test. **Am. J. Ophtalmol.** 1970, 70:376.
- 6 — William R. B. and King K. H. C. trachomatis. In : G. Mandell, R. Douglas and JE BeInnet eds. **Infectious Diseases**, Washington, Wiley Publication, Second edition, 1985, pp 1049-1061.
- 7 — Washington JA, eds. **Laboratory Procedures in Clinical Microbiol.** New-york, Springer-Verlag Publication, 1981, pp 502.
- 8 — Wallace A., Clyde JR., George E Keny and Schacter J, eds. **Laboratory Diagnosis of chlamydial and mycoplazmal infections.** Washington, A.S.M., 1984, Cumitech 19 1-18.
- 9 — Ingegerd Kalings and P. A. Mardh. Sampling and Specimen Handling in the Diagnosis of Genital Chlamydia trachomatis Infections. **Scan. J. Inf. Dis.** 1982, supp 32: 21-25.
- 10 — Schacter J. Chlamydial Infections. **N. Eng. J. Med.** 1978, 298 : 428.
- 11 — Frommel GT. Chlamydial Infections of Motherand Their Infants. **J. Pe-diatr.** 1979, 95: 28.
- 12 — Ripa K.T. C.trachomatis Cervitis in Gynecologic Out Patients. **Obstet. Gynecol.** 1978, 52 : 698.
- 13 — Stamm V.E. Prospective screening for urethralinfections with C. trachomatis and N. gonorrhoeae in men attending a clinic for sexually trans-mitted diseases. **Clin. Res.** 1981, 29:51 A.
- 14 — Berger R.E. Etiology, manifestations, and therapy of acute epididymitis. **N. Eng. J. Med.** 1978, 298:301.