

GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Semptomlu Kadın ve Erkek Hastaların Genital Sürüntü Örneklerinde
Chlamydia trachomatis Antijeninin Enzyme Immune-Assay(EIA) ve Direct
Fluoresan Antikor (DFA) Testi İle Araştırılması

TEZ YÖNETİCİSİ

Doç.Dr.FATMA SIRMATEL

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı

Dr.MEHMET KARATAŞ

Uzmanlık Tezi

GAZIANTEP-1997

TEŐEKKÖR

Bilgi ve tecrübelerini aktararak eğitimimde ve tez çalışmalarında katkıda bulunan anabilim dalı başkanımız sayın Prof.Dr.İbrahim BAYDAR'a ve tez danışmanım sayın Doç.Dr.Fatma SIRMATEL'e , Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği ile Üroloji Kliniği çalıŐanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

.TEŞEKKÜR	1
.GİRİŞ	1
.GENEL BİLGİLER	4
.GEREÇ VE YÖNTEM	19
.BULGULAR	26
.TARTIŞMA	29
.SONUÇLAR	33
.ÖZET	34
.SUMMARY	35
.KAYNAKLAR	36

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tarihin ilk çağlarından beri cinsel yolla bulaşan hastalıklar tıp dünyasında önemli bir yer tutmuştur. Dünyanın tüm ülkelerinde cinsel yolla bulaşan hastalıklar araştırılmış olup tedavi ve korunma ile ilgili merkezler kurulmuştur. Son yıllarda artış gösteren cinsel yolla bulaşan hastalık(CYBH) etkenleri oldukça farklılaşmıştır. İlk çağlarda sifiliz, gonore, yumuşak şankr gibi hastalıklar önemli bir yere sahipken son yıllarda;

.Klamidya

.Mikoplazma ve Üreoplazma

.Herpes simpleks

.Sitomegalovirus(CMV)

.HIV(Human Immundeficiency Virus)

.Human papilloma viruslarına bağlı infeksiyonlarda oldukça önemli artışlar olmuştur. Genital klamidyal infeksiyonlarda, gelişmiş toplum popülasyonlarında %10'a yakın taşıyıcılık söz konusudur(1).

Genital klamidyal infeksiyonların genellikle belirtisiz seyretmesi tanıyı güçleştirmekte ve özellikle kadın olgularda önemli komplikasyonlara neden olmaktadır. Pelvik inflamatuvar hastalıkların (PIH) %60'ından sorumlu tutulan klamidyal infeksiyonların tekrarlayan epizotları dejeratif doku hasarına neden olur. Hastalığın başlangıcında saptanan bulgular kadınlarda servisit, salpênjit, üriner sistem infeksiyonu, erkeklerde üretrit, epididimit, orşit, çocuklarda konjunktivit ve yenidoğan pnomonileridir. Tedavi edilmeyen olgularda ise endometrit, düzensiz kanamalar, salpênjit, perihepatit, dış gebelik ve düşük kilolu doğumlar gibi komplikasyonlar meydana gelmektedir. Erkeklerde klamidyal infeksiyonların kronik nongonokokal üretrit(NGÜ), üretral striktür ve Reiter sendromu'na neden olduğu bildirilmiştir(2). Yenidoğanlar doğum sırasında anneden aldığı enfeksiyon konjunktivit ve ağır pnomonilere maruz kalırlar.

Klamidyal infeksiyonların tanısında serolojik testler ve hücre kültür yöntemleri kullanılır. Son yıllarda ticari kitlerin hazır olarak kullanıma girmesi birçok hastalıkta olduğu gibi genital klamidyal hastalıkların(GKH) tanısında da kolaylıklar sağlamıştır. Komplikasyonları ile kadın ve erkek olgularda uzun süren genitoüriner yakınmalara neden olan klamidyal infeksiyonların tanısında etkene özgü antijen ve antikorların araştırılması ve toplumsal prevalans çalışmalarının yapılabilmesi gelişen laboratuvar tanı yöntemleri ile mümkün olmuştur. Klamidya infeksiyonu geçiren olguların kanında yeniden antikor titrasyonunun artması(Ig-M) yineleyen infeksiyonu gösterir. Hastalığın tanısında etkenin izole edilmesi gold standart olarak bilinir. İzolasyon için en çok kullanılan yöntem McCoy hücre kültürüdür. Pahalı ve zor bir tanı yöntemi olduğu için ülkemizde ve birçok dış ülkelerde enzim immüno-assay(EIA) ve immüno-fluoresan(IF) yöntemleri rutin serolojik testler olarak kullanılmak-

tadır. Tanı yöntemleri hızla gelişen klamidyal infeksiyonların tedavisi başlan-
gıçta kolaydır. Ancak komplikasyonların ortaya çıkması hastaya ve doktora
birtakım zorluklar yaratır. Bölgemizde klamidyal infeksiyonlar ile ilgili araş-
tırma yapılmamış olup, kronik ürogenital yakınması olan kadın ve erkek
olguların sürüntü örneklerinde *Chlamydia trachomatis* (*C.trachomatis*) anti-
jenini araştırarak akut infeksiyöz olguları saptamaya çalıştık.

BÖLÜM-2

GENEL BİLGİLER

A.Tarihçe

Çok eski çağlardan beri Çin ve Mısır'dan elde edilen verilere göre *C.trachomatis*'in oküler infeksiyon etkeni olduğu bilinir. 1909'da ilk kez bir çocuğun gözünden elde edilen kazıntı materyalinde *C.trachomatis*'e ait inklüzyon cisimcikleri gösterilmiştir(3). 1957 yılında Tang ve ark. *C.trachomatis*'i embriyonlu yumurtanın sarı kesesinde üretmiş ve 1965'de ise hücre kültürleri tanı yöntemi olarak kullanıma girmiştir. Ancak hücre kültür yöntemleri son derece pahalı ve uygulaması zor yöntemlerdir. Bundan dolayı 1970 yılında IF yöntemi geliştirilmiş ve 1990'dan sonra ise EIA'nın kullanıma girmesiyle tanıda kolaylık sağlanmıştır(3). Cinsel yolla bulaşan hastalıklar (CYBH) içinde genital klamidyal infeksiyonların(GKİ) oldukça önemli bir yere sahip olmasından dolayı ülkemizde ve dünyada çok sayıda araştırma yapılmıştır. Klamidya infeksiyonlarının tubal faktör nedeni ile sterilitede önemli olması tüp bebek merkezlerinde bu konunun geniş araştırılmasına neden olmuştur. İzmir'de yapılan son ulusal klamidya infeksiyonları toplantısında klamidyaların koroner kalp hastalığı patogeneğinde önemli rol oynadığı görüşü benimsenmiştir(4).

B.Epidemiyolojisi

C.trachomatis gonore infeksiyonu gibi cinsel yolla bulaşır. Klamidyal infeksiyonların sıklığı birçok ülkede halen tam olarak bilinmemektedir. Genital

klamidyal infeksiyonlar(GKİ) gonore ve diğer genital infeksiyonlarla birlikte görülebilirler. Sağlıklı kadınlar da %0-26 antijen pozitifliği saptanırken salpenjitli olgularda %70'lere varan oranlar bulunmuştur. Genital infeksiyonu olan kadınlarda %10-50, infertil kadın olgularda %1-40 antijen pozitifliği bulunan çalışmalar da mevcuttur(5).

Genital klamidyal infeksiyonlar(GKİ), her yıl 50 milyon insanın yakalandığı, özellikle 30 yaşın altındaki kadın ve erkekleri tutan ve CYBH'lar içinde önemli bir sorun teşkil eden infeksiyonlardır(5).

Semptomu olmayan kadın olgularda özellikle genç yaşta %5-20 oranında görülen infeksiyon, tekrarlayan epizotlarla, PIH, lenfogradüloza venorum(L.GV), endometrit, salpenjit ve perihepatit(Fitz. Hugh-Curtis Send.)'e neden olmaktadır. Özellikle seks işçisi kadınlarda partner sayısının fazla olması nedeniyle rutin kontroller sırasında klamidyal infeksiyonların araştırılması zorunludur. Gelişmiş ülkelerde bu amaçla belirli merkezler kurulmuştur. Danimarka'da seks işçisi kadınlara bu merkezler tarafından kontrol programları uygulanmakta olup bundan dolayı infeksiyon %5 gibi düşük düzeylere çekilebilmiştir(5). Son yıllarda ülkemizde de birçok bölgede klamidyal infeksiyonlar araştırılmıştır. Serter ve ark.İzmir'de semptomu olmayan kadınlarda %23-27.3, semptomlu olgularda %32-40, infertil olgu grubunda %8.5 -11, genelev kadınlarında %25.4 antijen pozitifliği bulmuşlardır(6). Hacettepe'de yapılan bir çalışmada NGÜ olgularında C.trachomatis antijen pozitifliği %3.2 bulunmuştur(7). Kontrol programlarının başarılı olması klamidyal infeksiyonların önlenilebilir olduğunu göstermektedir. CYBH'larla ilgili kişisel korunma yöntemleri GKİ'lar için de geçerlidir.

C.Fizyopatolojisi

Daha önce değişik isimlerle tanınan klamidyalarda hücre içi zorunlu mikroorganizmalardır. Bazı özellikleri ile virüslara, bazı özellikleriyle bakterilere benzedikleri için sınıflandırılmaları tartışma konusu olmuştur. Etken hem RNA, hem DNA içermektedir. Bakteriler gibi ikiye bölünerek çoğalırlar. Hücre duvar yapıları gram olumsuz bakterilere benzerlik gösterir. Bundan dolayı antibiyotiklere duyarlıdırlar. Metabolik kapasiteleri sınırlı olduğu için ATP sentezi yapamazlar ve bu yüzden çoğalabilmek için canlı hücrelere ihtiyaçları vardır. Klamidya hücreyi infekte edince hücrenin üremesi durmakta ve canlı hücre metabolik işlevlerini daha çok klamidya yönünde kullanmaktadır. Belli bir zaman sonra hücre parçalanıp ölmekte ve açığa çıkan klamidyalarda diğer hücreleri infekte etmektedir.

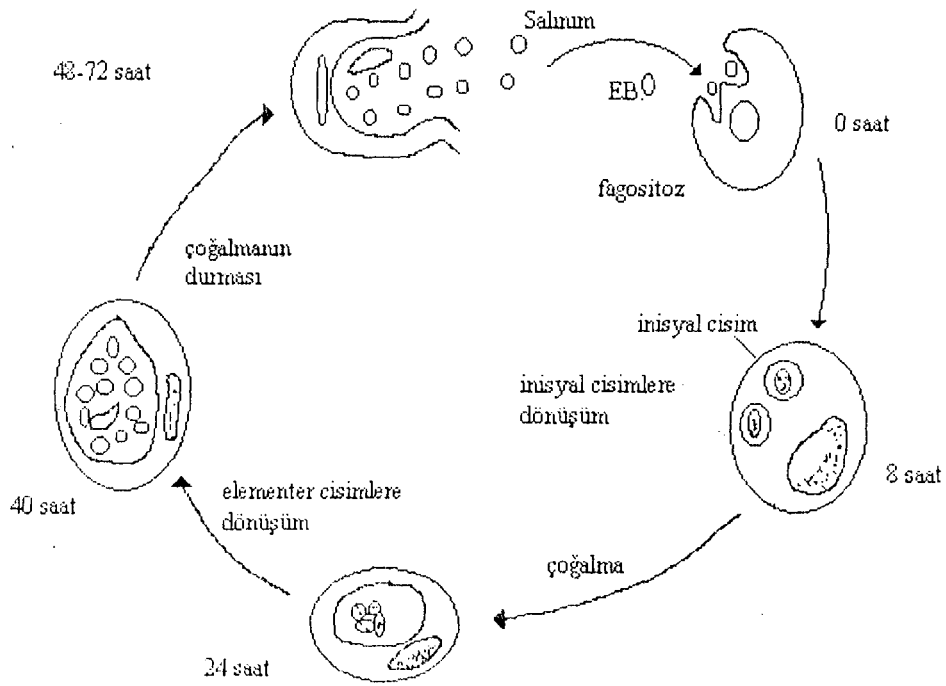
Fizyopatolojik açıdan klamidyalarda 3 şekli vardır. Bunlar infeksiyöz elementer cisimcik(EB: Elementary body), metabolik aktif retiküler cisimcik (RC: Reticular body) ve bu iki form arasında bulunan inisyel cisimcik olarak isimlendirilir.

EB, küçük, 300-400 nm çapında, oldukça sağlam bir yapı içerir. Bunun nedeni major dış membran proteininde(MOMP: major outer membran proteins) disülfid bağlarıdır(8).

EB epitel yüzeyinde bulunan hücre reseptörüne bağlanarak mikroorganizmanın endositoz ile hücre içine girmesini sağlar. Hücre içine giren klamidya 8-12 saat sonra vakuol içinde bölünerek inisyel cisimcikler oluşur. İnisyel cisimcikler 48-72 saat içinde metabolik aktif olan retiküler cisimcik şeklini

alırlar. Fagozomlar içinde büyüyen RC. ler son aşamada yeniden EB'lere dönüşerek lizozomal aktivite ile hücrenin parçalanmasına ve açıkta kalan EB'lerin diğer hücreleri infekte etmesine neden olurlar(9). Böylece infeksiyon siklusu devam etmiş olur. Şekil 1'de *C.trachomatis*'in yaşam siklusu gösterilmiştir(9).

Şekil 1: *C.trachomatis*'in yaşam siklusu



Klamidyalar ısı ile hızla inaktive olurlar. 60 C'de 10 dakika ısıtmakla infeksiyöz özelliklerini kaybederler. -70 C'de yıllarca canlılıklarını koruyabilirler. Eter ile 30 dakika da, fenol ile 24 saat içinde tahrip olurlar.

D. İmmünolojik Özellikleri

Klamidyalar gruba ve türe özgü iki farklı antijen içerirler. Grup antijenleri tüm klamidyalar da ortak olup lipopolisakkarit(LPS) yapısındadır.

Tipe özgü antijenler ise major dış membran proteinleri (MOMP) olup tiplendirmede kullanılırlar. Tipe özgü antijenler yardımıyla IF yöntemiyle klamidyalar 15'den fazla serotipe ayrılmıştır(10). Tablo 1'de serotipler ve neden oldukları hastalıklar gösterilmiştir.

Klamidya infeksiyonlarının en önemli özelliği yerleştikleri organizma ile biyolojik denge kurmaları ve bu yüzden çoğu kez latent infeksiyon şeklinde olmalarıdır. İnfeksiyon sırasında oluşan bağışık yanıt oldukça güçlüdür. Ancak oluşan antikorların koruyucu etkisi azdır. Kanda antikor titrasyonu yüksek olmasına rağmen koruyucu etki zayıftır. Bundan dolayı klamidyalar, infeksiyöz özellikleri fazla, fakat patojeniteleri düşük etkenlerdir. Erken ve yüksek dozda antibiyotik verilmesi antikor oluşumunu etkilemez. Ancak spesifik Ig-M bulunması izole edilen klamidya sayısı ile doğru orantılıdır(11).

Tablo 1. C.trachomatis ve neden oldukları hastalıklar

Hastalık	Bulaşma Yolu	Serotipler
Trahom	sinekler, eşyalar	A, B, B _a , C
İnklüzyon konjuktiviti	Perinatal	D...K
NGÜ	cinsel ilişki	D...K
Şervisit, endometrit	cinsel ilişki	D...K
Perihepatit, Salpenjit	cinsel ilişki	D...K
Proktit, epididimit	cinsel ilişki	D...K
LGV	cinsel ilişki	L ₁ , L ₂ , L ₃
Reiter send.	Geçirilmiş klamidyal enfeksiyonlar	-

Klamidyaların kimyasal ve fiziksel yöntemlerle incelenmeleri sonucu gram negatif bakterilere benzer hücre duvar yapısına sahip oldukları görülmüştür. Fazla miktarda lipid içermekle birlikte, yapılarındaki peptidoglikan

tabaka bakterilerden farklıdır. Bu özelliklerden dolayı penisilin ve sikloserin gibi bazı antibiyotiklere duyarlıdırlar. Bununla birlikte, bu tür hücre duvarı inhibitörleri daha çok morfolojik yönden defektif şekillerin oluşmasına yol açmakta, hastalık sağaltımında etkisiz kalmaktadırlar.

E.Kliniği:

C.trachomatis, infeksiyon spektrumu oldukça geniş olan bir etken olup her iki cinside tehdit eden önemli klinik antitelere neden olur.

Erkeklerde NGÜ'lerin %30-50'sinden sorumlu tutulmaktadır(12). Hücre kültürü pozitif olan üretritli erkek olgularda anti-C.trachomatis Ig-M düzeyleri, kültür negatif gruba oranla oldukça yüksek bulunmuştur(12). Üretritle ilgili dizürü ve üretral akıntı yakınmaları başlamadan önce 7-21 günlük inkübasyon dönemi vardır. Fizik Muayene'de(FM), üretral akıntı dışında bölgesel lenfadenomegali(LAM) tesbit edilebilir.

Hastalarda meatal penil lezyonların varlığı herpetik üretriti düşündürmelidir. Ayrıca tuşe rektalde anormal prostat bulgularının olması genellikle başka patolojiler lehinedir.

C.trachomatis'e bağlı olan NGÜ'ler genellikle asemptomatik seyreder. Semptomu olan olgularda ise belirtiler gonokoksik üretrite oranla daha hafiftir.

Non gonokoksik üretrit'e benzer klinik tablo oluşturan, postgono-
koksik  retrit (PG ) olguların da C.trachomatis olaya iştirak edebilir(13).
Postgonokoksik  retrit tesbit edilen olgular da etken, gonokoksik üretrit teda-
visinden sonra hastaya bulaşmış olabileceği gibi, iki infeksiyon aynı anda da
bulunabilir.

Akut epididimit; inflamasyon ağrı ve şişlikten oluşan klinik bir tab-
lodur(13). Yapılan klinik çalışmalarda akut epididimitlerin %55-60'ının
idiyopatik olduğu ve bunun da sıklıkla steril idrarın vas deferensden,  retrova-
sal reflüsüne bağlı şimik inflamasyon sonucu geliştiği d ş n lmekteydi(14).

Bununla birlikte yapılan çalışmalar da, akut idiyopatik epididimiti
olan olguların büyük bir bölümünde NG  tesbit edilmesi dikkatleri bu yöne
ekmiştir(15,16,17,18,19). Harnisch, daha önce idiyopatik epididimit tanısı
almış olguların %67'sinin  retasında C.trachomatis'i izole etmiştir(13).
Berger ve ark., daha önce idiyopatik epididimit tanısı almış seksüel aktif genç
erkeklerde C.trachomatis varlığını göstermiştir(19). Bu olguların yarından fazla-
sı 35 yaşın altında olup, bu yaşın üstündeki vakalarda genellikle koliform bak-
teriler suçlanmaktadır(20).

C.trachomatis'in etken olduğu epididimit olgularında skrotal ağrı, şiş-
lik ve hassasiyet ile birlikte hafif derecede ateş görülebilir. Bu hastaların büyük
oğunluğu tetrasiklin tedavisine dramatik olarak yanıt verir.

Nonbakteriyel prostatit tanısı almış hastaların %13'n n serum ve
prostat sekresyonlarında C.trachomatis'e karşı antikor tespit edilmiş olmasına
karşın yapılan hücre kültürlerinde etken izole edilememiştir (21). Bu durum

prostat sıvısında bulunan çinko ve sperminin antiklamidyal etkisine bağlanmaktadır(22). Fakat diğer taraftan Nilson ve ark. sitolojik olarak prostatit tanısı almış akut üretritli 26 hastanın prostat sekresyonunda etkeni izole etmişlerdir(15). Ayrıca *C.trachomatis* özellikle erkeklerde Reiter sendromundan sorumlu tutulmaktadır.

Kadınlarda ise, *C.trachomatis*'in normal vaginal floraya ait olmayan bir patojen olduğu kabul edilmektedir. Enfekte kadınlar, enfeksiyonun başlıca rezervuarıdır. Kadınlardaki genital *C.trachomatis* enfeksiyonlarının genellikle asemptomatik seyretmesine karşın, mikroorganizma serviks, üretra ve anal kanalda yerleşebilir. Bu odaklardan fallop tüplerine ve diğer genital organlara yayılabilir. Mikroorganizmanın en çok yerleştiği bölge serviksteeki kolumnar epiteldir ve burada mukopürülan servisit neden olmaktadır. Ağrılı cinsel ilişki, postkoital ağrı ve menstrual siklus ortasında meydana gelen kanamalar mukopürülan servisit önemli belirtilerdir.

Tedavi edilmeyen kadın olgularda dış gebelik veya infertilite ile sonuçlanan tubal tıkanma, kronik pelvik ağrı, perihepatit (Fitz-Hugh-Curtis sendromu) ve peritonit gibi komplikasyonların gelişme riski yüksektir.

Cinsel yolla bulaşan hastalıklar (CYBH) kliniğinde yapılan çalışmalarda dizürü, pollakürü ve pelvik ağrı gibi irritatif miksiyon belirtileri olan kadın olgularda en sık izole edilen etken *C.trachomatis*'dir(22). Fakat gelişmemiş ülkelerde genellikle *C.trachomatis* ile birlikte, gonokok enfeksiyonlarının da bulunduğu bifazik üretrit olguları ile daha sık karşılaşılmaktadır.

F. Klamidya İnfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı:

C.trachomatis infeksiyonlarını tanısın da klinik tanının yanı sıra laboratuvar tanı da oldukça önemlidir. Tanıda kullanılan yöntemler 5 grupta toplanmaktadır(22,23,24).

1. İzolasyon

Laboratuvar tanıda en güvenilir yöntem (gold standart) hücre kültürüdür. Diğer tanı yöntemlerinin doğrulanması amacıyla referans yöntem olarak kullanılmaktadır. C.trachomatis embriyonlu yumurtanın sarı kesesinde üretilmektedir(24,25,26). Ancak bu yöntemin duyarlılığı düşük ve uygulanabilirliği oldukça zordur.

Hücre kültürünün duyarlılığı ve özgüllüğünün yüksek olması bazı faktörlerin titizlikle uygulanmasına bağlıdır. Bunlar sırası ile:

a. Uygun muayene materyali

Etken izolasyonunda uygun muayene örneği infeksiyonun durumuna göre serviks, üretra, konjuktiva, rektum ve boğazdan alınan sürüntüler ile lenf nodu biyopsisi yada aspirasyonudur. İdrar, kan, dışkı ve vajinal sekresyon uygun muayene maddeleri değildir(23).

b. Kullanılan Eküvyonun Özelliği

Kullanılan eküvyonun tipi izolasyonda oldukça önemlidir. Bu amaçla dakron uçlu eküvyonlar son yıllarda kullanıma girmiştir.

c. Muayene örneğinin alımı

Serviks *C.trachomatis*in üremesi için uygun hücre tipi olan kolumnar epitel hücrelerine sahiptir. Vajinal bölgede ise etkene duyarlı olmayan yassı epitel hücreleri bulunmaktadır. Bu nedenle örnek serviksten alınmalıdır. Materyal alınmadan önce hastaların son yedi gün içinde antibiyotik kullanmamaları ve erkek olguların son 2-3 saat içinde idrara yapmamış olmaları sağlanmalıdır.

Kadınlardan materyal alınmadan önce serviks dış ağzında bulunan mukus steril bir eküvyonla temizlenmelidir. Daha sonra serviks içine 3-4 cm. sokulan diğer eküvyon 5-10 sn. döndürüldükten sonra vajinal duvara değdirilmeden taşıyıcı besiyeri içine konulmalıdır.

Erkeklerde Üretraya 2-3 cm sokulan eküvyon 5-10 sn döndürüldükten sonra taşıyıcı besiyeri içine konulmalıdır.

d. Transport ortamı

Alınan muayene maddesi klamidyalara için toksik olmayan, bakteri ve mantarları inhibe edecek(%0.01 thioyomersal) uygun antimikotik ve antibakteriyel içeren taşıyıcı besiyerine konularak saklanmalıdır. Örnekler +4C de 7 gün -20 ile -70C'de ise uzun süre(1 yıl) saklanabilir(25,26).

e.Uygun hücre ortamı

Kullanılan hücre kültürü izole edilmek istenen türe göre değişmektedir. C.trachomatis'in izolasyonunda en çok kullanılan hücre tipi McCoy hücreleridir. Ayrıca HeLa-229., BHK-21 gibi hücrelerde izolasyon amacıyla kullanılmaktadır. McCoy hücrelerinin sikloheksimit ile muamele edilmesi izolasyon şansını arttırmaktadır(26).

f.Besiyerinin özelliği

Klamidya izolasyonunda %5-10'luk fetal sığır dana/serumu 0.05 glukoz ve 2 mM L.-glutamin ihtiva eden pH:7.2-7.4 arasında değişen modifiye besiyeri (Eagle MEM) uygun ortamı oluşturmaktadır. Temel olarak kullanılan bu besiyeri her laboratuvarın kendi prensipleri doğrultusunda modifiye edilmektedir(26,27,28).

g.Sekonder pasaj

Klamidya izolasyonunda şüpheli muayene maddesi hücreler ile kaplı lamelli tüplere (Shell vials) yada titrasyon kuyucuklarına ekilmektedir. Ekilen materyalin 2500-3000 devirde santrifüj edilmesi hücrelerin inokulasyonunu kolaylaştırmaktadır.

Alınan materyalin çift ekilmesi ve inkübasyon sonrası birinin boyanarak inklüzyonların araştırılması, diğerinin ise sekonder pasaj yapılması tanı için oldukça önemlidir(28).

h.Sonuçların yorumlanması

C.trachomatis inklüzyonlarının belirlenmesinde Giemsa yada iyot boyama yöntemi kullanılmaktadır. Ancak sonuçları değerlendiren kişinin deneyimsiz olması, bazı boya kalıntılarını yada boyanmış ölü hücreleri inklüzyon şeklinde yorumlamasına neden olabilir. Bu nedenle sonuçları değerlendiren kişinin uzman ve deneyimli olması tanıda önemlidir.

2.Sitoloji

C.trachomatis ile infekte doku örneği doku kazıntısı ile alınarak karakteristik intrastoplazmik inklüzyonlar aranır. Bunun için en iyi örnek servikste bulunan kolumnar epitel hücreleridir. Trahomda ise muayene materyalinin gözde üst forniksten alınması daha uygundur. Alınan örnek Giemsa, DFA ve iyodin ile boyanarak glikojen içeren inklüzyonlar aranır. Özellikle Giemsa boyası inflamatuvar cevabın gösterilebilmesi için önem taşır. Trahomda görülen ve Leber hücreleri olarak bilinen dev hücreler örnek olarak verilebilir(29).

Laboratuvar imkanlarının sınırlı olduğu bölgelerde laboratuvar tanıda antijen saptayan testler ile sitolojik olarak materyalin Giemsa yöntemi ile boyanması ayırıcı tanıda oldukça faydalıdır.

3. Antijen tayini

Bu amaçla EIA, DFA, polimerase chain reaction (PCR) ve N-PCR sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan çok sayıda çalışmada EIA'nın duyarlılığının %90-95, özgüllüğünün ise %92-97 olduğu belirlenmiştir (29). DFA için duyarlılık %90-92, özgüllük %96-98 olarak bildirilmektedir(29). Son yıllarda hızlı testler olarak isimlendirilen ticari kitlerin temeli EIA prensibine dayanmakta ve 10-15 dakika(dk) gibi kısa sürede alınan materyalden lipopolisakarit(LPS) antijeni saptanmaktadır.

4. Seroloji

Klamidya infeksiyonlarının serolojik tanısında kullanılan başlıca yöntemler EIA, IF (direkt, indirekt) ve mikro-IF yöntemleridir. Kanda ve diğer muayene materyalinde C.trachomatis'e spesifik Ig-G'lerin belirlenmesi epidemiyolojik çalışmaların değerlendirilmesinde önem taşımaktadır. Ayrıca alınan materyalde C.trachomatis'e karşı oluşmuş Ig-M ve Ig-A antikorları araştırılabilir.

G. Klamidya İnfeksiyonlarının Tedavisi

Klamidyalardan neden oldukları genital infeksiyonlarda temel ilke eşlerin birlikte tedavi edilmeleridir. Bu amaç için en çok kullanılan antibiyotik tetrasiklinlerdir. En ideal tedavi 10 gün süre ile, günde 2 gr tetrasiklin verilmesi olup alternatif tedavi yöntemleride mevcuttur. Yine aynı gruptan olan dosasiklinin ilk gün 200 mgr, daha sonra 7 gün süre ile günde 100 mgr verilmesi oldukça etkilidir(29). Eritromisin hamile ve emzikli kadınlar, yenidoğanlar ve 8 yaşına kadar olan çocuklarda tercih edilebilir. Eritromisin erişkinlere 14 gün

süre ile, günde 2 gr verilebilir. Kinolonlardan oflaksasin 7-10 gün süre ile, günde 200-400 mgr dozunda tedavide kullanılabilir alternatif ilaçlardır.

Klinik olarak NGÜ, PGÜ, epididimit ve gonore kliniği olan erkekler ile mukopürülan servisit, akut salpenjit ve gonore tanısı almış kadınlar tedavi kapsamına alınmalıdır.

Olgulara uygulanacak tedavi rejimleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Klamidyal infeksiyonların tedavisi

.Doksisiklin	Oral	2x100 mg/gün	7 gün süreyle
.Azitromisin	Oral	1 gr	tek doz
.Alternatif Tedavi			
.Ofloksasin	Oral	2x200-400 mg/gün	7 gün süreyle
.Eritromisin	Oral	4x500 mg/gün	7 gün süreyle

BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 1.2.1996-1.10.1996 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği ile Üroloji Poliklinik'lerine başvuran 60 servisit yakınmalı kadın, 60 üretrit yakınmalı erkek olgudan muayene materyali alındı. Kontrol gurubu olarak hasta olmayan fakat aile planlaması amacıyla Ana Çocuk Sağlığı(AÇS) kurumuna başvuran 20 kadın ve sağlıklı Polis Koleji öğrencilerinden oluşan 20 erkek seçildi. Tüm numunelerde EIA ve DFA metodu ile C.trachomatis antijeni araştırıldı. Tüm olgu ve kontrol gruplarından alınan örneklerden ayrıca direkt preparat yapılarak gram boyama yöntemi ile lökosit bulundurma açısından değerlendirildi.

.Olguların Hazırlanması:

Tüm olgu ve kontrol gruplarının örnek alınmadan önce 7 gün süreyle antibiyotik kullanmamaları ve ayrıca erkek olguların son iki saat içinde idrar yapmamaları sağlandı.

I.Örneklerin Alınması

a.Servikal örnek alınması

.Serviks dış ağzını örten mukus katmanı steril eküvyonla silindi.

.Dakron uçlu diğer eküvyonla servikal kanala 2-3 cm girildi.

.Ekseni etrafında epitel alacak derecede 5-10 sn döndürülen eküvyon vajinal duvara değdirilmeden Syva Micro-Trak- II kitine ait %0.01 lik thiyomersal ihtiva eden taşıyıcı besiyeri içine konuldu.

b.Üretral örnek alınması

Dakron uçlu eküvyonla üretraya 3-4 cm girildi. Epitel alacak derecede ekseni etrafında 5-10 sn döndürülen eküvyon yukarıda belirtilen taşıyıcı sıvı içine konuldu.

c.Örneklerin Saklanması

Alınan muayene materyali -20 C'de en fazla 1 ay süreyle muhafaza edildi.

2.EIA reaktiflerinin hazırlanması

.Antikor reaktifi, örnek solüsyonu, enzim-antikor konjuge sistemi ve durdurma solüsyonu hazır durumda kit içerisinde mevcuttu.

.Substrat solüsyonu;

-Substrat A : Üre, hidrojen peroksit, sitrat tampon sistemi ihtiva eder.

-Substrat B :3,3',5,5' tetrametil benzidin içermektedir.

Deney devam ederken önce B, daha sonra A substratı eşit miktarda konuldu ve bu iki solüsyon kombine olarak çalıştırıldı.

.Konsantre yıkama solüsyonu: Sitrat tampon sistemi, non iyonize deterjan ihtiva eder.

.Muayene örneği ve Kontrollerin Hazırlanması

-Alınan muayene materyaline 1 mL örnek solüsyonu ilave edildikten sonra 1 dakika süreyle vortekslendi.

-Pozitif kontrol tüpüne 100 mikro-L pozitif kontrol solüsyonu(EB ve %0.01'lik thiomersal içerir) konuldu. Daha sonra 1mL örnek solüsyonu ilave edilerek 1 dk süreyle vortekslendi.

-Negatif kontrol tüpüne 100 mikro-L negatif kontrol solüsyonu (%0.01'lik Na-asit) konuldu. Diğer işlemler pozitif kontroldeki gibi yapıldı.

.Hazırlanan örnek ve kontroller 15 dk süreyle su banyosunda 95-100 santigrat derecede uygun spor içinde inkübe edildi.

.İşlem sonunda tüm tüpler 10 dk oda ısısında soğumaya bırakıldı.

.Bu işlemlerden sonra deney kit prospektüsüne uygun olarak aşağıdaki gibi devam ettirildi.

1.Pipetaj yapılarak her kuyucuğa 100 mikro-L antikor reaktifi(anti-klamidyal tavşan Ig'nü) konuldu.

2.Hazırlanmış örnek ve kontrollerden 100 mikro-L ilave edildi. Plak bu aşamada 37 C'de 90 dk inkübe edildi.

3.Inkübasyon sonrası plak 5 kez yıkandı.

4.Yıkamayı takiben her kuyuya pipetaj yardımıyla 100 mikro-L enzim antikor konjuge solüsyonu(anti-tavşan Ig'nü) konuldu. Plak bu işlemi takiben 37 C'de 30 dk inkübe edildi.

5.Inkübasyon sonrası plak 5 kez yıkandı.

6.Her kuyuya 50 mikro-L substrat B ve daha sonra aynı miktarda substrat A konuldu. Plak 37 C'de 30 dk bekletildi.

7.Son aşamada her EIA kuyucuğuna 100 mikro-L durdurma solüsyonu (1N H₂SO₄) konularak reaksiyon durduruldu ve oluşan renk değişimi kolorometrik okuyucuda 450 nm dalga boyunda okundu.

.Sonuçların değerlendirilmesi:

.Negatif kontrollerin absorbans ortalaması, total absorbans , ortalama absorbans değerleri ve eşik değer (cut off) aşağıdaki gibi belirlendi.

.Negatif kontrol kuyucuklarının (A,B,C) absorbans değerleri toplanarak total absorbans değeri bulundu. $A+B+C =T_a$ (total absorbans)

.Bulunan değer (T_a) negatif kontrol sayısına bölünerek ortalama absorbans değeri bulundu. $T_a/3 =T_o$ (ortalama absorbans)

.Ortalama absorbans değeri(T_o), kit sabit katsayısı olan 0.200 ile toplanarak eşik değer bulundu. $T_o+0.200$.Bu değerin üstünde olan sonuçlar pozitif olarak değerlendirildi.

3.DFA reaktiflerinin hazırlanması

.Reaktif 1: C.trachomatis direkt örnek reaktifi(Fluoresan ile işaretli C.trachomatis'e spesifik monoklonal maymun İg'ü ve evans blue).... 1x2 mL

.Reaktif 2: Çözme solüsyonu(%0.01'lik Na-asit ve deiyonize su)..... 1x5 mL

.Reaktif 3: Mounting çözeltisi(PIH 9.4 fosfat tamponu ve gliserol)..... 1x5 mL

Reaktif 2'den 2mL alınarak reaktif 1'e ilave edildi. Bu işlem sonrası monoklonal antikor kullanıma hazır hale getirildi. Test ayrıca 10 adet kontrol preparatı(+,-) içermektedir. Test kit prospektüsüne göre aşağıdaki gibi yapıldı.

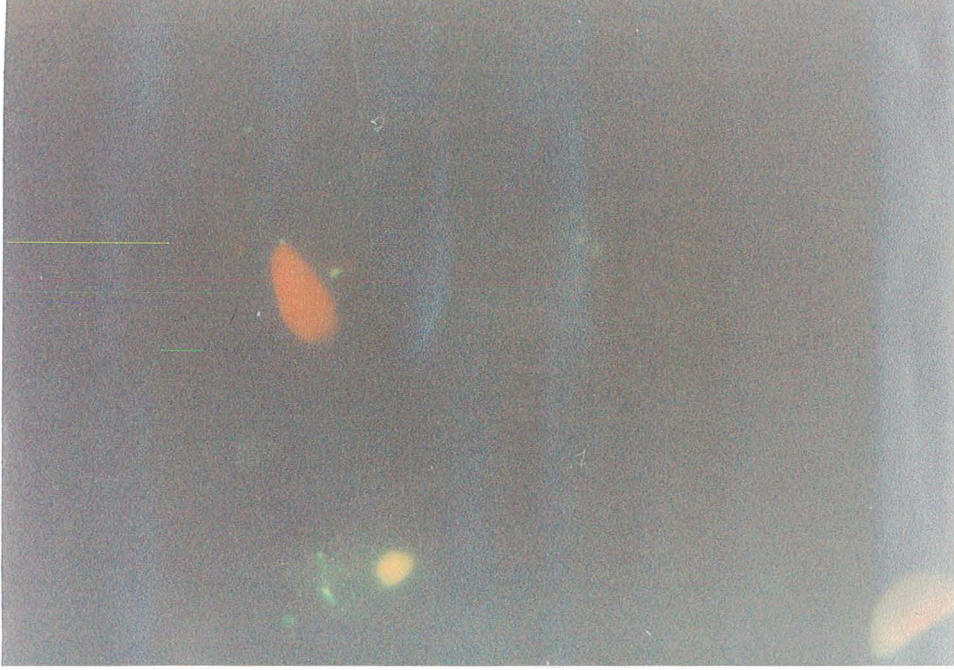
- 1.Syva kitine ait özel lam üzerine eküvyon yuvarlandı.
- 2.Preparatlar kurutulduktan sonra asetonla tesbit edildi.
- 3.Tesbit edilen materyal üzerine 30 mikro-L monoklonal antikor konularak nemli petri kutusu içinde 15 dk inkübe edildi.
- 4.Distile su veya fosfat tamponlu su ile yıkanarak oda ısısında kurutuldu.
- 5.Lam üzerine bir damla mounting solüsyonu damlatılarak lamelle kapatıldı.
- 6.Lamel üzerine immersiyon damlatılarak fluoressan mikroskopta 1x40'lık objektifle değerlendirildi.

.Sonuçların değerlendirilmesi

Kolumnar epitel hücresi içermeyen preparatlar değerlendirmeye alınmadı. Bir mikroskop sahasında 5 ve daha fazla EB(elma yeşili refle veren) içeren örnekler pozitif olarak değerlendirildi. Her preparat 5 dk'dan fazla incelendi. Şüpheli örnekler 1x100'lük objektif ile yeniden incelendi.

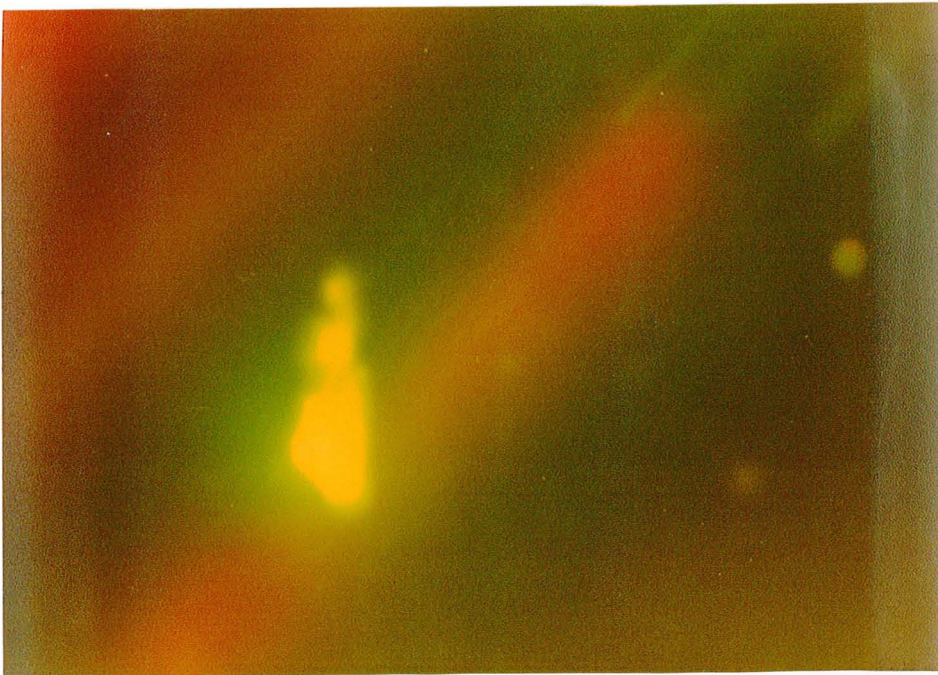
Fotoğraf 1'de DFA metodu ile 32 yaşındaki bir kadın olguya ait pozitif preparat örneği görülmektedir.

Fotoğraf 1: C.trachomatis elementer cisimcikleri (1000x)



Fotoğraf 2’de DFA metodu ile negatif bir preparat örneği görülmektedir.

Fotoğraf 2: (1000x)



BÖLÜM 4

BULGULAR

EIA ve DFA ile 160 muayene materyali değerlendirilmiş, EIA ile kadın olguların 12'sinde(%20), erkek olguların 5'inde(%8.33), DFA ile kadın olguların 10'unda (%16.6) ve erkek olguların 5'inde (%8.33) antijen pozitifliği bulunmuştur. Her iki cinse ait kontrol gruplarında pozitif sonuca rastlanmamıştır. Tablo 3 antijen pozitif olguları göstermektedir.

Tablo 3. Olgu grupları ve antijen pozitif olguların gruplara göre dağılımı

Hasta grubu	Olgu sayısı(n)	EIA + olgular,	DFA + olgular	Ortalama
Kadın olgu	60	12 (%20.0)	10 (16.6)	11 (%18.3)
Erkek olgu	60	5 (%8.33)	5 (%8.33)	5 (%8.33)
Kontrol kadın	20	-	-	-
Kontrol erkek	20	-	-	-

Olgu gruplarına ait yaş ortalaması kadınlarda 30.70 ± 5.66 , erkekler de 25.47 ± 6.27 , kadın kontrol grubunda 30.56 ± 2.33 , erkek kontrol grubunda ise 26.28 ± 4.32 idi.

Tablo 4’de antijen pozitif olguların yaş gruplarına göre dağılımı görülmektedir.

Tablo 4. Antijen pozitif olguların yaş gruplarına göre dağılımı

Olgu (n)	Kadın olgu	Erkek olgu	Kontroller(K ve E)
15-20 yaş	-	1 (%20)	-
21-25 yaş	1 (%16.6)	2 (%40)	-
26-30 yaş	6 (%49.9)	2 (%40)	-
31-35 yaş	2 (%16.6)	-	-
36-40 yaş	2 (%16.6)	-	-
41 ve ↑	-	-	-

Buna göre antijen pozitif kadın olguların %49.9’u 25-30 yaş grubu içinde bulunurken, erkek olguların %40’ı 21-25 yaş, %40’ı 26-30 yaş, geri kalan %20’lik bölümü ise 15-20 yaş grupları içinde bulunmaktadır.

Antijen pozitif kadın olguların %66'sında adet düzensizliği, %54'ünde pelvik ağrı, %25'inde servikal ektazi ve tümünde servikal mukoid akıntı gözlenmiştir. Antijen pozitif 5 erkek olgunun tümünde üretral mukoid akıntı yapılan fizik muayenede(FM) tesbit edilmiştir. Tablo 5'da antijen pozitif olgular da görülen FM bulguları gösterilmiştir.

Tablo 5. Antijen pozitif olgularda görülen FM bulguları

Bulgular	Servikal ektazi	Mukoid akıntı	Pelvik hasasiyet	Adet düzensizliği
Kadın olgu (n)	3 (%25)	12 (%100)	7 (%54)	8 (%66)
Erkek olgu (n)	-	5 (%100)	-	-
Kadın kont. (n)	-	-	-	-
Erkek kont. (n)	-	-	-	-

Yapılan preparat boyamada(gram boyama) her sahada 20 ve daha fazla polimorf nüveli lökosit (PNL) görülmesi servisit ve üretrit olarak değerlendirilmiştir.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Organizmada *C.trachomatis* infeksiyonlarının en sık görüldüğü yer servikste bulunan kolumnar epitel hücreleridir(30). Endoservisit tanı ve tedavisinin gecikmesi pelvik inflamatuvar hastalık (PIH) gelişmesine neden olmaktadır. Pelvik inflamatuvar hastalık (PIH) olgularının %30-60'ından *C.trachomatis* sorumlu tutulmaktadır(31). PIH epizotları, birinci infeksiyondan sonra %13.2, ikinci infeksiyondan sonra %20, üçüncü infeksiyondan sonra %75 oranında tubal oklüzyon ve infertiliteye yol açmaktadır(31).

Ghiardini ve ark. kitle tarama çalışmalarında *C.trachomatis* infeksiyon prevalansını kadınlarda %3.6-6 olarak bildirmişlerdir(32). Washington Üniversitesi'nden Moncado ve ark., 2891 asemptomatik kadın olguda %9.2, Thewessen ve ark. ise benzer şekilde Hollanda'da yaşayan semptomsuz kadın olgularda EIA ile %9.4'lük antijen pozitifliği bulmuşlardır(33,34).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda, Köksal ve ark., EIA ile kadınlarda %22.68, erkeklerde %7.27, hayat kadınlarında %4.81 ve kontrol grubunda %2.66 antijen pozitifliği bulmuşlardır(35). Dereli ve ark., İzmir bölgesinde yapmış oldukları çalışmada *C.trachomatis*'e bağlı infeksiyon insidansını; asemptomatik kadınlarda %23-27.3, genitoüriner yakınmaları kadınlarda %32-42 infertil kadınlarda %8.5-11.5 ve genelev kadınlarında ise %25.4 olarak bulmuşlardır(6). Benzer çalışmada Ağaçfidan ve ark. asemptomatik kadın olgularda *C.trachomatis* antijen pozitifliğini %21-24.3, genitoüriner yakınmalı kadınlarda ise %26-28.7 olarak tesbit etmişlerdir(22).

Erkek infertilitesinin nedeni olarak infeksiyöz etiyoloji, üzerinde önemle durulan araştırma konusu olmuştur. Üretra ve prostattan değişik patojenler assendan yolla yayılarak epididimit tablosuna neden olmakta, bunun sonucu gelişen skar ve obstüksiyon infertiliteye yol açmaktadır(31).

Amerika Birleşik Devletlerin'de (ABD) her yıl yaklaşık 600.000 akut epididimit tanısı konulmakta ve bu olgularda C.trachomatis'in önemli etiyolojik etken olduğu düşünülmektedir(34).

Yapılan çalışmalara bakılacak olursa, C.trachomatis ürogenital sistem infeksiyonu içinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Klamidiyal servisitlerde en sık gözlenen klinik bulgular mukoid akıntı, kasık bel ağrısı ve servikal erozyondur. Erkeklerde ise üretral mukoid akıntı major bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bizim olgu gruplarımızda tesbit ettiğimiz bulgular yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Kaygusuz ve ark., EIA ile C.trachomatis sıklığını gonokokal üretritlerde %8.8 nongonokokal üretritlerde ise %13.4 oranında bildirmişlerdir (36). Yılmaz ve ark., EIA ile ürogenital infeksiyonu olan kadınlarda %22.1, erkeklerde %12.7, infertil kadın ve erkek olgu grubunda %6.2, hayat kadınlarında %44.32 ve kontrol grubunda %2.3 pozitiflik bulmuşlardır(30). Bizim elde ettiğimiz %20'lik antijen pozitifliği ülkemizde elde edilen sonuçlara yakındır.

Semptomlu erkeklerde saptadığımız %8.33'lük oran Köksal ve ark.'nin bulguları ile aynı düzeydedir(35). Ancak sempomlu erkeklerde bulduğumuz bu oran ABD ve çeşitli Avrupa ülkelerindeki verilerle karşıla-

tırıldığında oldukça düşüktür. Kanımızca bu fark toplumlar arası ahlak anlayışının ve değer yargılarının değişken olmasından kaynaklanmaktadır. Kontrol olgu grupları için de aynı durum söz konusudur.

Diğer bir antijen tarama yöntemi olan DFA metodu, deneyimli mikroskopist ve standardize edilmiş reaktiflere gereksinim duyar.

Bazı araştırmacılar genital sistem infeksiyonları ile anti-sperm antikor arasında bir ilişki olduğunu öne sürmüşlerdir(31). İnfeksiyonun bilateral obstrüksiyona neden olması immünolojik teoriyi düşündürmektedir(31). İncelenen olgularda infertil 122 olgunun 3'ünde(%2.4) C.trachomatis antijeni pozitif bulunurken, 2 olguda oligo-spermi, 1 olguda normal spermiyogram bulguları saptanmıştır(37).

Erkek infertil olgu gruplarında C.trachomatis ile ilgili az sayıda çalışma olmasına rağmen, Close ve Wang infertil erkeklerde C.trachomatis'e karşı oluşmuş antikor prevalansını %5.9 olarak bulmuşlardır(38).

C.trachomatis infeksiyonunun yol açtığı sekelleri önlemenin en etkin yöntemi risk gruplarının önceden taranmasıdır. Çünkü asemptomatik infeksiyonlar ileride sağlığını çok güç sorunlara yol açabilmektedir. Tüm gonoreli olgular, mukopürülan servisitli, üretral sendromlu, PII'li kadınlar konjunktivit ve pnomonili yeni doğanlar, tüm gebe kadınlar, cinsel aktif birden fazla partneri olan kişiler klamidya tarama programına alınmalıdır.

Toplum sağlığını ileri derecede tehdit eden klamidyal infeksiyonların rutin tanı ve tarama programlarına alınması son derece önemlidir. Bu amaçla EIA ve DFA metotları kullanılabilir.

BÖLÜM 6

SONUÇLAR

1. Toplumda belirti vermeyen olguların yaygın oluşu nedeniyle klamidyal enfeksiyonların laboratuvar tanısına gereken önem verilerek tarama programları geliştirilmelidir.
2. İnfertil olgu grupları genital klamidyal enfeksiyonlar yönünden mutlaka araştırılmalıdır.
3. Semptomu olan olgular, tedavi şemasına uygun olarak tedavi ve gözlem altına alınmalıdır.
4. Tanı konulan hastaların eş ve/veya partnerlerinin tedavileri zorunludur.

BÖLÜM 7

ÖZET

Bu çalışmada, genitoüriner sistem şikayeti olan 60 kadın, 60 erkek olgu ile hiçbir yakınması olmayan 20 kadın ve 20 erkekte alınan servikal ve üretral muayene materyalinde EIA ve DFA ile *C.trachomatis* infeksiyonu araştırıldı. EIA ile kadınlarda %20.0, erkeklerde %8.33, DFA ile kadınlarda %16.6, erkeklerde %8.33 antijen pozitifliği tesbit edildi. Kontrol grubunda pozitiflik yoktu. Çalışmanın sonuçları diğer kaynaklardaki bilgilerle karşılaştırılarak tartışıldı.

SUMMARY

In this study, *C.trachomatis* antigen has been detected by the EIA and DFA in the clinical materyal from 60 women, 60 men with genitourinary system complaints and 20 women, 20 men with no complaints. It was found to be positive in 12(%20) women and 5(%8.33) with EIA, 10(%16.6) men with DFA from the patients group. It was found no positive in the controls group. The results of the study were discussed and compared with related literature.

KAYNAKLAR

1. Cates WJr., Wasserheit JN: Genital chlamydial infections. Am J Obstet Gynecol 164 (G pt 2) Jun, 1991.
2. Aral S., Holmes KK, Jurgan GN: Epidemiology of sexually transmitted diseases (STD). Scientific American: Medicine Special issue p.118-21,1993.
3. Schachter J: Epidemiology of chlamydial infection. Identifying high risk populations.STD Update. 1:2,7, 1988.
4. Schachter J: Chlamydial infectious. West J Med. 153 :523-27, 1990.
5. Dawson CR: Chlamydial infections, worldwide problem.Sex Transm Dis.8:167 (Suppl), 1981.
6. Serter D, Dereli D, Ertem E: Endoservikal örneklerde Klamidya trachomatis antijeninin DIF ile araştırılması. APMIS 99:961-64,1991.
7. Arıkan S, Tunçkanat F, Tekin A, Erkan İ: Üretral akıntı ile başvuran hastalarda mikrobiyolojik etkenlerin araştırılması. Mikrobiyoloji Bült. 31:21-28,1997.

8. Newhall WJ and Jones BR: Disulfide-linked oligomers of the major outer membrane proteins (MOMP) of Chlamydia. *J Bacteriol.* 154:998, 1983.
9. Rubin SJ: *Clinical and pathogenic microbiology* 1. Ed, p.154-59 1987.
10. Aral SO, Holmes KK: *Epidemiology of STD. Sex Transm Dis.* New York, McGraw-Hill Book Co., 1984.
11. Coufalik ED, Taylor-Robinson D, Csonka GW: Treatment of NGU with rifampicin as a means of defining the role of *U. ureolyticum*. *Br J Vener Dis.* 55:36, 1989.
12. Terho P: *C. trachomatis* in non specific urethritis. *Br Med J.* 5:93, p144-48, 1988.
13. Harnisch JP, Berger RE, Alexander ER, Monda G, Holmes KK: Etiology of acute epididymitis. *Lancet* 1:819, 1987.
14. Moller BR, Mardh PA: Experimental epididymitis and grieved monkeys provoked by *C. trachomatis*. *Fertil Steril* 34:275, 1980.
15. Nilson S: Isolation of *C. trachomatis* from the uretra and from prostatic fluid in men with signs and symptoms of acute urethritis. Thesis. *Acta Dermatovener.* (Suppl.93), 1981.

33. Moncado R, Jurgen GH, Smith DW: Detection of C.trachomatis antigen by EIA in patients with endocervicitis. Lancet. 26:1409-411, 1987.
34. Thewessen G, Monda GD: C.trachomatis infections in Holland populations. J Clin Mic.4:2245-48, 1982.
35. Köksal F, Gülmezoğlu E, Akan E, Özkan K: Genitoüriner sistem infeksiyonlarında EIA ve Giemsa boyama yöntemleri ile Klamidya trachomatis araştırması. Mikrobiyoloji Bült. 20:129-38, 1987.
36. Kaygusuz A, Selim B, Ander H, Çetin ET: İstanbul'da üretrit olgularında etkenlerin dağılımı. Türk Mik Cem.Derg. 17:116-24, 1987.
37. Wolner-Hansen P, Mardh PA: İnvitro tests of the adherence of C.trachomatis to human spermatozoa.Fertil Steril. 42:102, 1984.
38. Close JK, Wang L, Cates W: Causes of the acute urethral syndrome. N Eng J Med.303:409, 1980.