

T.C.  
OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

CHLAMYDIA PNEUMONIAE  
İLE ATEROSKLEROTİK KALP HASTALIKLARI  
ARASINDAKİ İLİŞKİ

UZMANLIK TEZİ

Dr.Aydın AYDINLI

Eskişehir-1999

Doç. Dr. 601 DURMAZ  
Dip. No. 84/089  
Mikrobiyoloji Uzmanı

T.C.  
OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

CHLAMYDIA PNEUMONIAE  
İLE ATEROSKLEROTİK KALP HASTALIKLARI  
ARASINDAKİ İLİŞKİ

UZMANLIK TEZİ

Dr.Aydın AYDINLI

Eskişehir-1999

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
BULGULAR.....	30
TARTIŞMA.....	43
SONUÇLAR.....	52
ÖZET.....	54
KAYNAKLAR.....	56

## 1.GİRİŞ

Çok değişik hastalık tabloları oluşturabilen klamidyaların son yıllarda yeni türleri ve bunların sebep olduğu yeni klinik formlar tanımlanmıştır. Yaklaşık 15 yıldır bilinen bir tür olan *C.pneumoniae*'nin farenjit, sinüzit, pnömoni gibi infeksiyonların etkeni olduğu bilinmektedir. Özellikle toplu yaşanan yerlerde 2-3 yılda bir epidemiler oluşturmaktadır. Epidemi olmayan yıllarda sözü edilen hastalıkların %5-7'sinden sorumlu iken, epidemi yaptığı yıllarda bu oran %45'e kadar çıkmaktadır. Özellikle çocuk ve adolesanlarda infeksiyonlar oluşturur. Çocuklarda antikor prevalansı 10 yaşından itibaren yükselmeye başlarken, Japonya 'da çocuklar arasında düşüktür. Dünya çapında orta yaştakilerin yaklaşık %50'sinde *C.pneumonia*'ya karşı antikor mevcuttur.

Son yıllarda *C.pneumoniae* infeksiyonlarının sarkoidoz, kronik obstrüktif akciğer hastalıkları, erişkin yaşta başlayan asthma ve aterosklerotik kalp hastalıkları ile beraber olduğuna dair bilgiler yayınlanmaktadır. Bu konudaki fikirler, koroner arter hastalığı olanlarda yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda *C.pneumoniae*'ya karşı antikor düzeylerinde artışların gösterilmesi ile başlamış ve daha sonraları *C.pneumoniae* içeren immün komplekslerin dolaşımında kontrollere göre daha fazla oluşu ile devam etmiş ve bu hastaların aterom plaklarında



*C.pneumoniae*'nin PCR gibi yöntemlerle gösterildiği günümüze kadar gelmiştir.

Klamidya infeksiyonlarının tanısında türler arasında farklı yöntemler kullanılmaktadır. *C.pneumoniae* tanısı, laboratuvarında mikroorganizmayı elde etmek zor olduğundan seroloji veya direkt antijen tespiti ile yapılır. Serolojik tanı, genellikle serokonversiyonun gösterilmesi veya IgG düzeylerindeki artışın EIA veya microimmunofluorescence (MIF) yöntemleri ile yapılır. Ancak EIA testlerinin kullanımı sınırlı olup seroepidemiolojik çalışmalar ve tanı amacı ile pek önerilmezler. MIF, özellikle *C.pneumoniae*'ya spesifik antikörleri tespit etmek için önerilmektedir.

Bu çalışmada, koroner kalp hastalıkları ile *C.pneumoniae* infeksiyonu arasındaki ilişki, EIA ve MIF testleri kullanılarak araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. TARİHÇE

Klamidyalar tarafından oluşturulan bazı hastalıklar çok eski zamanlardan beri bilinmektedir.Örneğin trahom, eski Mısır yazıtlarında ve Çin el yazmalarında anlatılmaktadır. Trahom, geçmişte Ortadoğu toplumlarında sık görülmüş ve savaşlar ile Avrupa'ya geçmiştir (1).

Cinsel temasla bulaşan lenfogradülozma venerum (LGV) da uzun zamandan beri bilinen bir hastalıktır. Tropikal bölge kuşları ile bulaşabilen nadir bir pnömoni olan psittakosis veya ornithosis, değişik kliniği olan yedi vakanın incelenmesi ile 1879 yılında İsviçre'de Ritter tarafından tanımlanmıştır (1,3).1894'te Paris'te Morange infeksiyon kaynağını papağanlar olarak tanımladı (*psittakosis*= papağan *Yunanca*, "Parrot fever")(2).1930'larda bu kuşların Güney Amerika'dan moda olarak Avrupa'ya getirilmesi ile oluşan pandemi sonucu bu hastalık daha fazla tanındı. Aynı yıllarda Londra hayvanat bahçesinde bir salgın esnasında etken mikroorganizma kuş ve hayvan dokularından Bedson isimli araştırmacı tarafından izole edildi. Bedson, filtre edilebilen bir ajan olduğundan ve hücre içine yerleştiğinden organizmayı bir virüs olarak değerlendirdi (1, 3).

1907 yılında, bir trahomludan alınan konjonktival materyal orangutanın konjonktival epitel hücrelerine inoküle edilmiş ve bu epitel hücrelerinde intrasellüler inklüzyon cisimcikleri gösterilmiştir (3). Daha sonraları benzer inklüzyonlar çocukların non-gonokokal oftalmilerinde (inklüzyon konjonktiviti) konjonktival epitel hücrelerde ve bu çocukların ebeveynlerinin genital örneklerde de görülmüş ve bunlara *chlamydozoaceae* adı verilmiştir (*Chlamys*=pelerin, manto *Yunanca*, hücre nukleusunun etrafında bir pelerin ile örtülü gibi göründüklerinden ve büyüklükleri nedeniyle de protozoa olarak tanımlandıklarından “mantolu hayvan” ya da “pelerinli hayvan” denmiştir) (2). 1930 yılında tanımlayan Bedson’a izafeten bir müddet *Bedsonia sp.*, bazen de *Chlamydozoon*, *Rickettsioformis*, *Prowazekia*, *Miyagawanella*, *Fevralea*, *Rakeia*, OLT ve PLT isimleri ile anıldılar (1).

1957 yılında trahomluların konjonktiva kazıntılarının ekildiği embriyonlu yumurtanın sarı kesesinde, 1965 yılında da hücre kültür ortamında üretilmiştir (1,3).Günümüzde klamidyelerin tanısında Enzyme Immun Assay (EIA), Polimerase Chain Reaction (PCR), Ligase Chain Reaction (LCR), direkt fluoresan antikor (DF), doku kültürü gibi yöntemlerden faydalanılmaktadır (1).

## 2.2. MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Klamidyalar küçük, zorunlu hücre içi bakteriler olup bifazik yaşam siklusları vardır. *Chlamydiales* takımının *Chlamydiaceae* ailesinin üyesi olup tek cinsleri (genus) *Chlamydia*'dır.Bu genusun dört türü vardır; *C.trachomatis*, *C.psittaci*, *C.pneumoniae* ve yeni tanımlanan *C.pecorum*.Bunlardan ilk üçü kesin insan patojeni olup *C.pecorum*'un

henüz insanda patojenliği saptanmamıştır (2). RNA ve DNA içerirler, bazı antibiyotiklere duyarlıdırlar, hareketsiz olup Gram boyama yöntemi ile zayıf ,ancak Giemsa, Casteñada, Gimenez ve Machiavello metodları ile daha kuvvetli boyanırlar. Çift iplikçikli DNA genomları vardır ve bu, yaklaşık 1 milyon nükleotid parçası ile 600 proteini kodlar. Prokaryotik tip RNA içerirler. Hücre duvarlarında iç ve dış sitoplazmik membranlar ile lipopolisakkarid (LPS) bulunur (4). Hücre duvar yapıları gram negatif bakterilerin hücre duvar yapısına benzer ancak peptidoglikan tabakaları yoktur (2,5). Osmotik basınca karşı koyma ve hücreye şekil verme gibi peptidoglikan tabakaya ait görevler muhtemelen başka bir yapı tarafından karşılanmaktadır (5).

Dış membran pek çok protein içerir ki bunlar arasında **major outer membrane protein (MOMP)**, klamidyä türleri arasındaki farklılıkları belirler ; tür, alt-tür ve serovar-spesifik antijenik domenleri vardır.*C.trachomatis*'in MOMP'i dört değişken ve beş karışık (serpişmiş şekilde iç içe geçmiş) sabit domenden oluşur. MOMP, hücrenin tüm ağırlığının %60'ını oluşturur. Klamidyal LPS, genus-spesifik LPS-protein kompleksinin bir komponentidir. İmmünodominant grubu 2-keto-3-deoxyoctanoic asittir. Bu madde, *Enterobacteriaceae* R mutantlarının core LPS'leri ile benzerdir ancak idantik değildir.MOMP 60 kDa ağırlığında olup ısı şoku (stress cevabı) proteini yapısındadır ve bu proteinin immünopatolojide rol oynayabileceği üzerinde durulmaktadır (4).

Klamidyalar gelişme siklusları esnasında proteinleri sentezlerler ancak ATP üretemezler ve bu nedenle de enerji ihtiyaçlarını karşılamak için konak hücrelerine bağımlıdırlar (enerji paraziti) (2).

Klamidyä suşlarının çoğu yaklaşık olarak 7.5 kilobase çiftlik kriptik plazmid içerirler.*C.tracomatis*'in pek çok farklı serovarından elde

edilen plazmidlerin sekansı sonucu 8-11 potansiyel protein-kodlayıcı gen gösterilmiştir. *C.trachomatis* ve *C.psittaci*'nin plazmidleri birbirlerinden ayırt edilebilir. Plazmidin fonksiyonu bilinmemekle birlikte tüm suşlar için gereksiz olduğunu gösteren herhangi bir bilgi de yoktur (2).

Klamidyaların diğer tüm mikroorganizmalarinkinden farklı bir yaşam siklusları vardır. İki morfolojik formları vardır; elementer cisim (EB) ve retiküler cisim (RB). EB, küçük sferik (veya *C.pneumoniae*'da armut şeklinde), 250-300 nm çapında göreceli olarak sağlam ve hücre dışı ortamda canlılığını devam ettirebilen ancak replike olamayan infeksiyöz partiküllerdir. EB'nin hücre duvarının rijit olmasının sebebi MOMP'ler ve pek çok sisteinden zengin protein arasındaki çapraz disülfid bağlarıdır. RB'ler ise daha büyüktür (800-1200nm), hücre içinde bulunurlar, metabolik olarak aktif ve replike olabilen, partiküllerdir. EB'lerde görülen çapraz disülfid bağları bunlarda kaybolmuştur (2).

EB'ler epitelyal hücreler de dahil olmak üzere duyarlı fagositleri infekte ederler. Spesifik hücre reseptörüne tutunmada henüz kesin olarak tanımlanamamış olmakla birlikte muhtemelen ısı ile değişen ,tripsine duyarlı bir protein aracılık etmektedir. Tür ve serovarlar arasında duyarlı konak hücrelerinin tipleri ve tutulma oranları değişiklikler göstermektedir. Örneğin *C.trachomatis*'in iki biovarı arasındaki dağılım farklıdır, *biovar trachoma* skuamokolumnar epitelyal hücreleri tercih ederken, *biovar lymphogranuloma venereum* (LGV) lenfoid hücreleri tercih eder (3). (Tablo 1).

**Tablo 1.** Klamidya türleri ve biovarlarının yerleştiği hücreler.

Tür, biovar	Konak hücresi
<i>C.trachomatis</i> biovar <i>trachoma</i>	Epitelyal hücreler
<i>C.trachomatis</i> biovar <i>LGV</i>	Monosit, makrofaj, değişik hücreler
<i>C.psittaci</i>	Monosit, makrofaj, değişik hücreler
<i>C.pneumoniae</i>	Makrofajlar, endotel hücreleri, değişik hücreler

Konak hücrelerine yapışmada bir veya daha fazla spesifik klamidyal adezinin rol oynadığı düşünülmektedir. Muhtemel adezinler de tanımlanmıştır ve bunlara karşı geliştirilen monoklonal antikolar EB'ye bağlanmalarını direkt olarak engelleyebilirler. Bunlar EB'nin MOMP'lerinde değişken domenlerdeki epitoplara olarak bulunmaktadır. 18 ve 31-32 kDa olan bu iki ökaryotik hücre bağlayan protein sadece EB'de oluşturulmakta, RB'de ise oluşturulmamaktadır. EB'nin hücre içine alınması fagositik ya da pinositik mekanizmaların herhangi biri ile olmakta ve tamamen konak hücrenin tipi ile EB'nin varlığının tanınmasına bağlıdır. Hücre içinde EB membrana bağlı vakuollerde görülür, endositik membranın klamidya-bağımlı modifikasyonu sonucu lizozomal füzyon ile tipik perinükleer intrasellüler inklüzyon cisimleri oluşur. Inklüzyonlar içinde EB'ler RB'lere dönüşürler bunlar da ikiye bölünerek tekrar EB'leri oluşturur ve inklüzyonun rüptürü ile hücreden dışarı atılırlar (3, 4).

### 2.3.TEDAVİ

Antimikrobiyallere suşlar arasındaki cevap değişikliği ve yeni gelişmeye başlayan ilaç direnci nedeniyle antibiyotik duyarlılık testlerinin klamidyalar açısından klinik kullanımı minimaldir (4). Klamidyalar, tetrasiklinler, makrolidler ve rifampisin gibi bazı antibiyotiklere duyarlıdırlar (3,4). *C.trachomatis*, sülfonamidlere duyarlı iken *C.psittaci* ve *C.pneumoniae* dirençlidir.Klamidyaların penisilin bağlayan proteinleri vardır ve penisilinler *in vitro* klamidostatiktirler, infeksiyonun tedavisinde sınırlı bir rol oynadıkları da bazı *in vivo* çalışmalarda gösterilmiştir (3).

### 2.4. YAPTIKLARI HASTALIKLAR

*C.trachomatis*'in üç biovarı mevcut olup, bunlar; trachoma, lymphogranuloma venereum (LGV) ve mouse pneumonitis'tir.İnsan biovarları genetik olarak birbirlerine çok yakın olmakla birlikte fare pnömonisi etkeni genetik olarak daha uzaktır. *C.trachomatis biovar trachoma*'nın 12 serovarı, *biovar LGV*'nin üç serovarı mevcuttur.Her ikisi de insan patojenidirler.Trachoma biovarları insanlarda değişik okülojenital infeksiyonlara neden olur, bunlar arasında körlüğe neden olan trahom (genellikle A-C serovarıları), cinsel geçişli genital infeksiyonlar, vertikal geçişli olabilen neonatal infeksiyonlar ve erişkin inklüzyon konjonktiviti (genellikle D-K serovarıları) vardır (3, 4).

*C.trachomatis*, kadınlarda üretrit, servisit, endometrit ve salpenjit gibi genital infeksiyonlar yapar. İnfeksiyon aslında kendini epitelyal yüzeylere sınırlar ancak konağın immun cevabı şiddetli inflamasyona ve özellikle tekrarlayan epizodlardan sonra derin dokularda zedelenmeye neden olur. Kadınlarda üst genital sistem infeksiyonunun en önemli



komplifikasyonu infertilite ve ektopik gebeliktir, bunun da nedeni tüplerdeki zedelenmedir. Gebelik esnasında servikal klamidyal infeksiyon, mekanizması bilinmeyen bir yol ile erken doğum riskini artırmaktadır. Erkeklerde klamidyal genital infeksiyonların klinik görünümleri arasında üretrit, epididimoorşit bulunur ki bunlar da genellikle kendini sınırlayan ve nadiren uzun süreli sekel bırakan hastalıklardır. İmmun aracılı reaktif artrit veya Reiter's sendromu (artrit, üretrit ve konjonktivit) genital klamidyal infeksiyonun her iki cinsiyeti de etkileyen komplikasyonları olmakla birlikte erkeklerde daha yaygındır (3, 4).

İnklüzyon konjonktiviti, neonatal infeksiyonun en yaygın görünümüdür, genellikle kendini sınırlar ve görme bozukluğu yapmaz, muhtemelen hastalığın sadece bir epizodu vardır, erişkinlerde de görülebilir, ancak bunlarda genellikle genital infeksiyon ile beraberdir. Zıt olarak trahom, körlüğe sebep olabilir, *C.trachomatis*'in tekrarlayan infeksiyonu ve sekonder bakteriyel infeksiyonlar nedeni ile şiddetli inflamasyon ve skarlaşma oluşur. Neonatal infeksiyonun başka bir görünümü de subakut pnömonidir. Subakut pnömoni nadiren fataldir ancak uzamış, genellikle debilizan bir hastalık olup bunlarda kronik respiratuar hastalık riski artar (3).

Cinsel temasla bulaşan bir hastalık olan lymphogranuloma venereum (LGV), Afrika, Asya ve Güney Amerika'da sınırlı bir coğrafyada dağılım gösterir. *C.trachomatis* serovar L<sub>1-3</sub> (LGV biovarları) ile oluşur. Sistemik semptomlarla birarada olan, bölgesel lenfadenopatiyi takiben, orta dereceli, kendini sınırlayan genital ülserasyonlarla karakterlidir. Vakaların %5'inde etkilenen dokuların skarlaşması ve fibrozisi sonucu fistül veya lenfödem nedeni ile oluşan lenfatik obstrüksiyon bu hastalığın bir komplikasyonudur.



*C.psittaci*, kuşlar ve memelilerde bulunarak geniş bir konak spektrumu göstermektedir, şu ana kadar insan dahil olmak üzere 16 değişik memelide ve 130'dan fazla kanatlı türünde hastalık yaptığı bulunmuştur (1).Ayrıca, asemptomatik infeksiyondan hastalık yapmaya kadar değişik klinik görünümleri vardır ,respiratuar semptomların baskın olduğu atipik pnömoni veya respiratuar bulguların daha az olduğu sistemik hastalık olarak karakterizedir (artrit, artralji, endokardit, perihepatit, deri lezyonları, vb.) (1,3). Hücre kültürlerindeki inklüzyonların morfolojilerine ve indirekt immünfloresans çalışmalarına bağlı olarak pekçok farklı biovar ve serovarları tanımlanmıştır. Monoklonal antikor paneli kullanılarak yapılan çalışmalarda, *C.psittaci*'nin memeli suşları, *C.pecorum*'a yakın olarak görülmektedirler ancak kuş suşları belirgin olarak farklılık göstermektedir. *C.psittaci*'nin bovin (inek) ve ovin (koyun) suşları birbirlerinden ayrılabilirler gibi felin (kedi) ve kobay suşları da ayrılabilirler. Az sayıda olan avian (kuş) suşları dünyanın değişik bölgelerinde yaygın olarak bulunabilirler(1,3).

*C.psittaci* ile olan insan infeksiyonları (psittakoz veya ornitoz), genellikle infekte kuşlarla direkt kontakt sonucu avian suşlarla olmaktadır. Kişiden kişiye bulaşma çok nadirdir. Son zamanlarda kanatlılarla uğraşan kişilerde bir meslek hastalığı olarak tanımlanmaktadır (6, 7).

En yeni tür olan *C.pecorum*, kedi ve koyunlardan izole edilen suşların genetik analizi sonucu tanımlanmıştır ve diğer klamidyalara ile % 10'dan daha az bir DNA homolojisi göstermektedir (6).Bu etken kedi ve koyunlarda ansefalit, infeksiyöz poliartrit, pnömoni ve diyare gibi değişik infeksiyonlara neden olmaktadır (3).

İlk olarak 1965 yılında aşı çalışmaları esnasında Tayvan'lı bir trahomlu çocuktan izole edilen TW-183 (Taiwan-183) suşunun daha sonra

İran'da izole edilen IOL-107 ve 1983'te Amerika Birleşik Devletleri, Seattle'da izole edilen AR-39 (Acute Respiratory-39) suşları ile MIF testi sonucuna göre aynı olduğunun belirlenmesi ile önceleri *C.pneumoniae*, *C.psittaci*'nin bir varyantı olarak kabul edildi ve buna TW-183 ile AR-39 nedeniyle TWAR adı verildi (1,8). Ancak daha sonraları diğer klamidya türleri ile % 10'dan daha az DNA homolojisi görülünce farklı bir tür olduğu anlaşıldı.*C. trachomatis*'e göre *C. psittaci*'ye daha yakındır. Armut şeklindeki EB'leri ile diğerlerinden ayrılır, ancak bu taksonomik bir kriter değildir. Herhangi bir hayvan rezervuarı saptanamamıştır, bir insan patojenidir. *C. pneumoniae*, her 2-3 yılda bir epidemiler yapan ve genellikle subakut, kendini sınırlayan respiratuar infeksiyon şeklinde kendini gösterir, bazen de sporadik olarak görülebilir. Epidemiler arası zaman periyodunda tüm farenjit, sinüzit ve pnömonilerin yaklaşık % 5-7 sinden sorumludur. Epidemileri esnasında ise erişkinlerdeki toplumdan kazanılmış pnömonilerin % 45'ine neden olur. İnfekte kişilerin çoğu çocuklar veya adolesan çağdakilerdir. Re-infeksiyon özellikle yaşlılarda görülür ve daha şiddetli hastalığa neden olur. Hastalık uzun süreli nezle benzeri ve kuru öksürük ile karakterlidir, klinik görünümü *M.pneumoniae* ve influenza virüs pnömonilerine benzemektedir. Şiddetli öksürük tipiktir, ayrıca bronşit, sinüzit ve artrit bulguları da vardır (1,9).

*C. pneumoniae*'ya karşı antikor prevalansı yaşla beraber artar, dünya çapında orta yaştakilerin yaklaşık %50'sinde mevcuttur . Her 5-7 yılda bir geniş çaplı epidemiler yapar. Kuzeybatı ülkelerinde çocuklarda antikor prevalansı düşüktür, genellikle de 10 yaştan itibaren artmaya başlar, oysa tropikal ülkelerde ve Japonya'da antikor prevalansı çocuklar arasında yüksektir. Erkeklerde antikor prevalansı kadınlara göre yüksektir (4, 10-13).

Son zamanlarda *C.pneumoniae* infeksiyonlarının sarkoidoz, KOAH ve erişkin yaşta başlayan asthma gibi kronik akciğer hastalıkları ile beraber olduğuna dair bilgiler vardır (1,3). Kronik *C.pneumoniae* infeksiyonu koroner arter hastalığı ve ateroskleroza neden olabilir .Bu konudaki fikirler, koroner arter hastalığı olanlarda yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda artan antikor düzeylerine, *C.pneumoniae* antijenleri içeren dolaşan immun komplekslerin kontrollere göre daha önemli olarak artmasına ve bu hastaların ateroskleroz plağında organizmanın gösterilmesine bağlı olarak gelişmektedir. *C.pneumoniae* infeksiyonunda, infekte olmuş alveolar makrofajlar veya endotel hücreleri dolaşım ile yakın ilişkiindedirler. Salınan LPS, koagülasyon sistemini etkileyebilir, endotel hücrelerinde TF (doku faktörü) yapımını artırarak bu yolla fokal olarak trombosit artışına neden olabilir (14), vasküler epitelden sitokinlerin salınımını indükleyebilir, ancak klamidyal infeksiyonlarda şok benzeri tablo asla oluşmaz.

## 2.5. PATOGENEZ

Klamidyalardan herhangi bir türü ile olan infeksiyonlar, geçici asemptomatik mukozal infeksiyondan şiddetli inflamasyona ve uzun süreli doku hasarı ile birlikte olan kronik hastalığa kadar pek çok şekillerde kendini gösterebilir. Bu çeşitlilikler farklı klamidya suşlarının virülansından çok, belirgin olarak konak cevabındaki değişikliklere bağlıdır. Tüm klamidya infeksiyonları kronikleşmeye meyillidirler (9, 15).

Parsiyel olarak pürifiye edilmiş mikroorganizmalar ile klamidya infeksiyonu veya immünizasyon, aynı serovar ile re-infeksiyona karşı kısmi ve kısa süreli bir korunma sağlar. Bu olay, özellikle serovar spesifik

mukozaal antikorlar ile sağlanır. Uzun süreli immünite tekrarlayan re-infeksiyondan sonra gelişebilir. Koruyucu antikorlar, günümüzde epitoplari ile tamamen tanımlanmış olup muhtemelen başlıca MOMP'in değişken komponentlerine karşı oluşmaktadırlar. Akut klamidyal infeksiyonun rezolüsyon mekanizması çok iyi anlaşılamamıştır. Bununla birlikte klamidyanın hücre içine yerleşmesi ve orada yaşaması onu bazı konak faktörlerinden korumaktadır (16). Üremesi, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) tarafından inhibe edilir. Hücre yüzeyinde eksprese olan bazı klamidyal antijenler sitotoksik T hücreleri için potensiyel hedeflerdir.

Tekrarlayan veya kronik klamidyal infeksiyon şiddetli immün-aracılı kronik inflamasyona neden olur. Trahom körlüğü ve infertiliteye neden olan kronik salpenjitin temelindeki olay budur. Tipik olarak aşırı bir inflamatuvar cevap vardır ki bu cevap hem koruyucu hem de zararlı yöndedir, ancak izole edilebilen klamidyalardan çok az miktarlarda olabilir. Benzer bir klinik ve patolojik cevap klamidyanın antijen ekstraktının tekrarlayan inokülasyonlarından sonra da görülmektedir. Oysa ki asemptomatik genital infeksiyon minimal inflamatuvar cevap ile birlikte olan çok miktarda klamidyanın uzun bir dönemde etrafa yayılması ile gerçekleşir.

Hipersensitif tip immün cevap için ana hedef antijen 60 kDa olan genus-spesifik proteindir ve bu protein, daha önce bahsedildiği gibi bakteriyel stress-cevabı (ısı şoku) proteinlerinin bir üyesidir. Bu proteine karşı gelişen humoral ve hücreyel immün cevaplar tübal hastalık veya reaktif artrit gibi komplikasyonlu klamidyal infeksiyonlu hastalarda kendini sınırlayan infeksiyonu olan hastalara göre daha fazla görülmektedir. Klamidyal infeksiyonlu hastaların çoğunda, komplikasyonları hesaba katmadan benzer moleküler ağırlıkta olan

sisteince zengin bir dış membran proteinine karşı antikor gelişimi olmaktadır. Yaptıkları hastalıkları iyice anlayabilmek için Morrison ve Bavoil tarafından getirilen hipotezin bilinmesi gerekir (3). Bu araştırmacılar klamidyaya infeksiyonlarının patogeneğinde ısı şoku proteinlerinin (hsp) (stress proteinleri) önemine değinmişlerdir. Isı şoku proteinleri hücrelerde ısı ve başka istenmeyen durumlarda oluşturulurlar ve ökaryotik hücreler, bakteriler ve parazitlerle çapraz reaksiyonlar gösterebilen proteinlerdir. Parazit veya bakterilerle oluşan hastalıklarda ısı şoku proteinlerine karşı gelişen antikorlar otoimmün antikorlar olarak rol oynarlar. Klamidyal infeksiyonlar genellikle güçlü hücresel ve humoral etkiler nedeniyle anatomik olarak sınırlı ve geçicidirler. Primer infeksiyondan sonra mikroorganizma ile tekrar karşılaşma durumunda doku hasarı ile giden hipersensitivite reaksiyonları görülür. Bu aşama esnasında organizma nadiren izole edilir, ancak inflamatuvar semptomlar şiddetlidir. Kronik *Mycobacterial* hastalığın patogeneğinde *Mycobacterial* stress proteinlerinin ve oto-reaktif T-lenfositlerin rolü olduğu gibi kronik klamidyal infeksiyonların immünopatolojik sekellerinde bu mekanizma rol oynayabilir.

Halme S. ve ark. (17), yaptıkları çalışmada klamidyaya hastalıklarında Th<sub>2</sub> aktivasyonu olduğunu ve bunun da IL-10 yapımını artırdığını gösterdiler. IL-10, B-lenfositlerden IgA yapımını artırır, artan IgA kronik *C.pneumoniae* infeksiyonunun bir bulgusu olarak değerlendirilir

IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  klamidyal infeksiyonlar esnasında da üretilirler. Sitokinlerin inflamasyon sahasında toplanması ve burada pek çok reaksiyona neden olmaları normaldir. Ancak son zamanlarda TNF- $\alpha$ 'nın lipoprotein lipazı inhibe ettiği gösterilmiştir, bu da lipidlerin mobilize olmasına ve serumda trigliserid düzeyinin artarak HDL

düzeylerinin düşmesine neden olmaktadır. Saikku'nun (18) yaptığı çalışmalara göre *C.pneumoniae* pnömonisinde viral veya pnömokokal pnömonilere göre trigliserid düzeyleri oldukça yüksek ve HDL düzeyleri (özellikle HDL-2) de oldukça düşük olarak bulunmuştur. Bu durumda kronik *C.pneumoniae* infeksiyonlarında TNF- $\alpha$ 'nın devamlı yapımının serum lipid paternini değiştirdiği ve koroner kalp hastalığı açısından bir risk faktörü olduğu söylenebilir (3,9).

## 2.6. TANI YÖNTEMLERİ

Klamidya infeksiyonlarının klinik görünümleri ve laboratuvar tanıları farklı türler ve alt-türler arasında önemli derecede farklılıklar göstermektedir. *C.trachomatis biovar trachoma*'nın cinsel temasla bulaşan genital ve bununla ilgili olan neonatal infeksiyonları klinikte en çok karşılaşılan klamidyal infeksiyonlardır. Genellikle non-klamidyal infeksiyonlardan ayrılmaları zordur. Doğru bir laboratuvar tanı, uygun tedavinin ve epidemiyolojik kontrolün sağlanması için gereklidir. Tanı en sık olarak kültür, spesifik klamidya antijeninin direkt olarak tespiti veya infeksiyon yerinden alınan örnekte klamidya DNA'sının gösterilmesi ile konur. Serolojik testler neonatal pnömoni dışındakilerde sınırlı bir tanısal değere sahip olsalar da epidemiyolojik çalışmalar için kullanışlıdır. Benzer metodlar trahomun tanısında da kullanılabilir ve laboratuvar doğrulaması genellikle gerekli değildir (3).

İnsan psittakozu ve LGV tanısında kültür nadir olarak kullanılmaktadır, çünkü potansiyel olarak laboratuvar kaynaklı infeksiyon riski vardır. Bu nedenle bu tip infeksiyonların tanısında serolojik testler daha fazla kullanılmaktadırlar.



*C.pneumoniae*'nin tanısı, laboratuvarda organizmayı izole etmek zor olduğundan seroloji ile veya direkt antijen tespiti ile yapılmaktadır.

Klamidya infeksiyonunun tüm tiplerinin tanısı için PCR tanımlanmıştır.Rutin tanıdaki rolü ve diğer konvansiyonel metodlara göre avantajları şunlardır: kültürden daha duyarlı ve daha hızlıdır, laboratuvar kaynaklı infeksiyon riski yoktur, uygun şartlarda davranılırsa kontaminasyondan korunulabilir, serolojiden daha spesifiktir. Özellikle *C.trachomatis* infeksiyonunun tanısında PCR ilk seçilecek tanı metodu olmalıdır, maliyetinin pahalılığı PCR'ın günümüzdeki en önemli dezavantajıdır.

Klamidya, laboratuvarda sadece canlı hücrelerde yani embriyonlu yumurtada veya hücre serilerinde izole edilebilir. Son zamanlara kadar *C.trachomatis biovar trachoma* ile olan infeksiyonun tanısında,kültür "altın standart" olarak kabul edilmekteydi. Bununla birlikte hücre kültürü göreceli olarak yavaş ve pahalıdır, ayrıca doğru bir sonuç için uygun örnek alımı, uygun transport ve depolama gereklidir. *C. trachomatis* sadece sınırlı sayıda hücre serilerinde üremektedir, ayrıca vücut sıvılarında, silgeçlerdeki ve taşıyıcılardaki pekçok komponentten etkilenerek inhibe olabilmekte, örneğin uygunsuz depolanması sonucu, canlılığı azalmaktadır.

*C.psittaci* veya *C.pneumoniae* için balgam veya faringeal sürüntüler; *C.trachomatis LGV biovar*'ı için aspire edilmiş abse veya lenf nodu dokusu kullanılabilir.

Bakteriyel ve çapraz kontaminasyondan (özellikle *C.psittaci* veya *C.trachomatis LGV biovar* ile) korunmak için aseptik tekniklerin ve uygun dezenfeksiyon prosedürlerinin uygulanması gereklidir. *C.trachomatis trachoma biovar* ile laboratuvar infeksiyonu çok nadirdir ancak klamidyal kültürler (özellikle *C. psittaci*) yine de uygun korunma

yöntemleri uygulanan (klas-II biyo-korunmalı kabinler) laboratuvarlarda yapılmalıdır.

*C. trachomatis*'in ilk izolasyonu Gordon ve Quan tarafından radyasyona tabi tutulmuş McCoy hücrelerinde, örneğin santrifüjünü takiben düz dipli cam tüplerde cover-slip'ler üzerinde yapılmıştır. İnkübasyondan sonra hücreler iodin ile boyandıklarında klamidyal inklüzyonlar gösterilmiştir (3). Mevcut metodlar da prensipte bununla aynıdır.

*C.trachomatis*'in inklüzyonlarındaki glikojenin boyanması esasına dayanan hücre monolayerin iodin ile boyanması en basit ancak en az duyarlı yöntemdir. Uzun süreli bir inkübasyona ihtiyaç duyar. Çünkü erken inklüzyonlarda henüz glikojen yoktur. Ayrıca HeLa hücrelerindeki kültürler için kullanışlı değildir. Çünkü bunların kendileri glikojen içerirler. *C.psittaci* inklüzyonları hiç glikojen içermediklerinden bunlara zaten uygulanamazlar. Hücrelerin ikincil pasajları üremeyi artırmakla birlikte zamana ihtiyaç gösterir. Giemsa boyası da ucuz ve iodinden daha duyarlı olmasına rağmen uygulanması zordur. Boyanan hücre monolayer'lar karanlık alan mikroskobu ile incelenirler ancak artefaktlar inklüzyon zannedilebilir. Floresan isothiocyanate (FITC) ile işaretli monoklonal antikorlar hücre monolayer'larında *C.trachomatis* inklüzyonlarının identifikasyonu için başka boyaların büyük çapta yerini almıştır. İnküzyonlar, 36-38 saatlik inkübasyondan sonra kırmızı zıt renkli zeminde tipik elma yeşili floresan (Evan's blue) verirler. Son zamanlarda laboratuvarlarda mikrotitrasyon pleytlerinin kullanılması ile daha fazla örnek incelenebilmekte ve laboratuvarın etkinliği artmaktadır.

Klamidyalara kültürünün yapılabilmesi için tecrübe ve ekipmana ihtiyaç olduğundan her mikrobiyoloji laboratuvarında yapılamamaktadır.



Bu da örneklerin yeterince fazla miktarda laboratuvara gönderilmesini sınırlamakta ve optimal kalite kontrolünü gerektirmektedir. Geçmişte “altın standart” olmasına rağmen, kültürün duyarlılığı PCR’ın yüksek duyarlılığı ile karşılaştırıldığında % 100 değildir (1,3).

*C.pneumoniae* kültürüne ait denemeler göreceli olarak başarısızdır. Başlangıçta HeLa 299 hücreleri kullanıldı, ancak son zamanlarda HL hücrelerinin *C.pneumoniae*’ya daha duyarlı oldukları gösterilmiştir. *C.trachomatis*’te olduğu gibi *C.pneumoniae*’da en iyi sikloheksimid ile inhibe edilmiş hücrelerde ürer. Kültür ortamına fetal dana serumunun ilave edilmemesi ile kültür hücre metabolizmasının daha fazla inhibisyonu sonucu klinik örneklerden *C.pneumoniae* izolasyonu daha başarılı olmaktadır. *C.pneumoniae*, FITC ile konjuge olmuş monoklonal antikorlarla ile boyanır.

Piyasadan elde edilebilecek en yaygın iki tanı yöntemi immünofloresans (IF) ve EIA testleridir. Herbirinin avantajları ve dezavantajları olmakla birlikte duyarlılık ve özgüllükleri karşılaştırılabilir. Her iki prosedür için örneklerin alınması, kültürde olduğu kadar önemlidir, ancak bu testler için canlı klamidyalara gereksinim olmadığı için taşınması ve depolanması o kadar zor değildir. Yine de optimal sonuçları alabilmek için örneğin alınması ve depolanmasında üreticinin tavsiyelerine uyulmalıdır. Tavsiye edilen anatomik sahaların dışındaki örnekler kullanılmamalıdır, zira çapraz reaksiyonlar nedeni ile tanıda zorluklar ile karşılaşılabilir.

IF yönteminde, türe özgül *C.trachomatis* MOMP veya genusa özgül LPS ( ki bununla *C.psittaci* ve *C.pneumoniae* da tanınabilir)’den herhangi birine karşı FITC-işaretli antikorlar (genellikle monoklonal) kullanılır. IF en sık olarak okülojenital *C.trachomatis* infeksiyonunun tanısı için

kullanılır. Anti-LPS antikoru temelinde dayalı metodlar insanlarda klamidyal respiratuar infeksiyonların (psittakozis veya *C.pneumoniae* infeksiyonunun) veya hayvanlarda ve kuşlarda *C.psittaci* infeksiyonunun tanısında balgam, trakeal aspirat veya dokularda kullanılabilir.

Eğer anti-LPS antikorumu ile karşılaştırılırsa, anti-MOMP antikorumu ile serbest EB'ler daha parlak ve daha tutarlı olarak boyanırlar, ki bunlar parlak elma yeşili renginde nokta şeklinde yapılardır, 300 nm çapında olup kenarları düzgündür. Anti-LPS antikorumu ile boyandıklarında EB'ler daha az parlak görünümde ve kenarları daha düzensiz olarak görülür, ayrıca serbest LPS'de boyanabilir ve diğer gram negatif LPS'leri ile çapraz reaksiyon verebilir. Tecrübesiz bir mikroskopist tarafından artefaktlar kolaylıkla EB olarak yanlış tanınabilirler. Eğer tecrübeli bir mikroskopist tarafından üreticinin tavsiyelerine uygun olarak uygulanmış ise özgüllük ve duyarlılığı kültür ile karşılaştırıldığında yüksektir (sırası ile > %95 ve > %90), ancak düşük prevalans gösteren toplumlarda izleme açısından IF kullanılan asemptomatik kişilerde genellikle çok düşüktür (% 60-80) (3).

LPS'ye karşı monoklonal veya poliklonal antikorumlar kullanılarak klamidyal infeksiyonların tanısı için pekçok EIA testi piyasada bulunmaktadır. Bu test, bir solid yüzeye (plastik boncuk, mikrotitrasyon çukuru veya membranı) bağlanmış antikor tarafından suda eriyebilen LPS antijeninin (genus spesifik) yakalanması ve daha sonra bir enzim ile işaretli dedektör sistem ve bir kromojenik substrat aracılığı ile tespit edilmesidir. Renk değişimi olması pozitif olarak kabul edilir ve gözle ya da spektrofotometrik olarak değerlendirilebilir, sadece EIA pleyti ve okuyucu gerekir. Özel bir tecrübe gerektirmemektedir, çok fazla örneğin birarada çalışılması ve otomasyon için uygundur. EIA'in duyarlılığı değişkenlik göstermekle beraber genellikle IF kadardır. Yanlış pozitif sonuçlar göreceli

olarak sıktır. Bu belkide diğerk bakterilerin LPS'leri ile çapraz reaksiyona bağılıdır. Non-spesifik reaksiyonlar sık olabilir ve bunlar testin tekrar edilmesine neden olurlar. Örneğın, pozitif prediktif düzey, sadece pozitif sonuçlar kabul edilip test tekrarlandığında %87'den %95'e çıkar (3). Son zamanlarda "confirmatory blocking assay" yönteminin bulunması ile (pekçok EIA kitinde mevcuttur) özgüllük yaklaşık olarak %99'a yükselmiştir (3). Bu belki de indirekt olarak duyarlılığı da yükseltmektedir, çünkü sınırdaki (borderline) pozitif sonuçların doğrulanmasına da imkan vermektedir. Bu testler farklı klamidya türlerini ayıramazlar ancak pratikte bu bir problem değildir. EIA testinin major dezavantajı örneğın kalitesinin (IF'da olduğu gibi) değerlendirilememesidir (1,3).

EIA presibi temelinde olan ancak değışik varyasyonlarda pekçok ticari kit elde edilebilir, bunların çoğu hızlı (30 dakikadan az), başka bir cihaza gereksinim göstermeyen ve ofislerde kullanmak için uygun olan kitlerdir. Düşük prevalanslı toplumlardaki duyarlılığı konvansiyonel antijen tespiti yapan diğerk metodlarla aynı, özgüllüğü ise >%95'tir (1,3).

PCR, klamidyal infeksiyonların en yeni tanı metodudur. Değışik amplifikasyon hedefleri kullanılmaktadır, bunlar arasında "common endogenous (cryptic) plasmid", MOMP için kodlayıcı olan *omp1* geni ve 16S rRNA geni bulunmaktadır. Plazmid temeline dayanan PCR metodları, kromozomal DNA'nın (*omp1* veya rRNA geni) amplifikasyonu temeline dayananlara göre genellikle daha duyarlıdır. Bu farklılık, 16S rRNA geninin 2-3 dizide tekrarı ve tek bir *omp1* ile karşılaştırıldığında bakteri hücresi başına düşen plazmidin çoğul kopyalarının (7-10) varlığına bağılıdır (3).

PCR uygulama aşamalarının herbirinde kurallara uyulması ve titiz davranılması PCR'ın kalitesini artırmakta ve oluşabilecek sorunları ortadan kaldırmaktadır.

PCR tekniğinde muayene maddesinden ekstraksiyonu sağlanan DNA'nın amplifikasyonu sonucu tek bir DNA iplikçığı logaritmik olarak çoğaltılarak saptanabilir hale gelmektedir. Tanıda kullanılan PCR tekniği belli merkezlerde araştırma amacı ile klasik yöntemlerle "home brew" ya da Amplicor PCR kiti kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Klasik PCR'da DNA ekstraksiyonu, amplifikasyon ve amplifikasyon ürünlerinin incelenmesi gibi yöntemler her laboratuvarın kendi olanakları ve seçtikleri metod doğrultusunda yapılmaktadır.

Pekçok karşılaştırmalı çalışmada PCR, kültürden daha duyarlı olarak bulunmuştur. Bir pozitif sonuç herhangi bir metod ile gerçek pozitif olarak kabul edildiğinde PCR ve kültürün duyarlılıkları sırası ile %99 ve %78'dir (1,3).

PCR'ın özgüllüğü de eğer kontaminasyondan kaçınılıp uygun şekilde uygulanırsa çok yüksektir. Pozitif bir sonuç, farklı bir primer set kullanılarak orijinal örnekte tekrar PCR ile çalışılarak doğrulanmalıdır. Hedef olarak amplifiye edilmiş ürünün *omp1* ve "restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis" kullanan PCR, hızlı (sero)tiplendirmede kullanılabilir zira herbir serotip farklı RFLP paterni oluşturur. Bu avantajlarına rağmen, PCR son zamanlara kadar sadece araştırma laboratuvarlarında kullanılmakta idi. Çünkü DNA ekstraksiyonu, jel elektroforezi ve Southern hibridizasyon kullanan radyoaktif işaretleyiciler gibi kompleks prosedürler gerektirmektedir (3).

PCR temelinde olan ancak daha gelişmiş bazı sistemlerin de yakın bir gelecekte kullanıma geçecekleri sanılmaktadır. Bunlar arasında;

LCR	Target	→Ligase cryptic plasmid/polimerase reaction
TMA	Target	→16s rRNA (İzotermal sistem olup cheluminescence esası ile çalışır = Transcription Mediated Amplification)
NASBA	Nucleic acid sequence based amplification	
SDA	Strand displacement amplification	
bDNA	Branched DNA	
Q-β probe amplification (Q-β replicase assay)	Target	→RNA
COBAS Amplicor	Otomatik PCR bulunmaktadır (1,3).	

İnfeksiyonun serolojik tanısı genellikle serokonversiyonun gösterilmesine veya IgG düzeylerindeki veya total antikor düzeyindeki artışa ya da spesifik IgM'nin varlığına bağlıdır. Sıklıkla bunların hiçbirisi *C.trachomatis*'in genital infeksiyonunda bulunmaz. Zira infeksiyon müköz membranlara sınırlı olduğu için başlangıç infeksiyonu genellikle tanımlanamaz, kültür ile ispatlanan vakalarda bile antikor cevabı görülmeyebilir. Re-infeksiyon ise klinik olarak daha belirgindir, ancak yine de genel olarak antikor veya IgM düzeyinde yükselme ile birlikte değildir. Bu nedenlerle akut klamidyia infeksiyonunda seroloji nadiren tanıya yardımcı olur (3).

Spesifik klamidyal IgM'nin tespiti neonatal klamidyal pnömoni tanısında faydalıdır. IgG antikorunun tespiti maternal veya neonatal infeksiyon ayırımında kullanılamayacağından neonatal infeksiyonun tanısında IgM tespiti diyagnostiktir. Klamidyal pnömonili çocuklarda hastalık esnasında orta dereceli veya yüksek bir IgM titresini artırır. İnfeksiyonun nazofarinks veya konjonktivaya lokalize olduğu çocuklarda da IgM mevcuttur ancak genellikle daha düşük titrededir ve infeksiyonun başlangıcından hemen sonraya kadar görülmeyebilirler.

Klamidyal infeksiyonunun tespiti için kullanılan standart metodlardan biri de mikro immün floresans (MIF) olup, serovar-spesifik antikoları tespit etmek için standart serovarların EB'leri kullanılır. Alternatif MIF teknikleri de vardır, örneğin genus-spesifik antijenler olarak RB'ler kullanılabilir, klamidyalarda genus ve tipe spesifik antikolarını tespit etmede lama yerleştirilmiş hücredeki inklüzyonlar kullanılabilir. Klamidya antikolarının tespiti için pekçok EIA ve başka testler mevcuttur, ancak bunların kullanımı sınırlıdır ve tanı ve seroepidemiolojik çalışmalar için önerilmezler (3).

Seroloji özellikle lymphogranuloma venereum (*C.trachomatis* serovar LGV), *C. pneumoniae* infeksiyonu ve insan psittakozunda kullanılabilir. Çünkü bunlarda antikor cevabı çok belirgindir, akut infeksiyon belirgin görünümde olmaz ve şüphe uyandırır, kültürleri zor olduğu kadar laboratuvar infeksiyonları açısından da riskler taşır. LGV ve psittakozun serolojik tanısı için geleneksel yöntem kompleman fiksasyon (CF) testidir. Çift serum örneğinde çalışılır, her iki serumda da serokonversiyon veya antikor titresinde önemli artış görülürse pozitif kabul edilir. Genus-spesifik antikoları gösterdiğinden infeksiyonun farklı tipleri arasında çapraz reaksiyon ihtimalini de taşır. *C.pneumoniae*'nin insan patojeni olduğunun bulunmasından önce respiratuvar infeksiyonlu bazı vakalara CF ile antikor titresinde dört kat veya daha fazla artış olduğundan psittakoz denerek yanlış bir şekilde tanı konmuştur, bunların bugün için yaklaşık %20'sinin yanlış olduğu tahmin edilmektedir (1,9,18-20). Değerlendirme; klinik görünüme, hasta kuşlarla (psittakoz açısından) veya temas hikayesine (*C.pneumoniae* infeksiyonu açısından) göre yapılır.

MIF, özellikle *C.pneumoniae*'ya spesifik antikoları tespit etmek için kullanılır. IgA, IgG veya IgM'den herhangi birisini tespit etmek üzere



adapte edilebilir, böylece infeksiyonun yeni veya eski olduğu kolaylıkla ayırtedilebilir. *C.pneumoniae* infeksiyonunun ilk epizodu klamidya CF antikör cevabı oluşumu ile birlikte dir. İmmunfloresans ile tür-spesifik IgM, hastalık başladıktan 3 hafta sonra ve IgG ise 6-8 hafta sonra belirginleşir.Re-infeksiyonda CF testi negatif ve IgM antikörleri yoktur ancak spesifik IgG 1-2 hafta içinde yükselir ve çok yüksek düzeylere kadar çıkabilir (3).

*C. pneumoniae*'nin standart serovarlarının EB'leri sarı kesede ürerler. Bunların normal sarı kese içinde %3-5'lik suspansiyonları kullanılır.Pürifiye edilmiş antijenler gruplar halinde bir lam üzerine yapıştırılırlar.Normal %5'lik yolk sac'ta kontrol amacı ile kullanılır.Lamlar havada kurutulur ve dehidrate aseton veya metanol içinde 10 dakika boyunca oda ısısında fikse edilirler. MIF çalışmasının ana basamakları şunlardır;

1. Muayene maddesinin alınması
2. Lam hazırlanması ve fiksasyon
3. Depolama ve transport
4. Boyama
5. Muayene
6. Değerlendirme

Parlak floresansın en belirgin olarak görüldüğü EB'lerin en net görüldüğü titrasyon en yüksek dilüsyon olarak kabul edilir (3).

Akut *C.pneumoniae* infeksiyonu tanısı için;

- IgG, IgM veya IgA titresinde dört kat veya daha fazla artış olması
- IgM'nin 1/20 veya daha yüksek titrede pozitif
- IgG'nin yüksek titrede olması (1/512 veya daha fazla)

Geçirilmiş *C.pneumoniae* infeksiyonu;

-IgG'nin 1/32 veya daha büyük, 1/512'den küçük olması

Kronik *C.pneumoniae* infeksiyonu

-Son zamanlarda *C.pneumoniae* infeksiyonu düşünülen ve IgG titresi 1/512 veya daha fazla olan ayrıca IgA titresi 1/40 veya daha fazla olan hastalar

Mevcut *C.pneumoniae* infeksiyonu

-IgG, IgM veya IgA titresinde dört kat veya daha fazla artış olması

-IgM'nin 1/20 veya daha fazla olması

\*IgA titresinin 1/16 veya daha fazla olması ile IgG titresinin 1/128 veya daha fazla olmasının birlikteliği aktif *C.pneumoniae* infeksiyonunun göstergesidir (3, 19).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Eskişehir ve çevresinde yaşayan değişik kardiyak şikayetlerle Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji servisine yatırılarak akut myokard infarktüsü (AMI) tanısı konan yaşları 18-75 (ort.  $56.04 \pm 2.81$ ) arasında değişen 19'u erkek, 6'sı kadın toplam 25 hasta ile; unstable angina pectoris (UAP) tanısı konan yaşları 36-74 (ort.  $61.57 \pm 1.29$ ) arasında değişen 33'ü erkek, 18'i kadın toplam 51 hasta dahil edildi. Çalışmaya alınan tüm hastalarda sigara içme alışkanlıkları, ailede aterosklerotik kalp hastalığı varlığı, hipertansiyon, diabetes mellitus hikayeleri araştırıldı. Tüm hastalardan alınan kan örneklerinde HDL, total kolesterol, trigliserid, fibrinojen, CRP, TNF- $\alpha$  düzeyleri araştırıldı, kontrol grubu dahil tüm hastalara koroner anjiyografi uygulandı.

Kontrol grubuna ise, koroner anjiyografide herhangi bir damar tıkanıklığı bulunmayan, EKG ve fizik muayene bulguları ile aterosklerotik kalp hastalığı olarak değerlendirilmeyen, hipertansiyon ve diabetes mellitusu olmayan, ailelerinde aterosklerotik kalp hastalığı tarif etmeyen yine Eskişehir civarında yaşayan yaşları 43-84 (ort.  $63.35 \pm 2.64$ ) arasında değişen 11'i erkek, 9'u kadın olmak üzere toplam 20 kişi rastgele yöntemle çalışmaya alındı.

AMI ve UAP'li hastalardan, yoğun bakım ünitesine yatışlarını takiben 12 saat içerisinde; AMI'li hastalarda ise IgM açısından serokonversiyonun takibi amacı ile yatışlarından 6 hafta sonra ikinci kan örnekleri alınarak serumları ayrıldı, ilk alınan serum örnekleri, dondurma-çözdürme işleminin tekrarlanmasını önlemek için 5 ayrı tüpe paylaştırılarak çalışılincaya kadar saklanmak üzere  $-70^{\circ}\text{C}$ 'de donduruldu.

Örneklerde CRP ve RF düzeylerinin saptanmasında Beckman Array<sup>®</sup>, 360/360 CE (Beckman Instruments, Inc. California/USA) otomatik nefelometre cihazı kullanıldı. CRP için 0.8 mg/dL, RF için ise 20 IU/mL üzerindeki değerler pozitif olarak kabul edildi. RF, EIA IgM çalışmasında yanlış pozitifliklerin ekarte edilebilmesi amacı ile çalışıldı.

TNF- $\alpha$  düzeyleri ise Cytoscreen<sup>®</sup> (Biosource International, California/USA) EIA kiti kullanılarak üreticinin tavsiyelerine uygun şekilde çalışıldı; sonuçlar 450 nm'de okunarak, standart konsantrasyonların karşıt geldiği absorbans değerleri ile çalışmaya dahil edilen örneklerin absorbans değerlerinin grafik üzerinde değerlendirilmesi ile kantitatif olarak saptandı ve pg/mL olarak ifade edildi.

Klamidyaya karşı oluşan IgA, IgM ve IgG düzeyleri de kantitatif olarak Medac<sup>®</sup> (Medac Diagnostica, Hambourg/Germany) IgA, IgM ve IgG EIA test kitleri kullanılarak saptandı. IgA için serum örnekleri sulandırma solüsyonu ile 1/50 oranında sulandırıldı (10  $\mu$ L serum + 490  $\mu$ L sulandırma solüsyonu), IgM için önce yıkama solüsyonu ile 1/25 oranında (10  $\mu$ L serum + 240  $\mu$ L sulandırma solüsyonu) daha sonra RF ile yanlış pozitifliği önlemek için testte önerilen "IgG/Rf-Absorbens" solüsyonu ile 1/2 oranında (30  $\mu$ L dilüe edilmiş serum + 30  $\mu$ L IgG/Rf-Absorbens solüsyonu) karıştırılarak 1/50 final dilüsyonları elde edildi. IgG için ise serum örnekleri 1/100 oranında (5  $\mu$ L serum + 495  $\mu$ L sulandırma solüsyonu) dilüe edildi. EIA uygulamaları, kitlerin çalışma kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi, sonuçlar pozitif ve negatif kontrollerin 405 nm dalga boyundaki absorbans değerleri üzerinden saptanan "sınır değer (cut-off)" dikkate alınarak yorumlandı.

IgA ve IgM EIA kitlerinde, test prosedüründe tavsiye edildiği gibi negatif kontroller 0.20'den küçük, pozitif kontroller ise 0.80'den büyük; IgG kitinde de negatif kontroller 0.22'den küçük, pozitif kontroller ise 0.80'den büyük bulunarak testin güvenilirliği kanıtlandı.

EIA test çalışmaları sonunda cut-off değerleri kitle tavsiye edildiği gibi hesaplanmış ve örneğin karşıt geldiği absorbans değeri hesaplanan cut-off değerine bölünerek "indeks" bulundu. Her bir testte indeks değerlerine karşılık gelen titrasyonlar tavsiye edilen tabloya bakılarak saptandı. IgA ve IgM; 1/50'den, IgG ise 1/100'den başlayan titrasyonlarla değerlendirildi.

*C. pneumonia*'ya karşı oluşan özgül antikorların (IgA, IgM ve IgG) ölçümünde Micro-Immuno-Fluorescein (MIF) antibody test (MRL Diagnostics, IF1200A, IF1200M, IF1200G; California/USA) kullanıldı. Testlerde kullanılan MIF lamları, yolk sac kontrolü ile beraber *C.psittaci* (6BC, DD34), *C.trachomatis* (D-K olmak üzere 6 serotip) ve *C.pneumoniae* (TW183) EB'lerinden elde edilen antijenlerin her lamda 12 çukurda üçü yanyana (yolk sac kontrolü ile 4) olacak şekilde hazırlanmıştı. Kullanılan konjugat ise IgA için  $\alpha$  zinciri, IgM için  $\mu$  zinciri ve IgG için de  $\gamma$  zinciri spesifik floresan ile işaretli anti-human antikorlardı. MIF IgA ve IgG için hasta serumları 1/16 oranında phosphate buffered saline (PBS), MIF IgM için ise serum örnekleri kit içerisinde verilen IgM pretreatment dilüent ile 1/10 oranında (10  $\mu$ L serum + 90  $\mu$ L pretreatment dilüent) dilüe edildi. (MIF IgM'de kullanılan bu dilüent serumda bulunabilecek olan RF'nin ekarte edilmesi için kullanılmaktadır).

Poşetlerinden çıkartılan antijen içeren lamların üzerine her bir testte pozitif kontrol, negatif kontrol ve uygun dilüsyonları hazırlanan serum örnekleri 25'er  $\mu$ L olacak şekilde kondu. MIF IgA ve IgG lamları 30'ar,

MIF IgM lamaları ise 90'ar dakika 37°C'de nemli kamarada inkübe edildi. İnkübasyon sonunda PBS ve distile su ile yıkanan lamalar havada kurutuldu. Kuruyan lamaların üzerine 25'er µL konjugatları kondu ve hepsi 30'ar dakika 37°C'de nemli kamarada tekrar inkübe edildi. PBS ve distile su ile yıkanan lamalar havada kurutuldu ve üzerlerine birer damla kaplama sıvısı konup lamel ile kapatıldılar ve Nikon Eclipse E600 floresan mikroskop kullanılarak 400 x büyütme ile incelendi.

Bir veya daha fazla, parlak elma yeşili spot görülen serum örnekleri daha sonra ikişer kat PBS ile dilüe edilerek son titrasyonları saptandı. IgA ve IgG titrasyonları 1/16'dan, IgM titrasyonları da 1/10'dan başlayan dilüsyonlarda idi. Hiç parlaklık görülmeyen örnekler negatif olarak kabul edildi.

Sonuçların istatistiksel karşılaştırılmalarında  $\chi^2$  ve Spearman's testleri kullanıldı.

#### 4.BULGULAR

AMI, UAP ve kontrol gruplarının her teste ait çalışılan sonuçları tablo 2-9'da, genel sonuçlar ise Tablo 10'da görülmektedir.

Tablo 1

**Tablo 2.** Çalışılan grubun demografik karakteristikleri ve risk faktörleri

Karakteristik	AMI (n:25)		UAP (n:51)		Kontrol (n:20)		
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Erkek	19	29.7	33	53.1	11	17.2	$\chi^2=2.205$
Kadın	6	18.8	118	53.1	9	28.1	P=0.332
< 30 yaş	1	100	-	-	-	-	$\chi^2=13.51$ p=0.036
31-49 yaş	7	43.8	6	37.4	3	18.8	
50-69 yaş	13	22.8	36	63.2	8	14	
$\geq 70$ yaş	4	18.2	9	40.9	9	40.9	
Sigara alışkanlığı	14	33.3	21	50	7	16.7	$\chi^2=2.284$ p=0.319
Aile hikayesi	5	19.2	21	80.8	-	-	$\chi^2=13.193$ p=0.001
Diabetes mellitus	6	27.3	16	72.7	-	-	$\chi^2=8.027$ p=0.018
Hipertansiyon	7	24.1	22	75.9	-	-	$\chi^2=9.892$ p=0.001
Tıkalı damar yok	6	85.7	1	14.3	-	-	$\chi^2=68.637$ P=0.000
1 damar tıkalı	10	28.6	25	71.4	-	-	
2 damar tıkalı	4	26.7	11	73.3	-	-	
3 damar tıkalı	5	26.3	14	73.7	-	-	

Tablo 3'ü incelediğimizde; AMI grubunda yaş ortalaması 56.04 (S.E.  $\pm 2.81$ ), UAP grubunda 61.57 (S.E.  $\pm 1.29$ ) ve kontrol grubunda da 63.35 (S.E.  $\pm 1.16$ ) olarak bulundu (F=2.872, p=0.062).

Tablo 2

**Tablo 3.** AMI, UAP ve kontrol gruplarında yaş ortalamaları ve diğer risk faktörleri.

	AMI (n:25)		UAP (n:51)		Kontrol (n:20)		
	Ortalama	SE	Ortalama	SE	Ortalama	SE	
Yaş	56.04	2.81	61.57	1.29	63.35	2.64	F=2.872 P=0.062
HDL	38.92	1.29	42.24	1.33	58.30	11.42	F=4.093 P=0.020
Total kolesterol	210.92	9.76	199.90	5.61	192.60	10.63	F=1.012 P=0.367
Trigliserid	170.04	18.60	155.84	9.84	141.50	9.38	F=0.867 P=0.423
Fibrinojen	386.24	28.57	374.25	14.17	394.55	30.29	F=0.229 P=0.796
TNF- $\alpha$ (n:16)	54.957	12.68	61.015	9.63	11.239	0.99	F=4.115 P=0.02

Tablo 2'de 30 yaş altında 1 (%100), 31-49 yaş arası 7 (%43.8), 50-69 yaş arası 13 (%22.8), 70 ve üzeri yaşlardan 4 (%18.2) hastanın AMI grubunda; 31-49 yaş arası 6 (%37.5), 50-69 yaş arası 36 (%63.2), 70 ve üzeri yaşlardan da 9 (%40.9) hastanın UAP grubunda; 31-49 yaş arasında 3 (%18.8), 50-69 yaş arasında 8 (%14), 70 ve üzeri yaşlardan da 9 (%40.9) kişinin kontrol grubunda olduğu görülmektedir. UAP ve kontrol gruplarında 30 yaş altında kimse bulunmamaktadır. Bu sonuca göre kontrollere göre AMI ve UAP ile yaş grubu arasındaki ilişki anlamlı bulundu ( $\chi^2=13.51$ , p=0.036).

AMI grubundan 19 (%29.7), UAP grubundan 34 (%53.1) ve kontrol grubundan 11 (%17.2) kişi erkek olup cinsiyet AMI ve UAP arasında kontrollere göre anlamlı bir ilişki saptanamadı ( $\chi^2=2.205$ ,  $p=0.332$ ) (tablo 2).

AMI grubunda 14 (%33.3), UAP grubunda 21 (%50) ve kontrol grubunda 7 (%16.7) kişi sigara kullanmakta olup her iki grup ile sigara alışkanlığı açısından kontrollere göre anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $\chi^2=2.284$ ,  $p=0.319$ ) (tablo 2).

AMI hastalarından 5 tanesi (%19.2) ve UAP hastalarından 21 tanesi (%80.8) ailesinde aterosklerotik kalp hastalığı tanımlamış olup AMI ve UAP ile aile hikayesi arasında oldukça anlamlı ilişki bulundu ( $\chi^2=13.193$ ,  $p=0.001$ ) (tablo 2).

AMI grubundan 7 (%24.1) ve UAP grubundan 22 (%75.9) hasta hipertansiyonlu olarak saptandı, hipertansiyon ile AMI ve UAP arasındaki ilişki oldukça anlamlı bulundu ( $\chi^2=9.892$ ,  $p=0.001$ ) (tablo 2).

AMI grubundan 6 (%27.3) ve UAP grubundan 16 (%72.7) hastada diabetes mellitus birlikte bulundu; AMI ve UAP açısından bu ilişki anlamlı olarak saptandı ( $\chi^2=8.027$ ,  $p=0.018$ ) (tablo 2).

AMI grubundan 6 hastada (%85.7), UAP grubundan 1 hastada (%14.3) koroner anjiyografide tıkalı damar saptanmadı; AMI grubundan 10 hastada (%28.6), UAP grubundan 25 hastada (%71.4) tek; AMI grubundan 4 hastada (%26.7), UAP grubundan 11 hastada (%73.3) iki ve AMI grubundan 5 hastada (%26.3), UAP grubundan 14 hastada (%73.7) 3 damar tıkalı olarak saptandı. Bu sonuca göre AMI ve UAP ile tıkalı damar sayısı açısından oldukça anlamlı bir ilişki saptandı. ( $\chi^2=68.637$ ,  $p=0.000$ ) (tablo 2).



AMI grubunda ortalama HDL düzeyi 38.92 (S.E.±1.29) mg/dL, UAP grubunda 42.24 (S.E.±1.33) mg/dL ve kontrol grubunda da 58.30 (S.E.±11.42) mg/dL olarak bulundu. AMI ve UAP gruplarında kontrole göre HDL düzeyi düşüşü anlamlı olarak saptandı (F=4.093, p=0.020) (tablo 3).

AMI grubunda ortalama total kolesterol düzeyi 210.92 (S.E.±48.78) mg/dL, UAP grubunda 199.90 (S.E.±40.09) mg/dL ve kontrol grubunda da 192.60 (S.E.±47.52) mg/dL olarak bulundu , buna göre total kolesterol düzeyi ile AMI ve UAP arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (F=1.012, p=0.367) (tablo 3).

AMI grubunda ortalama trigliserid düzeyi 170.04 (S.E.±18.60) mg/dL, UAP grubunda 155.84 (S.E.±9.84) mg/dL ve kontrol grubunda da 141.50 (S.E.±9.38) mg/dL olarak bulundu, trigliserid düzeyi ile AMI ve UAP arasındaki ilişkide istatistiksel olarak anlam bulunmadı (F=0.867, p=0.423) (tablo 3).

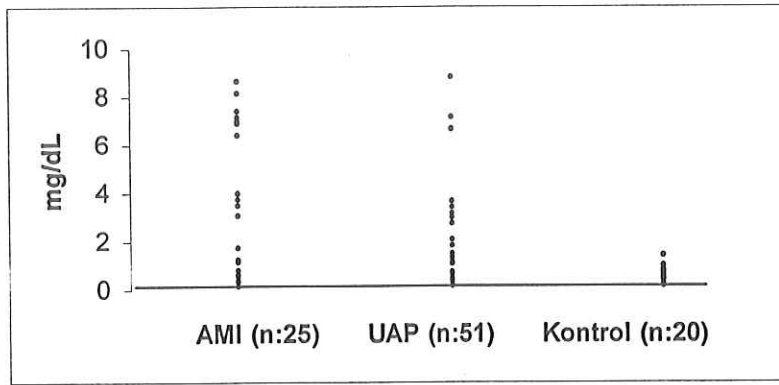
AMI grubundaki hastaların fibrinojen düzeyleri ortalaması 386.24 (S.E.±28.57) mg/dL, UAP grubundakilerin 374.25 (S.E.±14.17) mg/dL ve kontrol grubundakilerin de 394.55 (S.E.±30.29) mg/dL olarak bulundu, istatistiksel olarak AMI ve UAP ile fibrinojen düzeyleri arasındaki ilişki kontrollerle karşılaştırıldığında anlamsız olarak bulundu (F=0.229, p=0.796) (tablo 3, grafik 3).

AMI grubunda 17 hastada (%47.2), UAP grubunda 15 hastada (%41.7) ve kontrol grubunda da 4 hastada (%11.1) CRP pozitifliği ( $\geq 0.8$  mg/dL) saptandı, kontroller ile karşılaştırıldığında AMI ve UAP'li hastalar ile CRP pozitifliği arasında oldukça anlamlı bir ilişki bulundu ( $\chi^2=13.960$ , p=0.001) (tablo 3, grafik 1).

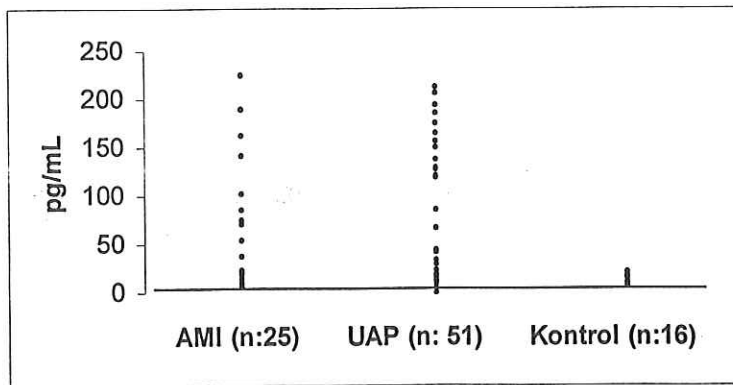


AMI grubunda ortalama TNF- $\alpha$  düzeyleri 54.957 (12.68) pg/mL, UAP grubunda 61.015 ( $\pm$ 9.63) pg/mL ve kontrol grubunda da 11.239 ( $\pm$ 0.99) pg/mL olarak saptandı (F=4.115, p=0.02) (tablo 3, grafik 2). Bu sonuca göre AMI ve UAP grubunda kontrollere göre TNF- $\alpha$  düzeylerinde belirgin artış olduğu gösterildi.

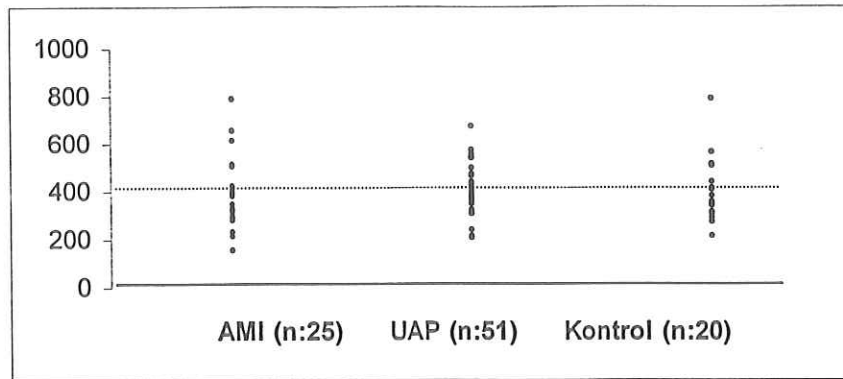
**Grafik 1.** CRP düzeylerinin çalışılan gruplardaki dağılımı.



**Grafik 2.** TNF-alfa düzeylerinin çalışılan gruplardaki dağılımı.



**Grafik 3.** Fibrinojen düzeylerinin çalışılan gruplardaki dağılımı.



**Tablo 4.** *C.pneumoniae* EIA IgA varlığı ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki ( $\chi^2=5.315$ ,  $p=0.504$ ).

ANTİKOR	AMI (n:25)		UAP (n:50)		Kontrol (n:18)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
<b>POZİTİF (<math>\geq 1/50</math>)</b>	15	60	24	48	6	33.33
1/50	3	20	3	12.5	3	50
1/100	7	46.7	9	37.5	1	16.7
1/200	5	33.3	12	50	2	33.3

**Tablo 5.** *C.pneumoniae* MIF IgA varlığı ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki ( $\chi^2=2.778$ ,  $p=0.836$ )..

ANTİKOR	AMI (n:25)		UAP (n:51)		Kontrol (n:20)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
<b>POZİTİF (<math>\geq 1/16</math>)</b>	10	40	23	45.1	7	35
1/16	3	30	8	34.8	2	28.6
1/32	-	-	-	-	-	-
1/64	4	40	12	52.2	4	57.2
1/128	3	30	3	13	1	14.2

*C.pneumoniae* IgA pozitifliği açısından bakıldığında EIA testi ile pozitiflik ( $\geq 1/50$ ) AMI grubunda 15 hastada (%60), UAP grubunda 24 hastada (%48) ve kontrol grubunda da 6 kişide (%33.33) saptandı ve EIA testi ile *C.pneumoniae* IgA pozitifliği kontrollere göre AMI ve UAP grubunda anlamlı olarak bulunmadı ( $\chi^2=5.315$ ,  $p=0.504$  (tablo 4).

MIF IgA testinde pozitiflik ( $\geq 1/16$ ) AMI grubunda 10 hasta (%40), UAP grubunda 23 hasta (%45.1) ve kontrol grubunda da 7 (%35) kişidir, bu sonuca göre MIF testi ile *C.pneumoniae* IgA pozitifliği AMI ve UAP grubuna göre kontrollerde anlamlı olarak bulunamadı ( $\chi^2=2.778$ ,  $p=0.836$ ) (tablo 5).

**Tablo 6.** *C.pneumoniae* EIA IgM varlığı ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki ( $\chi^2=0.5006$ ,  $p=0.287$ )..

ANTİKOR	AMI (n:25)		UAP (n:50)		Kontrol (n:18)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
<b>POZİTİF (<math>\geq 1/50</math>)</b>	3	12	6	12	2	11
1/50	3	100	5	83.3	-	-
1/100	-	-	1	16.7	2	100
1/200	-	-	-	-	-	-
1/400	-	-	-	-	-	-

**Tablo 7.** *C.pneumoniae* MIF IgM varlığı ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki ( $\chi^2=1.114$ ,  $p=0.981$ )..

ANTİKOR	AMI (n:25)		UAP (n:51)		Kontrol (n:20)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
<b>POZİTİF (<math>\geq 1/10</math>)</b>	3	12	6	11.8	2	10
1/10	1	33.3	2	33.3	1	50
1/20	-	-	1	16.7	1	50
1/40	2	66.7	2	33.3	-	-
1/80	-	-	1	16.7	-	-

*C.pneumoniae* IgM pozitifliği açısından bakıldığında EIA testi ile pozitiflik ( $>1/50$ ) AMI grubunda 3 hastada (%12), UAP grubunda 6 hastada (%12) ve kontrol grubunda da 2 kişide (%11) saptandı ve EIA testi ile saptanan *C.pneumoniae* IgM pozitifliği kontrollere göre AMI ve UAP grubunda anlamlı bulunmadı ( $\chi^2=0.5006$ ,  $p=0.287$ ) (tablo 6).

MIF IgM testinde pozitiflik ( $\geq 1/10$ ) AMI grubunda 3 hasta (%12), UAP grubunda 6 hasta (%11.8) ve kontrol grubunda da 2 (%10) kişi saptandı, bu sonuca göre MIF testi ile *C.pneumoniae* IgM pozitifliği AMI ve UAP grubuna göre kontrollerde anlamlı olarak bulunmadı ( $\chi^2=1.114$ ,  $p=0.981$ ) (tablo 7).

AMI grubunda yatıştan 6 hafta sonra alınan ikinci serum örneklerinin hiçbirisinde MIF IgM ile serokonversiyon görülmedi. Başlangıçta  $\geq 1/10$  olarak bulunan 3 örnekte ise bu defa sonuçlar negatif olarak bulundu.

**Tablo 8.** *C.pneumoniae* EIA IgG varlığı ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki ( $\chi^2=8.943$ ,  $p=0.011$ ).

ANTİKOR	AMI (n:25)		UAP (n:50)		Kontrol (n:18)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
<b>POZİTİF (<math>\geq 1/100</math>)</b>	23	92	41	82	10	55.55
1/100	7	30.43	26	63.41	3	30
1/200	14	60.87	25	60.98	6	60
1/400	2	8.7	-	-	1	10

**Tablo 9.** *C.pneumoniae* MIF IgG varlığı ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki ( $\chi^2=10.189$ ,  $p=0.006$ ).

ANTİKOR	AMI (n:25)		UAP (n:51)		Kontrol (n:20)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
<b>POZİTİF (<math>\geq 1/16</math>)</b>	14	56	20	39.2	2	10
1/16	6	42.8	10		← 2	
1/32	3	21.4	2		-	-
1/64	3	21.4	4		-	-

*C.pneumoniae* IgG EIA testi ile pozitiflik ( $>1/100$ ) AMI grubunda 23 hastada (%92), UAP grubunda 41 hastada (%82) ve kontrol grubunda da 10 kişide (%55.55) saptandı; EIA testi ile saptanan *C.pneumoniae* IgG pozitifliği kontrollere göre AMI ve UAP grubunda anlamlı derecede yüksek bulundu ( $\chi^2=8.943$ ,  $p=0.011$ ) (tablo 8).

MIF IgG testi ile pozitif olan ( $\geq 1/16$ ) AMI grubunda 14 hasta (%56), UAP grubunda 20 hasta (%39.2) ve kontrol grubunda da 2 kişidir, bu sonuca göre MIF testi ile *C.pneumoniae* IgG pozitifliği AMI ve UAP

grubuna göre kontrollerde anlamlı olarak yüksek bulundu (%10) ( $\chi^2=10.189$ ,  $p=0.006$ ) (tablo 9).

Bu çalışmada MIF IgA testi doğru kabul edildiği zaman, EIA IgA testinin duyarlılığı %74.4, özgüllüğü %74, pozitif prediktif değer %71.1 ve negatif prediktif değer %77.1 olarak bulundu. Testin geçerliliği (accuracy) de %74.2 olarak hesaplandı.

MIF IgM testi doğru kabul edildiği zaman, EIA IgM testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %98.8, pozitif prediktif değer %91.7 ve negatif prediktif değer %100 olarak bulundu. Testin geçerliliği (accuracy) de %98.9 olarak hesaplandı.

MIF IgG testi doğru kabul edildiği zaman, EIA IgG testinin duyarlılığı %86, özgüllüğü %25, pozitif prediktif değer %42.5 ve negatif prediktif değer %73.6 olarak bulundu. Testin geçerliliği (accuracy) de %48.9 olarak hesaplandı.

TNF- $\alpha$  ile fibrinojen düzeyleri arasındaki ilişki açısından Spearman's testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede bir anlam bulunmadı ( $r=0.148$ ,  $p=0.70$ ).

MIF IgG pozitiflikleri ile TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında aynı test ile ilişki arandığında yine anlam bulunmadı ( $r=0.175$ ,  $p=0.50$ ).

MIF IgG pozitiflikleri ile CRP düzeyleri arasında yapılan Spearman's testinde, MIF IgG yüksek olanlarda CRP'nin de arttığı, aralarında anlamlı bir ilişki olduğu saptandı ( $r=0.204$ ,  $p=0.048$ ).

MIF IgG pozitiflikleri ile tıkalı koroner damarlar arasında aynı analiz yöntemi ile bir anlam bulunamadı ( $\chi^2=2.795$ ,  $p=0.424$ ).

Sadece 4 hastada RF pozitif (2 AMI, 27.6 ve 24 IU/mL; 2 UAP, 24.2 ve 20.9 IU/mL) bulundu, bunlarda da gerek EIA gerekse MIF testlerinde IgM negatif olarak saptandı (tablo 10).

Tablo 10. Çalışmamızın genel sonuçları.

NO	YAŞ	Cins	Sigara	Aile	HT	DM	Tani	Damar	HDL	KOL	TG	FİB	CRP	RF	TNF	IgA	IgM	IgG	MİFA	MİFM	MİFG
1	51	E	+	+	-	-	AMI	2	34	240	529	315	0.13	24	19.39	N	N	1/200	N	N	1/128
2	65	E	+	-	-	-	AMI	3	47	90	68	384	1.13	<20	37.41	N	N	1/200	N	N	N
3	54	E	+	+	+	-	AMI	1	40	231	111	397	6.91	<20	9.03	N	N	1/200	N	N	1/64
4	38	E	-	-	-	-	AMI	Yok	30	193	189	334	3.74	<20	9.40	N	N	1/400	N	N	N
5	65	E	-	-	+	-	AMI	1	39	144	40	321	4.04	<20	7.06	N	N	1/200	N	N	1/64
6	43	K	+	+	+	+	UAP	1	40	216	222	560	0.25	<20	5.31	1/50	1/50	1/200	N	1/10	1/64
7	51	E	-	-	-	-	Kontrol	Yok	41	241	127	563	<0.13	<20	42.81	N	N	1/100	N	N	N
8	59	E	-	+	+	+	UAP	2	40	172	97	360	<0.35	<20	13.59	N	N	1/100	N	N	N
9	66	E	+	-	-	-	Kontrol	Yok	43	198	211	511	<0.13	<20	165.30	N	N	1/400	N	N	N
10	73	K	-	-	+	+	UAP	2	77	300	157	423	3.41	<20	185.14	N	N	1/200	N	N	1/64
11	44	E	+	-	-	-	AMI	1	39	248	189	424	0.37	<20	140.87	N	N	1/200	N	N	N
12	63	K	-	+	+	+	UAP	2	38	240	141	360	3.7	<20	137.97	N	N	1/200	N	N	1/256
13	74	E	-	-	-	-	Kontrol	Yok	37	237	139	346	0.22	<20	108.06	N	N	1/200	N	N	N
14	66	E	-	+	+	-	AMI	1	36	221	124	301	0.58	<20	85.29	N	1/50	1/100	1/16	1/10	N
15	73	E	-	-	+	+	UAP	1	47	142	58	324	0.75	<20	138.38	N	N	1/200	1/16	N	1/128
16	72	E	-	-	+	-	UAP	1	35	162	88	369	0.43	<20	212.95	N	N	1/200	1/16	N	1/256
17	64	K	+	+	+	-	UAP	1	31	214	267	406	0.52	<20	23.90	N	N	1/200	N	N	1/64
18	42	K	+	-	+	-	UAP	1	32	168	112	374	1.81	<20	43.47	N	N	1/200	N	N	1/64
19	48	E	-	+	+	-	UAP	1	34	251	139	243	0.36	<20	67.46	N	N	1/200	N	N	N
20	63	E	-	+	-	-	UAP	1	33	173	231	474	2.71	<20	6.50	N	N	1/200	N	N	N
21	70	E	-	+	-	-	UAP	1	29	192	166	363	0.15	<20	18.69	N	1/50	1/200	N	1/10	N
22	53	E	+	+	-	-	UAP	1	33	234	354	347	<0.13	24.2	4.89	N	N	1/200	1/16	N	N
23	56	K	-	-	-	-	Kontrol	Yok	39	193	97	416	0.56	<20	9.15	N	1/100	1/200	1/64	1/40	N
24	69	K	-	-	+	+	UAP	1	43	166	171	402	0.74	<20	149.77	1/50	1/200	1/64	N	N	N
25	52	K	-	-	+	-	UAP	1	42	193	231	499	<0.13	<20	9.64	N	N	1/100	N	N	N
26	43	K	-	-	-	-	Kontrol	Yok	39	165	137	443	<0.4	<20	102.10	N	N	1/100	N	N	N
27	74	E	-	+	+	-	UAP	1	35	172	90	214	0.49	<20	156.85	N	N	1/100	N	N	N
28	49	E	-	+	-	+	UAP	2	41	170	114	442	0.29	<20	12.64	N	N	N	N	N	N
29	58	E	+	+	-	-	UAP	3	37	201	147	324	0.26	<20	16.03	N	N	1/200	N	N	N
30	58	E	+	+	-	+	UAP	2	49	157	96	466	0.28	<20	6.83	N	N	1/200	1/16	N	1/8
31	53	E	+	-	-	-	Kontrol	Yok	45	190	98	512	0.74	<20	10.80	N	1/100	1/200	1/64	1/10	N
32	61	K	-	-	+	+	UAP	3	38	238	232	417	0.5	<20	5.42	N	N	1/200	N	N	1/16
33	65	K	-	-	-	-	UAP	3	33	214	197	679	0.47	<20	120.45	N	N	1/100	N	N	N
34	57	E	+	-	-	+	UAP	2	54	256	174	396	0.38	<20	121.83	N	N	N	N	N	N
35	49	K	+	-	-	-	Kontrol	Yok	42	215	169	516	0.45	<20	16.48	N	N	1/100	1/16	N	N
36	66	K	-	-	-	+	AMI	3	41	199	116	514	0.31	<20	71.48	1/50	1/200	N	N	N	1/16



NO	YAŞ	Cins	Sigara	Aile	HT	DM	Tani	Damar	HDL	KOL	TG	FIB	CRP	RF	TNF	IgA	IgM	IgG	MIFA	MIFM	MIFG
37	64	E	+	-	-	-	UAP	1	45	100	45	416	0.72	<20	9.27	N	N	N	N	N	N
38	74	E	+	+	+	-	UAP	3	42	161	73	316	7.20	<20	5.21	N	N	N	N	N	N
39	64	K	+	+	-	-	UAP	1	31	192	103	436	<0.13	20.9	0	N	N	1/100	N	N	N
40	57	E	+	+	-	-	UAP	1	46	276	192	541	<0.13	<20	205.86	1/50	1/100	1/100	1/64	1/80	1/16
41	74	K	-	-	-	-	UAP	3	61	209	83	574	3.03	<20	18.37	N	N	1/100	1/16	N	1/16
42	68	E	+	-	-	-	AMI	Yok	25	137	193	158	8.16	<20	23.90	N	N	1/100	N	N	N
43	65	K	-	-	-	+	UAP	1	35	205	138	217	0.73	<20	28.81	1/100	1/50	1/200	1/64	1/40	N
44	69	E	-	+	+	+	UAP	3	33	192	53	306	0.63	<20	6.94	N	N	1/100	N	N	N
45	52	K	-	-	-	-	Kontrol	Yok	25	160	60	220	<0.13	<20	17.22	N	1/50	1/200	N	N	N
46	70	K	-	-	-	-	AMI	1	35	218	173	315	1.29	<20	162.63	N	N	1/100	1/16	N	N
47	47	E	+	-	-	-	AMI	3	31	217	183	281	0.83	<20	14.09	N	N	1/400	N	N	N
48	56	E	-	+	+	+	UAP	1	45	210	207	211	0.38	<20	8.67	N	1/50	1/200	N	1/40	1/16
49	45	E	+	-	-	-	Kontrol	Yok	31	230	182	310	0.69	<20	16.03	1/100	N	1/200	1/64	N	N
50	69	K	-	-	-	-	Kontrol	Yok	45	218	179	319	0.26	<20	144.55	N	N	1/200	1/16	N	N
51	72	K	-	-	+	+	AMI	Yok	52	217	165	231	1.73	<20	55.12	1/200	1/50	1/200	1/128	1/40	1/16
52	52	K	+	-	-	-	UAP	1	40	210	187	551	0.29	<20	7.28	1/50	N	1/200	N	N	1/32
53	66	K	-	-	+	-	UAP	Yok	42	218	172	412	2.09	<20	3.95	1/200	N	1/100	N	N	1/16
54	38	E	+	-	-	-	AMI	2	38	330	247	661	8.66	<20	10.15	1/100	N	1/200	N	N	N
55	75	K	-	-	+	+	AMI	3	53	237	167	218	1.73	<20	14.27	1/50	N	1/200	N	N	1/16
56	52	E	-	-	-	-	UAP	2	42	218	173	218	3.17	<20	119.52	1/100	N	N	1/64	N	N
57	65	E	-	+	+	-	UAP	1	42	212	200	320	0.76	<20	128.11	1/100	N	1/200	1/64	N	N
58	54	E	-	+	+	-	UAP	1	35	200	320	431	0.42	<20	34.25	1/200	N	1/200	N	N	1/32
59	64	E	-	-	-	-	UAP	1	38	240	173	240	1.36	<20	11.07	1/200	N	1/100	N	N	N
60	84	E	-	-	-	-	Kontrol	Yok	48	218	173	290	0.40	<20	8.55	1/200	N	N	1/128	N	N
61	62	K	-	-	+	+	UAP	3	38	237	172	318	0.40	<20	40.69	1/200	N	1/200	1/128	N	1/16
62	68	E	-	-	-	-	UAP	3	47	152	56	218	2.72	<20	7.85	1/100	N	1/100	1/64	N	N
63	58	E	-	-	-	-	UAP	1	51	118	211	318	0.26	<20	8.67	1/200	N	1/200	1/128	N	N
64	66	E	+	-	-	-	UAP	2	48	169	101	315	8.85	<20	15.40	1/50	N	N	1/64	N	N
65	66	E	+	-	-	-	UAP	2	70	163	109	389	1.48	<20	8.43	1/100	N	1/200	1/64	N	N
66	74	K	-	-	-	-	UAP	3	40	286	198	318	<0.13	<20	155.29	1/200	N	1/200	1/128	N	N
67	66	E	+	-	-	-	UAP	1	38	217	180	418	0.28	<20	175.10	1/200	N	1/100	1/64	N	N
68	68	K	-	-	+	-	UAP	3	50	205	120	318	0.27	<20	165.30	1/200	N	1/100	1/64	N	N
69	36	E	+	-	-	-	UAP	2	34	218	217	318	<0.13	<20	5.31	1/100	N	N	1/16	N	N
70	48	E	+	-	-	-	AMI	1	40	261	201	318	0.44	<20	14.09	1/200	N	1/200	1/64	N	N
71	61	E	-	-	+	-	AMI	3	41	218	191	318	1.77	<20	102.60	1/200	N	1/100	1/128	N	1/32
72	71	K	-	-	-	-	Kontrol	Yok	51	198	120	278	0.76	<20	8.32	1/200	N	N	1/64	N	N

NO	YAŞ	Cins	Sigara	Aile	HT	DM	Tanı	Damar	HDL	KOL	TG	FIB	CRP	RF	TNF	IgA	IgM	IgG	MIFA	MIFM	MIFG
73	68	E	+	-	+	-	UAP	3	48	181	117	218	0.40	<20	85.80	1/100	N	1/200	1/64	N	1/16
74	71	E	-	-	-	-	UAP	3	52	208	187	318	1.13	<20	129.86	1/200	N	1/200	1/64	N	1/128
75	48	E	+	-	-	-	AMI	2	42	277	206	507	6.99	<20	54.11	1/200	N	1/200	1/64	N	1/64
76	54	E	+	-	-	+	AMI	2	39	191	79	794	6.45	27.6	9.03	1/200	N	1/200	N	N	1/16
77	77	E	-	-	-	-	Kontrol	Yok	41	175	89	794	0.8	<20	54.62	N	N	N	1/64	N	N
78	68	E	-	-	-	-	UAP	3	56	186	56	407	6.66	<20	193.27	1/200	N	1/100	1/64	N	1/16
79	75	E	+	-	-	-	Kontrol	Yok	191	42	112	409	0.86	28.6	6.61	N	N	N	N	N	1/16
80	52	E	+	+	-	-	AMI	1	39	228	221	346	7.20	<20	75.54	1/100	N	N	1/64	N	1/16
81	45	E	+	-	-	-	UAP	2	46	230	306	386	0.39	<20	6.06	1/100	N	N	1/16	N	1/16
82	36	E	+	-	-	-	AMI	1	41	205	150	412	3.50	<20	6.94	1/100	N	1/200	N	N	N
83	18	K	-	-	-	-	AMI	Yok	45	139	78	618	7.38	<20	21.69	1/50	N	1/100	N	N	N
84	62	E	+	-	-	-	AMI	1	39	239	143	401	0.63	<20	7.51	1/100	N	N	1/16	N	1/16
85	70	E	-	-	-	-	Kontrol	Yok	220	206	138	360	1.03	<20	11.21	1/50	N	N	N	N	N
86	50	E	+	+	-	+	UAP	3	37	238	119	386	1.70	<20	16.97	1/100	N	1/100	1/16	N	1/16
87	72	K	-	-	-	+	AMI	1	39	189	86	289	0.43	<20	6.50	1/100	N	1/200	1/16	N	1/32
88	68	E	+	-	-	-	AMI	Yok	28	194	242	389	<0.13	<20	189.94	1/100	1/50	1/100	1/64	1/40	1/32
89	63	E	-	+	+	-	AMI	Yok	40	210	160	410	3.05	<20	225.88	1/200	N	1/100	1/128	N	1/128
90	71	K	-	-	-	-	Kontrol	Yok	59	204	97	380	1.44	<20	16.97	1/50	N	N	N	N	1/16
91	67	K	+	-	-	+	UAP	1	41	159	88	401	0.49	<20	12.05	1/200	1/50	N	1/64	1/40	N
92	73	K	-	-	-	-	Kontrol	Yok	46	260	200	360	0.50	<20	8.67	N	N	N	N	N	N
93	58	K	-	-	-	-	Kontrol	Yok	38	205	189	310	<0.13	<20	5.74	N	N	N	N	N	N
94	65	E	+	+	+	-	UAP	1	40	154	108	410	0.40	<20	40.69	.	.	.	N	N	N
95	70	E	+	-	-	-	Kontrol	Yok	48	120	136	214	<0.13	<20	7.28	.	.	.	N	N	N
96	60	E	+	-	-	-	Kontrol	Yok	37	177	177	340	<0.13	<20	10.80	.	.	.	N	N	N

HT: Hipertansiyon      DM: Diabetes mellitus      KOL: Total kolesterol      TG: Trigliserid      FIB: Fibrinojen

## 5. TARTIŞMA

Myokard infarktüsü, uzun süren bir iskemi sonucunda görülen irreversibl doku zedelenmesi ve nekrozudur (21). Vakaların çoğunda infarktüs, aterosklerotik bir koroner arterde oluşan oklüzyon sonucu gelişir (21,22). Ateroskleroz, kronik inflamatuvar cevabın patolojik olarak benzeridir. Endotel hasarı, makrofajların subendotelyal dokuya migrasyonu ve toplanması, düz kas hücrelerinde proliferasyon ve adezyon moleküllerinin lokal olarak salınımı aterosklerozdaki patogenezin ana hatlarıdır (23,24).

Aterosklerotik kalp hastalıklarının etyolojisinde pek çok faktör sorumlu tutulmuş ancak bir tek faktör ile olduğuna dair kanıt bulunamamıştır. Günümüzde şahsın ailesinde aterosklerotik kalp hastalığı hikayesi, cinsiyet, sigara alışkanlığı, alkol, hipertansiyon, diabetes mellitus gibi etkenler risk faktörleri kabul edilmektedir. Çalışmamızda 25 AMI'li hastanın 19'u (%76), 51 UAP'li hastanın 34'ü (%66) ve 20 kontrolden 11'i (%55) erkekti ( $\chi^2=2.205$ ,  $p=0.332$ ). Bu sonuca göre bizim çalışmamızda cinsiyet koroner kalp hastalıkları açısından önemsiz görülmektedir, ancak çalışmamıza aldığımız vaka sayısının az olması bunda etken olabilir.

Çalışmamızda 30 yaş altında UAP ve kontrol grubu olmamasına rağmen AMI'lü sadece 1 hasta vardı. 31-49 yaş grubunda 7 AMI (%43.8), 6 UAP (%37.4) ve 3 kontrol (%18.8), 50-69 yaş grubunda 13 AMI'li (%22.8), 36 UAP'li (%63.2) ve 8 kontrol (%14), 70 yaş üzerindeki hasta grubunda ise 4 AMI (%18.2), 9 UAP (%40.9) ve 9 kontrol (%40.9) vardı. AMI grubunda yaş ortalaması 56.04 (S.E.±2.81), UAP grubunda 61.57 (S.E. ±1.29) ve kontrol grubunda da 63.35 (S.E. ±2.64) olarak saptandı (F=2.872, P=0.062).

Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda virüslerin ateroskleroz benzeri lezyonları başlatabildikleri gözlenmiştir (25). İnfluenza epidemileri esnasında koroner arter hastalığı nedeni ölümelerde artış görülür (25). Koroner arter hastalığı, arterial duvarı hasarlandıran pek çok olayı takiben gelişiyor olabilir, bunlardan biri de infeksiyonlar olup arter duvarında daralmaya neden olabilirler (25). Özellikle son zamanlarda pek çok yayında infeksiyöz ajan ile ateroskleroz arasında bir ilişki olduğu bildirilmektedir (25-27). Arbustini ve ark. (28) endotel plağındaki erozyonun intimaldaki yüzeyel hasar ile neointimal hiperplazi nedeniyle oluştuğunu, bunun da eksojen veya endojen nedenleri olduğunu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar DNA ve RNA virüsleri ile hücre içine yerleşen bakterilerin endotel plağında neointimal hiperplaziyi artıran eksojen nedenlerden olduklarını belirtmektedirler.

Yaklaşık 50 yıldır klamidyalar ile aterosklerotik kalp hastalıkları arasında bir ilişki olabileceğine dair yayınlar mevcuttur. 1930'lu yıllarda psittakoz, embolik komplikasyonlardan ve kardiyak inflamasyondan sorumlu tutulmuştu. Günümüzde klamidyaların kardit etyolojisinde önemli rol oynadıkları bilinmektedir. 1940'lı yıllarda Güney Amerika'lı araştırmacılar LGV ile aterosklerotik kalp hastalıkları arasında bir ilişki olabileceğini, Frei deri testi ile bu hastalıklar arasında bir paralellik olduğunu gördüler; ancak çalışmaları İspanyolca dergilerde yayınlandı ve uluslararası bilimin dikkatini çekmeye yetmedi (18).

Pek çok yayında *C.pneumoniae* infeksiyonunun, aterosklerotik kalp hastalıkları patogeneğinde rol oynayabileceği, çünkü *C.pneumoniae*'nin solunum sistemindeki infeksiyonlarından sonra persiste kalabileceği ve persistent *C.pneumoniae* infeksiyonunun da koroner arterlerde ateroskleroza yol açabileceği belirtilmektedir (23,29-33). Akut solunum



sistemi infeksiyonu etkeni olarak iyi bilinen, *C.pneumoniae* ile aterosklerotik kalp hastalıkları arasındaki ilişki yapılan seroepidemiyolojik çalışmalar ile klinik veya radyolojik olarak aterosklerotik kalp hastalığı tanısı almış hastalarda yüksek düzeyde *C.pneumoniae* antikoru ve dolaşan immün komplekslerin varlığı saptanmış ayrıca mikroorganizmanın kendisi aterosklerotik plaktan direkt olarak elektron mikroskopisi, immünokimyasal yöntemler ve PCR kullanılarak gösterilmiştir (34-42). Aynı yöntemlerle *C.pneumoniae* varlığı, karotid arter ateromlarında, aort dokusunda, femoral ve popliteal aterom örneklerinde de gösterilmiştir (32,44,45). Hatta koroner aterosklerotik plak yırtılmalarından sorumlu olabileceği bildirilmektedir (41). Bir çalışmada, koroner arterlerde ateroskleroza ait herhangi bir histolojik bulgu olmadığında *C.pneumoniae*'nin da bulunmadığı saptanmıştır (32). Hücre tipi-spesifik monoklonal antikolarla yapılan çalışmalarda *C.pneumoniae*'nin koroner arter ateromlarında makrofajlar içinde ve aort ateromlarında da hem makrofajlar hem de düz kas hücreleri içinde bulunduğu saptanmıştır (32). Farelere burun yolu ile verildikten sonra dalak ve peritoneal makrofajlarında *C.pneumoniae* gösterilmiştir. Bu da bakterinin sistemik dolaşım ile yayılıp makrofajlarda yerleştiğini göstermektedir (32). Jackson ve ark. (32) yaptıkları otopsi çalışmasında koroner arterlerde *C.pneumoniae* varlığının PCR ve immünohistokimyasal yöntemler kullanarak aterom plaklarında %34 oranında olduğunu saptamışlardır. Diğer bir çalışmada da bu oran %53 ile %61 arasında değişmektedir (39). Aynı araştırmacılar, *C.pneumoniae*'nin kardiyovasküler dokular dışına daha az yerleştiğini, başka dokuya yerleşmiş olsa da yine kardiyovasküler dokuda bulunduğunu, *C.pneumoniae*'nin kardiyovasküler dokuyu yerleşmek için daha çok tercih ettiğini bildirmektedirler (32).

Leinonen (46) yaptığı çalışmada alveoler veya endotelial makrofajlar içine yerleşen *C.pneumoniae*'nin, bu hücrelerin yıkımı sonucunda yapısal komponentleri ile beraber serbest kalarak dolaşıma çıktığını gösterdi. Serbest kalan yapısal maddelerden biri de klamidyal lipopolisakkariddir (LPS). Akut myokard infarktüsü veya kronik koroner kalp hastalığı gibi olası kronik klamidyal infeksiyonlarda klamidyal LPS içeren immun komplekslerin varlığı yine aynı araştırmacı tarafından gösterilmiştir (46).

Klamidyal infeksiyonlarda IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  üretimi artar. TNF- $\alpha$ , başta gram negatif bakteriler olmak üzere pek çok infeksiyon etkenine karşı oluşan konak cevabının önde gelen mediatörüdür, ana kaynağı LPS ile aktive olmuş mononukleer fagositlerdir (47). Özellikle hücre içine yerleşen mikroorganizmalar makrofajda TNF- $\alpha$  yapımını artırır. Salınan TNF- $\alpha$  diğer makrofajları uyarır (48). Dolaşımda bulunan klamidyal LPS, TNF- $\alpha$  yapımını uyarır, TNF- $\alpha$ 'nın en önemli fonksiyonlarından biri lipoprotein lipazı inhibe ederek hepatik lipogenezi artırma ve buna bağlı olarak lipidlerin mobilizasyonu sonucu kanda trigliserid düzeyinde artma ve HDL düzeyinde azalmadır (18,46,49). Leinonen yaptığı çalışmada (46), *C.pneumoniae* pnömonisi esnasında pnömokoksik veya viral pnömoniler ile karşılaştırıldığında trigliserid düzeylerinde önemli miktarda artış, HDL düzeylerinde (özellikle de HDL<sub>2</sub>) azalma saptadılar. Aynı araştırmacılar, buna göre kronik *C.pneumoniae* infeksiyonlarının, devamlı TNF- $\alpha$  yapımına neden olarak serum lipid düzeylerini koroner kalp hastalığı için bir risk faktörü oluşturacak şekilde değiştirdiği kanısına varmışlardır.

Çalışmamızda AMI tanısı alanlarda TNF- $\alpha$  düzey ortalamasını 54.957 (S.E. $\pm$ 12.678) pg/ml, UAP hastalarında 61.015(S.E.  $\pm$ 9.627) pg/ml ve kontrol grubunda da 38.564 (S.E. $\pm$ 11.156) pg/ml olarak bulduk (F=0.886, P=0.416). Aynı şekilde, yaptığımız çalışmada AMI hastalarında ortalama HDL düzeyi 38.92 (S.E. $\pm$ 1.29) mg/dL, UAP hastalarında ortalama HDL düzeyi 42.24 (S.E. $\pm$ 1.33) mg/dL ve kontrol grubunda ortalama HDL düzeyi 58.30 (S.E. $\pm$ 11.42) mg/dL olarak bulundu. İstatistiksel olarak AMI ve UAP grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında kontrole göre bu gruplarda anlamlı düşme olduğu saptandı. Bu sonuca göre TNF- $\alpha$  ve HDL düzeyleri ile AMI ve UAP hastalarında kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır.

TNF- $\alpha$  ve HDL ile AMI ve UAP arasında anlamlı ilişki bulunmasına rağmen total kolesterol ve trigliserid düzeyleri ile AMI ve UAP arasında kontrollere göre anlamlı ilişki bulunamadı. Total kolesterol ortalaması, AMI hastalarında 210.92 (S.E. $\pm$ 9.76) mg/dL, UAP hastalarında 199.90 (S.E. $\pm$ 5.6) mg/dL ve kontrol grubunda 192.60 (S.E. $\pm$ 10.63) mg/dL olarak bulundu (F=1.012, p=0.367). Ortalama trigliserid düzeyleri ise AMI hastalarında 170.04 (S.E. $\pm$ 18.60) mg/dL, UAP hastalarında 155.84 (S.E. $\pm$ 9.84) mg/dL, kontrol grubunda da 141.50 (S.E. $\pm$ 9.38) mg/dL olarak bulundu (F=0.867, p=0.423).

*C.pneumoniae* infeksiyonunun tanısında hücre kültürü, PCR ve serolojik testler kullanılmaktadır (3,22,23,32-34,36-38,52). *C.pneumoniae*'nin hücre kültürü ile üretilmesi çok başarılı sonuçlar vermemektedir (3). Bu nedenle PCR ve serolojik testler daha sık kullanılmaktadır. Serolojik testler, nispeten kolay ve daha ucuz olmaları nedeni ile *C.pneumoniae* tanısında tercih edilmektedirler (3). Biz de



çalışmamızda serolojik testler olan EIA ve MIF testlerini kullandık. Literatürde EIA ile *C.pneumoniae* antikorunu saptanmasına yönelik çok fazla yayın olmamasına ve epidemiyolojik çalışmalar için tavsiye edilmemesine rağmen (3) klamidyal LPS'e karşı oluşan IgA, IgM ve IgG antikorlarını saptamak ve MIF testi ile karşılaştırmak için EIA testini kullandık.

MIF testi, infeksiyon esnasında *C.pneumoniae* elementer cisimlerinin (EB) major dış membran proteinlerine (MOMP) karşı oluşan özgül antikorların tespitinde kullanılan güvenilir bir tanı yöntemidir (52-55).

Numazaki ve ark. (56), EIA yöntemi ile yaptıkları çalışmada çocuklarda ve erişkinlerde *C.pneumoniae* IgA, IgM ve IgG antikorlarını araştırdılar. Sonuçlarını MIF testi ile karşılaştırdıklarında EIA testinin IgA için MIF ile karşılaştırıldığında duyarlılığını %84.6, özgüllüğünü %86.7 olarak; IgG için MIF ile karşılaştırdıklarında ise duyarlılığını %90.4, özgüllüğünü ise %89.9 olarak buldular. Bu bulgularla EIA testinin *C.pneumoniae* IgA ve IgG saptanmasında gayet başarılı bulduklarını bildirdiler. Bizim yaptığımız çalışmada ise, MIF IgA testine göre EIA IgA testinin duyarlılığı %74.4, özgüllüğü %74 olarak; MIF IgG testine göre EIA IgG testinin duyarlılığı %86, özgüllüğü ise %25 olarak bulundu. Numazaki ve ark.'nın yaptığı çalışmada çocuk, genç ve erişkinlerde genel olarak IgA ve IgG taramaları, bizim ise sadece belli hastalık grubunda antikor aramamız testlerin özgüllüklerindeki farkı yaratmış olabilir. Ancak IgG açısından duyarlılıkları yakın olarak görülmektedir.

Yaptığımız çalışmada, *C.pneumoniae* IgA pozitifliği açısından bakıldığında EIA testi ile pozitiflik ( $\geq 1/50$ ) AMI grubunda 15 hastada (%60), UAP grubunda 24 hastada (%48) (her iki grubun toplamının ortalaması %52) ve kontrol grubunda da 6 kişide (%33.33) saptandı. EIA

testi ile *C.pneumoniae* IgA pozitifliği kontrollere göre AMI ve UAP grubunda anlamlı olarak bulunmadı ( $\chi^2=5.315$ ,  $p=0.504$  (tablo 4).

*C.pneumoniae* IgM pozitifliği EIA testi ile ( $>1/50$ ) AMI grubunda 3 hastada (%12), UAP grubunda 6 hastada (%12) (her iki grubun toplamının ortalaması 512) ve kontrol grubunda da 2 kişide (%11) saptandı ve EIA testi ile saptanan *C.pneumoniae* IgM pozitifliği kontrollere göre AMI ve UAP grubunda anlamlı bulunmadı ( $\chi^2=0.5006$ ,  $p=0.287$ ) (tablo 6).

*C.pneumoniae* IgG EIA testi ile pozitiflik ( $>1/100$ ); AMI grubunda 23 hastada (%92), UAP grubunda 41 hastada (%82) (her iki grubun toplamının ortalaması %85.33) ve kontrol grubunda da 10 kişide (%55.55) saptandı; EIA testi ile saptanan *C.pneumoniae* IgG pozitifliği kontrollere göre AMI ve UAP grubunda anlamlı derecede yüksek bulundu ( $\chi^2=8.943$ ,  $p=0.011$ ) (tablo 8).

Yapılan araştırmalarda koroner arter hastalıkları ile *C.pneumoniae* ilişkisinin incelenmesinde genellikle MIF testi tercih edilmektedir. Saikku (18) ilk olarak bu konuda araştırma yapan kişidir ve yaptığı çalışmada kronik MI ile *MIF IgG* seropozitifliğini ( $\geq 1/32$ ) %87, kontrol grubunda da %61 olarak bulmuştur. Thom ve ark. (57) ise *MIF IgG* seropozitifliğini ( $\geq 1/8$ ), koroner arter hastalığı olanlarda %67, kontrol grubunda %48 olarak bildirmişlerdir. Puolakkainen ve ark. (58), Güney Afrika'da yaptıkları çalışmada *MIF IgG* seropozitifliğini ( $\geq 1/8$ ), 45 postmortem serum örneğinin 34'ünde (%75.6) saptadılar. Yaptıkları otopsilerde bu kişilerin koroner arterlerinde değişiklikler buldular. Aterosklerozun erken evrelerindeki IgG titreleri ileri evrelerdeki titrelerden daha düşük idi. Ayrıca bu çalışmalarında arterial plakta *C.pneumoniae* bulunmasına rağmen seronegatif olan kişiler de saptadılar, ve bunun sebebinin

antikorların immün komplekslere bağlanarak MIF testi ile saptanamamasına bağladılar.

Ülkemizde Demirel *ve ark.* (53), AMI hastalarında *MIF IgG* seropozitifliğini ( $\geq 1/64$ ), %42.85 ve kontrol grubunda da %12.96 olarak saptadılar.

Çalışmamızda tablo 8-9'dan da anlaşılabileceği gibi, gerek EIA, gerekse *MIF IgG* pozitiflikleri (EIA için 1/100, *MIF* için 1/16) AMI ve UAP hastalarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırası ile  $p=0.011$  ve  $p=0.006$ ). Bu sonuç, Saikku P. (18), Puolakkainen *ve ark.* (58), Thom *ve ark.* (57) ve Demirel *ve ark.* (53)'ün bulgularını destekler niteliktedir. Çalışmamızda EIA *IgG* testi ile pozitiflik ( $\geq 1/100$ ), AMI grubunda %92, UAP grubunda %82 ve kontrollerde %55.55 olarak; *MIF IgG* seropozitifliğini ise ( $\geq 1/16$ ), AMI grubunda %56, UAP grubunda %39.2 (her iki grup toplamı ortalaması %44.74) ve kontrol grubunda %10 olarak saptandı. EIA testinde daha yüksek oranda pozitiflik olmasının nedeni iki test arasında önerilen pozitiflik titrasyonlarının farklılığının yanısıra EIA testinin, genusa spesifik LPS'e karşı gelişen antikorları tespit etmesi olabilir.

**Tablo 11.** Bazı araştırmalarda bulunan *MIF IgG* pozitiflik oranları.

Araştırmacı	Referans titre	Hasta grubu	Kontrol grubu
Thom <i>ve ark.</i> (57)	1/8	%67	%48
Puolakkainen <i>ve ark.</i> (58)	1/8	%75.6	-
Bizim çalışmamız	1/16	%44.74	%10
Saikku <i>ve ark.</i> (18)	1/32	%87	%61
Demirel <i>ve ark.</i> (53)	1/64	%42.85	%12.96

Değişik araştırmalarda MIF IgG pozitifliklerinin değişik oranlarda görölüyor olmasının nedeni kullanılan MIF kitlerinde önerilen referans titrelerinin farklılığından kaynaklanabilir (tablo 11). Çalışmamızda MIF IgG ile bulunan pozitiflik oranları diğer çalışmalara göre titrasyonlar açısından düşüktür.

MIF IgG pozitiflikleri ile TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında Spearman's testi ile yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda ilişki saptanmadı ( $r=0.148$ ,  $p=0.70$ ). Buna göre bizim bulgularımız Saikku (18)'nin çalışmasının sonuçlarını desteklememektedir.

MIF IgG ile CRP düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptandı ( $r=0.204$ ,  $p=0.048$ ).

MIF IgG pozitiflikleri ile tıkalı damar sayısı istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir korelasyon bulunmadı ( $\chi^2=2.795$ ,  $p=0.424$ ).

*C.pneumoniae* IgG pozitifliğini AMI ve UAP hastalarında kontrol grubuna göre gerek EIA gerekse MIF yöntemleri ile anlamlı olarak yüksek bulduk. Bu sonuç, kronik *C.pneumoniae* infeksiyonunun aterosklerotik kalp hastalıklarının etyolojisinde rolü olabileceği görüşlerini destekler niteliktedir. Bu nedenle hastanelerin kardiyoledi servislerine yatırılan aterosklerozlu hastalardan *C.pneumoniae* açısından gerekli araştırmaların yapılmasına ve mikrobiyoloji laboratuvarlarının da bu konuya daha fazla eğilmesi gerekliliğine inanmaktayı

## 6. SONUÇ

1. Aterosklerotik kalp hastalığı ile yaş arasındaki ilişki kontrollere göre anlamlı bulunmuştur.
2. AMI ve UAP hastaları ile ailede aterosklerotik kalp hastalığı hikayesi arasında kontrollere göre oldukça anlamlı ilişki bulunmuştur.
3. Hipertansiyon ve diabetes mellitus ile aterosklerotik kalp hastalığı arasında kontrollere göre anlamlı bir ilişki saptanmıştır.
4. Aterosklerotik kalp hastalığında HDL düzeyi azalması kontrollere göre oldukça anlamlı olarak bulunmuştur.
5. Triglisericid ve fibrinojen düzeyleri ile aterosklerotik kalp hastalığı arasındaki ilişki, kontrollere göre anlamlı bulunmamıştır.
6. Kontrollerle karşılaştırıldığında aterosklerotik kalp hastalığında CRP artışı oldukça anlamlı olarak bulunmuştur.
7. Kontroller ile karşılaştırıldığında aterosklerotik kalp hastalıklarında TNF- $\alpha$  artışı olduğu gösterilmiştir.
8. AMI ve UAP hastalarında *C.pneumoniae* IgA tespitinde, gerek EIA gerekse MIF testleri ile kontrollere göre anlam ifade eden bir sonuç bulunamamıştır.

9. AMI ve UAP hastalarında kontrollerle karşılaştırıldığında *C.pneumoniae* IgM pozitifliği açısından EIA ve MIF testlerinin her ikisinde de istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır.
10. *C.pneumoniae* IgG pozitifliği açısından hem EIA hem de MIF testleri ile AMI ve UAP hastalarında kontrollerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.
11. *C.pneumoniae* MIF IgM seropozitifliği saptanan hastalarda 6 hafta sonra sonuç negatif olarak bulunmuştur.
12. *C.pneumoniae* EIA IgA testinin duyarlılığı %74.4, özgüllüğü %74; IgM testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %98.8 ve IgG testinin duyarlılığı %86, özgüllüğü %25 olarak bulunmuştur.
13. MIF IgG seropozitifliği ile TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında istatistiksel olarak ilişki saptanamamıştır.
14. MIF IgG seropozitifliği ile CRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir ilişki saptanmıştır.
15. MIF IgG seropozitifliği ile tıkalı damar ilişkisi istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir.

## 7.ÖZET

*C.pneumoniae*, özellikle solunum sistemini ilgilendiren infeksiyonlar oluşturmakta ise de son yıllarda pek çok çalışmada aterosklerotik kalp hastalıkları ile arasında bir ilişki olabileceği bildirilmektedir (1-3, 19).

*C.pneumoniae*'nin aterosklerotik kalp hastalıkları ile beraberliği değişik yöntemler kullanılarak gösterilmekte ise de (3 ) serolojik tanı daha fazla tercih edilmektedir (3 ).

Serolojik tanıda EIA testleri kullanılmakta ancak epidemiyolojik çalışmalar için önerilmemektedirler (3). MIF testi daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Pek çok çalışmada, MIF testi kullanılarak *C.pneumoniae* antikoru ile aterosklerotik kalp hastalıkları arasındaki ilişki gösterilmiştir (14,15,23).

Çalışmamızda *C.pneumoniae* ile aterosklerotik kalp hastalıkları arasındaki ilişkinin , EIA ve MIF yöntemleri kullanılarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya Eskişehir ve çevresinde yaşayan değişik kardiyak şikayetlerle Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji servisine yatırılarak akut myokard infarktüsü (AMI) tanısı konan yaşları 18-75 (ort.  $56.04 \pm 2.81$ ) arasında değişen 19'u erkek, 6'sı kadın toplam 25 hasta ile; unstable angina pectoris (UAP) tanısı konan yaşları 36-74 (ort.  $61.57 \pm 1.29$ ) arasında değişen 33'ü erkek, 18'i kadın toplam 51 hasta dahil edildi. Kontrol grubuna ise, koroner anjiyografide herhangi bir damar tıkanıklığı bulunmayan, EKG ve fizik muayene bulguları ile aterosklerotik kalp hastalığı olarak değerlendirilmeyen, hipertansiyon ve diabetes



mellitusu olmayan, ailelerinde aterosklerotik kalp hastalığı tarif etmeyen yine Eskişehir civarında yaşayan yaşları 43-84 (ort.63.35 ± 2.64) arasında değişen 11'i erkek, 9'u kadın olmak üzere toplam 20 kişi alındı.

*C.pneumoniae* IgG pozitifliğini AMI ve UAP hastalarında kontrol grubuna göre gerek EIA gerekse MIF yöntemleri ile anlamlı olarak yüksek bulduk. Bu sonuç, kronik *C.pneumoniae* infeksiyonunun aterosklerotik kalp hastalıklarının etyolojisinde rolü olabileceği görüşlerini destekler niteliktedir. Bu nedenle hastanelerin kardiyoloji servislerine yatırılan aterosklerozlu hastalardan *C.pneumoniae* açısından gerekli araştırmaların yapılmasına ve mikrobiyoloji laboratuvarlarının da bu konuya daha fazla eğilmesi gerekliliğine inanmaktayız.

## KAYNAKLAR

1. Anđ Ö, Badur S, Ađaçfidan A. Chlamidya infeksiyonları ve tanıda yenilikler. 1994; *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını* No: 20
2. Odeh M., Oliver A. Chlamidyal infections of heart. *Eur J Microbial Infect Dis* 1992; October: 885-633
3. Gwendolyn LG. Chlamydia. *Practical Medical Microbiology* Churchill-Livingstone Company. New York , 1996; p. 621-633
4. Schachter J and Stamm WE. Chlamidya. *Manual of Clinical Microbiology*.ASM Press; Washington, 1995; p.669-677
5. Bavoil P, Ohlin A, Schachter J. Role of Disulfid bonding in outer membran structure and permeability in *C. trochomatis*. *Infection and Immunity*, 1984; 44: 479-485
6. Ni A P, Lin G Y, Yang L, He H Y, Huang C W, Liu Z J, Wang R S, Zhang J S, Yu J Y, Li N, Wang J B, Yang H Y. A Seroepidemiologic Study of Chlamydia pneumoniae, Chlamydia psittaci in Different Populations on the Mainland of China. *Scand J Infect Dis* 1996; 28: 553-557.
7. Saikku P, Wang S P, Kleemola M, Brander E, Rusanen E, Grayston J T. An Epidemic of Mild Pneumonia Due to an Unusual Strain of Chlamydia psittaci. *The Journal of Infections Diseases*,1985; 151: 832-839
8. Grayston J T, Campbell L A, Kuo C C, Mordhorst C H, Saikku P, Thom d H, Wang S P. A New Respiratory Tract Pathogen: Chlamydia pneumoniae Strain TWAR. *The Journal of Infections Diseases* 1990; 161: 618-625.

9. Bruu A L, Haukenes G, Aasen S, Grayston J T, Wang S P, Klausen O G, Myrmel H, Hasseltvedt V. Chlamydia pneumoniae Infections in Norway 1981-87. Earlier Diagnosed as Ornithosis. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 299-304.
10. Kanamoto Y, Ouchi K, Mizui M, Ushio M, Usui T. Prevalence of Antibody to Chlamydia pneumoniae TWAR in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 1991; 29: 816-818
11. Grayston J T, Mordhorst, Bruu A L, Vene S, and Wang S P. Countrywide Epydemics of Chlamydia pneumoniae, Strain TWAR, in Scandinavia 1981-1983. *The Journal of Infections Diseases* 1989; 159: 1111-1114.
12. Grayston J T. Chlamydia pneumoniae, Strain TWAR pneumoniae. *Annu Rev Med* 1992; 43: 317-323
13. Blasi F, Cosentini R, Schoeller M C, Lupo A, Allegra L. Chlamydia pneumoniae Seroprevalence in Immunocompetent and Immunocompramised Populations in Milan. *Thorax* 1993; 48: 1261-1263
14. Fryer R H, Schwobe E P, Woods M L. Rodgers G M. Chlamydia Species Infect Human Vascular Endothelial Cells and Induce Procoagulant Activity. *Journal of Investigative Medicine* 1997; 45: 168-174
15. Godzik K L, O'Brien E R, Wang S K, Kuo C C. In vitro Susceptibility of Human Vascular Wall Cells to Infection with Chlamydia pneumoniae. *Journal of Clinical Microbiology* 1995; 33: 2411-2414

16. Karimi S T, Schloemer R H, Wilde C E. Accumulation of Chlamydial lipopolysaccharide Antigen in the Plasma Membranes of Infected Cells. *Infection and Immunity* 1989; 7: 1780-1785
17. Halme S, Surcel H M. The Cellular Immunity to Chlamydia pneumoniae. *The Lancet* 1996; 341: 825-829
18. Saikku P. Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor in acute myocardial infarction. *European Heart Journal* 1993; 14(Supplement K): 62-65.
19. Fryden A, Kihlström E, Maller R, Persson K, Romanus V, Ansehn S. A Clinical and Epidemiological Study of "Ornithosis" Caused by Chlamydia psittaci and Chlamydia pneumoniae (Strain TWAR) *Scand J Infect Dis* 1989; 21: 681-691
20. Black C M, Johnson J E, Farshy C E, brown T M, Berdal B. Antigenic Variation among Strains of Chlamydia pneumoniae. *Journal of Clinical Microbiology* 1991; 29: 1312-1316
21. Willerson J T. Acute Myocardial Infarction. *Cecil Textbook of Medicine*. W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1988; p.329
22. Mattila K J. Viral and bacterial infections in patients with acute myocardial infarction. *Journal of Internal Medicine* 1989; 225: 293-296
23. Ramirez J A. Isolation of Chlamydia pneumoniae from the Coronary artery of a Patient with Coronary Atherosclerosis. *Ann Intern Med* 1996; 125: 979-982
24. Spodick D H. Inflammation and the Onset of Myocardial Infarction. *Ann Intern Med* 1985; 102: 699-702

25. **Pesonen E.** Acute myocardial infarction precipitated by infectious disease. *Am Heart J* 1981; 101: 512-513
26. **Libby P, Egan D, Skarlatos S.** Roles of Infectious Agents in Atherosclerosis and Restenosis. An Assessment of the Evidence and Need for Future Research. *Circulation* 1997; 96: 4095-4103
27. **Epstein S E, Zhou Y F, Zhu J.** Infection and atherosclerosis: emerging mechanistic paradigms. *Circulation* 1999; 100: e 20-28
28. **Arbustini E, Morbini P, Bello B D, Prati F, Specchia G.** From plaque biology to clinical setting. *Am Heart J* 1999; 138: 55-60
29. **Blanchard T, Bailey R, Holland M, Mabey D.** Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. *The Lancet* 1993; 341: 825
30. **Melnick S L, Shahar E, Folsom A R, Grayston J T, Sorlie P D, Wang S P, Szklo M.** Past Infection by Chlamydia pneumoniae Strain TWAR and Asymptomatic Carotid Atherosclerosis. *Am J Med* 1993; 95: 499-504
31. **Markus H S, Sitzer M, Carrington D, Mendall M A, Steinmetz H.** Chlamydia pneumoniae infection and early asymptomatic carotid atherosclerosis. *Circulation* 1999; 100: 832-837
32. **Carlisle S S, Nahata M C.** Chlamydia pneumoniae and coronary heart disease. *Ann Pharmacother* 1999; 33: 615-622

33. **Vercellotti G.** Infectious agents that play a role in atherosclerosis and vasculopathies. What are they? What do we do about them? *Can J Cardiol* 1999; 15 (Supplement B): 13B-15B
34. **Jackson L E, Campbell L A, Schmidt R A, Kuo C C, Cappuccio A L, Lee M L, Grayston J T.** Specificity of Detection of *Chlamydia pneumoniae* in Cardiovascular Atheroma. Evaluation of the Innocent Bystander Hypothesis. *Am J Pathol* 1997; 150: 1785-1790
35. **Ong G, Thomas B J, Mansfield A O, Davidson B R, Taylor-Robinson D.** Detection and widespread distribution of *Chlamydia pneumoniae* in the vascular system and its possible implications. *J Clin Pathol* 1996; 49: 102-106
36. **Mlot C.** Chlamydia Linked to Atherosclerosis. *Science* 1996; 272: 1422
37. **Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Erkman M-R, Nieminen M S, Makela P H, Huttunen J K, Valtonen V.** Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *The Lancet* 1998; 281: 35-37
38. **Gura T.** Infections: A cause of Artery-Clogging Plaques? *Science* 1998; 281: 35-37
39. **Kuo C C, Shor A, Campbell L A, Fukushi H, Patton D, Grayston J T.** Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in Atherosclerotic Lesions of Coronary Arteries. *The Journal of Infectious Diseases* 1993; 167: 841-849

40. Jackson L A, Campbell L A, Kuo C C, Rodriguez D I, Lee A, Grayston J T. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from a Carotid Endarterectomy specimen. *The Journal of Infectious Diseases* 1997; 176: 292-295
41. Bauriedel G, Welsch U, Likungu J A, Welz A, Lauderitz B. *Chlamydia pneumoniae* in coronary plaquer: Increase detection with acute coronary syndrome. *Dtsch Med Wochenschr* 1999; 24: 375-380
42. Sessa R, Di Pietro M, Santino I, del Piano M, Varveri A, Dagianti A, Penco M. *Chlamydia pneumoniae* infection and atherosclerotic coronary disease. *Am Heart J* 1999; 137: 1116-1119
43. Esposito G, Blasi F, Allegra Ll, Chiesa R, Melissanao G, Cosentini R, Tarsia P, Dordoni L, Cantoni C, Arosia C, Fagetti L. Demonstration of viable *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic plaques of carotid arteries by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Ann Vasc Surg* 1999; 12: 421-425
44. Lindholt J S, Juul S, Vammen S, Lind I, Fasting H, Henneberg E W. Immunoglobulin A antibodies against *Chlamydia pneumoniae* are associated with expansion of abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg* 1999; 86: 634-638
45. Thomas M, Wong Y, Thomas D, Ajaz M, Tsang V, Gallagher P J, Ward M E. Relation between direct detection of *Chlamydia pneumoniae* DNA in human coronary arteries at postmortem examination and histological severity (Stary gradind) of associated atherosclerotic plaque. *Circulation* 1999; 99: 2733-2736
46. Leinonen M. Pathogenetic mechanisms and epidemiology of *Chlamydia pneumoniae*. *Eur Heart J* 1993; 14 (Supplement K): 57-61



47. **Bryant N J.** *Laboratory Immunology and Serology.* W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1992; p.11
48. **Roitt I, Brostoff J, Male D.** *Immunology.* Mosby Company, Barcelona 1996; p. 17.3
49. **Mendall M A, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield T C.** C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *B M J* 1996; 312: 1061-1065
50. **Kantula K, Vuorio A, Turtola H, Saikku P.** Association of seropositivity for Chlamydia pneumoniae and coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolaemia. *The Lancet* 1999; 354: 46-47
51. **Patel P, Carrington D, Strachan D P, Leatham E, Goggin P, Northfield T C, Mendall M A.** Fibrinogen: a link between chronic infection and coronary heart disease. *The Lancet* 1994; 343: 1634-1635
52. **Freidank H M, Vögele H, Echert K.** Evaluation of a New Commercial Microimmunofluorescence Test for Detection of Antibodies to Chlamydia pneumoniae, Chlamydia trachomatis, and Chlamydia psittaci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 685-688
53. **Demirel K, Albay A, Özyurt M, Haznedaroğlu T, Gün H.** Akut myokard infarktüsü ve koroner arter hastalıklarında Chlamydia pneumoniae seroprevalansının araştırılması. *Türk Hijyen ve Biyoloji Dergisi* 1998; 55: 85-89

54. Verkooyen R P, Hazenberg M A, Haaren G H, Von Den Bosch J M, Snijder R J, Van Helden H P, Verbrugh H A. Age Related Interference with Chlamydia pneumoniae Microimmunofluorescence Serology Due to Circulating Rheumatoid Factor. *Journal of Clinical Microbiology* 1992; 30: 1287-1290
55. Kishimoto T, Matsushima T, Morikawa T, Kawagoe K. Assay of specific anti-Chlamydia pneumoniae antibodies by ELISA method.3. Setting of serological criteria. *Kansenshogaku Zasshi* 1999; 73: 457-466
56. Numazaki K, Ikebe T, Chiba S. Detection of serum antibodies against Chlamydia pneumoniae by ELISA. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 1996; 14: 179-183
57. Thom D H, Grayston J T, Siscovick D S, Wang S P, Weiss N S, Daling J R. Association of Prior Infection With Chlamydia pneumoniae and Angiographically Demonstrated Coronary Artery Disease. *JAMA* 1992; 268: 68-72
58. Puolakkainen M, Kuo C C, Shar A, Wang S P, Grayston J T, Campbell L. A Serological Response to Chlamydia pneumoniae in Adults with Coronary Arterial Fatty Streaks and Fibrolipid Plaques. *Journal of Clinical Microbiology* 1993; 31: 2212-2214