

***CHLAMYDIA TRACHOMATIS*'İN SERVİKAL
ÖRNEKLERDE SİTOLOJİK VE İMMÜNOFLORESAN
TEKNİKLERİ KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI**

**THE INVESTIGATION OF *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* IN
CERVICAL SMEARS THROUGH CYTOLOGICAL AND
IMMUNOFLUORESCENCE TECHNIQUES**

DİLEK ÖZDAĞ

Lisansüstü Eğitim-Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin
Hacettepe Üniversitesi
BİYOLOJİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

2006

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI 'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :
Prof.Dr. M. Sinan BEKSAÇ

Üye (Danışman) :
Prof.Dr. Şayeste DEMİREZEN

Üye :
Prof.Dr. Dürdal US

Üye :
Prof.Dr. Nilüfer AKSÖZ

Üye :
Prof.Dr. Nevin KESKİN

ONAY

Bu tez/...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

...../...../.....

Prof.Dr. Ahmet R. ÖZDURAL
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

"silence"

CHLAMYDIA TRACHOMATIS'İN SERVİKAL ÖRNEKLERDE SİTOLOJİK VE İMMÜNOFLORESAN TEKNİKLERİ KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI

Dilek ÖZDAĞ

ÖZ

Bu çalışmada, *Chlamydia trachomatis* varlığını saptamak amacıyla Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı kliniğine başvuran 200 hastaya ait servikal örnek, sitolojik ve immünofloresan [Direkt Floresan Antikor (DFA)] teknikleri kullanılarak incelenmiştir. İncelenen bu 200 örneğin 7'si (%3.5) sitolojik teknik ile 37'si (%18.5) immünofloresan tekniği ile ve 12'si (%6) hem sitolojik hem de immünofloresan teknikleri ile *C. trachomatis* pozitif olarak değerlendirilmiştir. Yapılan istatistiksel incelemeler sonucunda *C. trachomatis* tanısı açısından sitolojik ve immünofloresan teknikler arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu görülmüştür ($p<0.05$).

Sitolojik inceleme için alınan örnekler Papanicolaou boyama yöntemine göre boyanıp sitolojik bulgular yönünden incelenmiştir. Sitolojik teknik ile *C. trachomatis* tanısı verilirken, servikal örneklerde metaplazik hücrelerin içinde Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin bulunması esas alınmıştır. 200 servikal örneğin 36'sında (%18) metaplazik hücrelerin bulunduğu saptanmıştır. Metaplazik hücrelerin bulunduğu 36 (%18) yaymanın 15'inde (%41.6) bu hücrelerde Chlamydial inklüzyon cisimcikleri tespit edilmiş ve *C. trachomatis* varlığı ile metaplazik hücrelerin bulunması arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0.05$). Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanan yaymalarda bol miktarda polimorfonükleer lökositler (PMNL) görülmüş, ayrıca yaymalarda makrofaj ve eozinofil lökositlerin de bulunduğu saptanmıştır. Yaymalarda Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin yanı sıra *Candida* da görülmüştür.

İmmünofloresan teknik için alınan servikal örnekler ise metanol ile fikse edilmiş ve örnekler floresan izotiyosiyanat (FITC) işaretli Chlamydial monoklonal antikor uygulanmıştır. Örnekler floresan mikroskopunda incelenmiş ve toplu iğne başı büyüklüğünde, düzgün yuvarlak şekilli ve elma yeşili renkte ışığa veren Chlamydial elementer cisimciklerin (EC) görülmesi ile *C. trachomatis* pozitiflik tanısı konulmuştur.

Sonuç olarak, çeşitli jinekolojik Şikayetlerle kadın hastalıkları ve doğum kliniğine başvuran hastalar, diğer enfeksiyon etkenlerinin yanı sıra Chlamydia pozitifliği açısından da araştırılmalı, tanı Şansının artırılması amacıyla sitolojik ve immünofloresan teknikler birlikte kullanılmalıdır. Ancak DFA tekniğinin uygulanamadığı sağlık kuruluşlarında sitolojik incelemenin, *C. trachomatis* tanısında bir ön tarama testi olarak kullanılabilieceği düşünölmüştür.

Anahtar sözcükler: *Chlamydia trachomatis*, metaplazik hücre, servikal yayma, immünofloresan teknik

Danışman: Prof.Dr. Şayeste Demirezen, Hacettepe Üniversitesi, Fen Faköltei, Biyoloji Bölümü

THE INVESTIGATION OF *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* IN CERVICAL SMEARS THROUGH CYTOLOGICAL AND IMMUNOFLUORESCENCE TECHNIQUES

Dilek ÖZDAĞ

ABSTRACT

In this study, cervical smears taken from 200 patients who were applied to Gynecology and Obstetrics Clinics were examined through cytological and immunofluorescence [Direct fluorescence antibody (DFA)] techniques to detect the presence of *C. trachomatis*. Of the 200 samples, 7 (3.5%) were found positive by cytological technique, 37 (18.5%) were positive by immunofluorescence technique and 12 (6%) were positive by both cytological and immunofluorescence technique. A statistically significant difference was detected between these techniques in terms of diagnosing *C. trachomatis* ($p < 0.05$).

All the samples taken for cytological examination were stained by Papanicolaou method and investigated in respect of cytological findings. The cervical smears were considered positive if Chlamydial inclusion bodies were present in metaplastic cells. In 36 (18%) of 200 cervical smears the presence of metaplastic cells were detected of which 15 of them contained Chlamydial inclusion bodies. The difference between the presence of *C. trachomatis* and metaplastic cells were found statistically significant ($p < 0.05$). It was also seen abundant polymorpho nuclear leucocytes (PMNL) in smears having Chlamydial inclusion bodies. Moreover, macrophages and eosinophil leucocytes were detected in these smears. In addition to Chlamydial inclusion bodies, Candida was also observed in the smears.

The cervical samples taken for immunofluorescence technique, were fixed by methanol and fluorescein isothiocyanate (FITC) labelled Chlamydial monoclonal antibody was applied to these samples. The samples were examined by fluorescence microscope and it was diagnosed as *C. trachomatis* positivities were observed as the presence of pin head-like, regular round shaped and bright apple green coloured Chlamydial elementary bodies (EB).

In conclusion, the patients who applied to Gynecology and Obstetrics Clinics with various gynecologic problems are also to be examined in terms of Chlamydia positivity, in addition to other infectious agents. The cytologic and immunofluorescence techniques should be used together in order to increase the chance of the diagnosis. However, in the health centers where DFA technique cannot be applied, the cytologic examination is considered to be a previous determinative test for *C. trachomatis* diagnosis.

Key words: *Chlamydia trachomatis*, metaplastic cell, cervical smear, immunofluorescence technique

Advisor: Prof.Dr. Şayeste Demirezen, Hacettepe University, Faculty of Science, Department of Biology

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde, yardım, destek ve özverisini hiçbir zaman esirgemeyen, kendisinden bilimsel çalışma tekniğini öğrendiğim çok değerli tez danışmanım, hocam Sayın Prof.Dr. Şayeste Demirezen'e içtenlikle teşekkür ederim.

Araştırmanın yürütülebilmesi için gerekli olan örneklerin alınmasında yardımlarını esirgemeyen Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Hocam Prof.Dr. M. Sinan Beksaç'a, immünofloresan tekniğin uygulanmasında hiçbir emekten kaçınmayan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Hocam Prof.Dr. Dürdal Us'a teşekkürlerimi sunarım.

Gerek lisans gerekse yüksek lisans eğitimim süresince her zaman yanımda olan çok değerli arkadaşım Aysun Kılıç'a, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili arkadaşlarım Dilek Kaya ve Emine Korkmaz'a, hep yardımlarını gördüğüm Yrd.Doç.Dr. Zehra Safi Öz'e, bilgisayar konusundaki tüm sorunlarımı çözmekteki sabrı, tezin son halini almasındaki emekleri için arkadaşım Haydar Metin'e, zor dönemlerde beni yalnız bırakmayan arkadaşlarım Aslı Öztürk, Ebru Şebnem Yılmaz, Sevil Çokgürses ve Osman Okur'a çok teşekkür ederim.

Sevgisi, ilgisi ve desteği ile hep yanımda olan, yaşamımda varolmasından mutluluk duyduğum Can Çetin'e çok teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca verdiğim tüm kararlarda büyük bir inanç, sabır ve özveri ile beni destekleyen çok sevdiğim aileme, her zaman benimle oldukları için sonsuz teşekkürler...

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Chlamydia trachomatis</i> 'in Tanımı	4
2.2. Tarihçesi	4
2.3. Sınıflandırılması	5
2.4. Biyolojik Özellikleri	8
2.4.1. Hücre yapısı ve kompozisyonu	9
2.4.2. Morfolojisi	10
2.4.3. Yaşam döngüsü	12
2.4.3.1. Hücreye tutunması	14
2.4.3.2. Hücreye girişi	15
2.4.4. Genetik özellikleri	16
2.4.5. Metabolizması	18
2.4.6. Boyanma özellikleri	19
2.4.7. Üremesini etkileyen fiziksel ve kimyasal etkenler	19
2.5. Antijenik Özellikleri	20
2.5.1. Cinse özgül antijenler	20
2.5.2. Türe özgül antijenler	20

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
2.6. Patojenitesi	20
2.7. Konağın İmmün Yanıtı	23
2.8. Neden Olduğu Hastalıklar	26
2.9. Klinik Belirtileri.....	27
2.10. Epidemiyolojisi	28
2.11. <i>C. trachomatis</i> ile Servikal Kansere İlişkisi.....	30
2.12. Tanı Teknikleri	31
2.12.1. Sitolojik teknik.....	31
2.12.1.1. Papanicolaou smirlerinde <i>C. trachomatis</i> tanısı	33
2.12.2. Serolojik teknikler	34
2.12.3. Direkt floresan antikor (DFA) tekniği.....	35
2.12.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve Ligaz zincir reaksiyonu (LCR) Teknikleri	36
2.12.5. Hücre kültürü tekniği.....	36
2.13. Tedavisi.....	37
3. YÖNTEM VE GEREÇLER	39
3.1. Klinik Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi	39
3.2. Sitolojik İnceleme İçin Örneklerin Alınması ve Hazırlanması	39
3.3. DFA Tekniği için Örneklerin Alınması ve Hazırlanması.....	40
3.3.1. İmmüno Floresan antikor tekniğinin uygulanış şekli	41
3.4. pH Ölçümü	41
3.5. İstatistiksel Analiz.....	41

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
4. SONUÇLAR	43
4.1. Servikal Örneklerin Sitolojik Teknikle İncelenmesi ve İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi.....	43
4.2. Servikal Örneklerin Direkt Floresan Antikor (DFA) Tekniği ile İncelenmesi ve İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi.....	55
4.3. Chlamydia Pozitifliği Açısından Sitolojik ve DFA Tekniklerinin Karşılaştırılması	57
4.4. pH Ölçüm Değerleri ve İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi.....	57
4.5. Klinik Veriler ve İstatistiksel Değerlendirmeleri.....	57
5. TARTIŞMA	62
KAYNAKLAR DİZİNİ	72
ÖZGEÇMİŞ	83

KISALTMALAR DİZİNİ

LGV	Lenfograduloma venereum
NAMA	N-asetil muramik asit
MOMP	Major Dış Membran Proteini
OmcA	Outer membrane complex A
OmcB	Outer membrane complex B
EC	Elementer cisimcik
RC	Retiküler cisimcik
IncD	İnklüzyon D
CT228	<i>Chlamydia trachomatis</i> 228
CT229	<i>Chlamydia trachomatis</i> 229
HctA	Histon benzeri protein
HctB	Histon benzeri protein
CGP	Chlamydial Genom Projesi
pmp	Polimorfik membran proteinleri
KDO	3-deoksi-D-mannooktulosonik asit
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
IL-6	İnterlökin-6
GM-CSF	Granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör
TNF- α	Tümör nekroz faktör α
Hsp	Heat Shock Protein
kDa	Kilodalton
IgG	İmmünoglobülin G
IFN- γ	İnterferon γ
NK cells	Natural killer hücreleri
IDO	İndolamin 2,3 dioksigenaz
PIH	Pelviğin iltihabi hastalığı
CIN	Servikal İntraepitelyal Neoplazi
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EIA	Enzim İmmünoassay
DFA	Direkt Floresan Antikor
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
LCR	Ligaz Zincir Reaksiyonu
PAP	Papanicolaou
RIA	Rahim içi araç
FITC	Floresan izotiyosiyanat
μ m	Mikrometre
LPS	Lipopolisakkarit
PBS	Phosphate Buffered Saline
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. <i>C. trachomatis</i> 'in dış zar yapısı.....	9
Şekil 2.2. Chlamydial dış zarda yüzey çıkıntılarının ve rozet oluşumunun şematik görünümü.....	10
Şekil 2.3. Bir inklüzyon içindeki EC ve RC'lerin elektron mikroskopik görünümü. Ayrıca bu inklüzyon içinde bölünmekte olan bir RC (beyaz ok) görülmektedir. EC'ler küçük siyah renkte, RC'ler daha büyük gri renkte görülmektedir.	12
Şekil 2.4. <i>C. trachomatis</i> 'in yaşam döngüsü.....	14
Şekil 2.5. HeLa 229 hücre yüzeyine tutunmuş bir <i>C. trachomatis</i> EC'sine ait elektron mikroskop görüntüsü. EC yapısında dış zar ve iç zar dikkat çekmektedir.	15
Şekil 2.6. HeLa hücresi içindeki bir <i>C. trachomatis</i> EC'sinin ve konak hücre yüzeyindeki klattrin kaplı vezikülün (kkv) elektron mikroskopik görünümü.	16
Şekil 2.7. <i>C. trachomatis</i> enfeksiyonunun immün yanıt modeli (Stephens, 2003). 24	
Şekil 3.1. İmmünofloresan incelemede kullanılan ve her bir hastanın örneğinin yayılması için üzerinde on adet daire bulunan lam örneği.....	40
Şekil 4.1. Metaplazik hücreyi (M) enfekte etmek üzere hücrenin zarında içeri doğru çöküntü oluşturarak (ok başı) endositotik aktivite ile hücre içine girmekte olan bir elementer cisimcik EC (ok) görülmektedir. Diğer metaplazik hücrelerde de sitoplazma içi inklüzyon cisimcikleri (çift ok) görülmektedir. Ayrıca metaplazik hücrelerin çekirdeklerinin büyük olduğu ve çekirdek zarında hafif düzensizlikler (beyaz ok) bulunduğu dikkati çekmektedir (Papanicolaou x1000).....	47
Şekil 4.2. Metaplazik hücre grubunda (M) çekirdeğin yanında yer alan <i>C. trachomatis</i> 'e ait oldukça büyük bir inklüzyon cisimciği (ok) görülmektedir. (Papanicolaou x1000).	47

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4.3. Metaplazik hücre içinde, hücre çekirdeğini iterek çekirdeğin kavis almasına neden olmuş ve çekirdeği hücre zarına yaklaştırmış olan bir inklüzyon cisimciği (ok) görülmektedir. Ayrıca çekirdek dejenerasyonu (çift ok) görülen bir metaplazik hücre ve ortamda laktobasiller (ok başı) gözlenmektedir. (Papanicolaou x1000). 48

Şekil 4.4. Metaplazik hücre grubunda (M) bazofilik görünümlü bir inklüzyon cisimciği (ok). Ayrıca ortamda eritrositler (Er) ve metaplazik hücrelerin etrafında polimorfonükleer lökositler (PMNL) görülmektedir. (Papanicolaou x1000)..... 48

Şekil 4.5. Sitoplazmik uzantılar yapmış iki metaplazik hücrenin (M) içinde irili ufaklı çok sayıda inklüzyon cisimcikleri (ok başı) ve metaplazik hücrelerin çevresinde polimorfonükleer lökositler (ok) görülmektedir (Papanicolaou x1000). 49

Şekil 4.6. Metaplazik hücre (M) içinde oldukça büyük bir Chlamydial inklüzyon cisimciği (ok) görülmektedir. Hücre çekirdeğinin inklüzyon cisimciği tarafından kenara itildiği, çekirdeğin inklüzyona bakan yüzünde yassılaşıma meydana geldiği ve çekirdeğin şeklinin uzadığı görülmektedir. Ayrıca polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) metaplazik hücre etrafında dizilim gösterdiği ve bazılarının zara adeta yapıştıkları (ok başı) dikkati çekmektedir. (Papanicolaou x1000). 49

Şekil 4.7. Normalden biraz iri çekirdekleri (ok), belirgin çekirdekçikleri (ok başı), uzantılar yapmış sitoplazmaları ve hafif hiperkromatik görünümleri ile metaplazik bir hücre grubu görülmektedir (Papanicolaou x1000). 50

Şekil 4.8. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanmış bir yaymada çekirdekleri nispeten iri, bazılarında oldukça ince sitoplazmik uzantılar (ok) bulunan metaplazik hücre grubu (M) görülmektedir. Sitoplazmik uzantıların bazılarının inklüzyon cisimcikleri içerdiği (ok başı) dikkati çekmektedir (Papanicolaou x1000). 50

Şekil 4.9. Uzun bir sitoplazmik uzantı (ok) içeren yelpaze şeklinde bir epitel hücresi (E) ile çekirdeği eksentrik konumda olan bir başka epitel hücresi (E) görülmektedir (Papanicolaou x1000). 51

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4.10. İleri derecede displazik değişiklikler saptanan 34 yaşındaki bir hastanın servikal yayma örneği görülmektedir. Çekirdeğin ileri derecede büyümüş olması, çok koyu boyanması ve çekirdek zarının düzensiz oluşu (ok) dikkati çekmektedir (Papanicolaou x1000). 51

Şekil 4.11. Chlamydial inklüzyon cisimciği içeren bir hastaya ait servikal yayma örneğinde, normal görünümlü epitel hücre grubu (E) ve normal bir sitoplazma içinde, hiperkromatik boyanmış, iri bir çekirdeğe sahip displazik değişiklikler gösteren bir hücre (ok) görülmektedir (Papanicolaou x400). 52

Şekil 4.12. Benign endoservikal hücre grupları (Es) ve bazı hücrelerin sitoplazmalarında Chlamydial inklüzyon cisimcikleri (ok) görülmektedir. Ayrıca normal epitel hücreleri (E) ile birlikte iki displazik hücre (D) görülmektedir. Displazik hücrelerin iri ve hiperkromatik boyanmış çekirdekleri dikkati çekmektedir. Her iki hücrenin çekirdek zarlarında içeri ve dışarı doğru girinti (çift ok) ve çıkıntı (ok başı) şeklindeki zar düzensizlikleri gözlenmektedir (Papanicolaou x400). 52

Şekil 4.13. Çekirdekleri oldukça irileşmiş ve hafif hiperkromatik boyanmış (ok), displazik özellikler taşıyan epitel hücreleri (E) görülmektedir (Papanicolaou x1000). 53

Şekil 4.14. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanan hasta örneğinde çekirdek etrafında geniş boşluk (ok) içeren koilostotik epitel hücreleri (Kh) görülmektedir (Papanicolaou x1000). 53

Şekil 4.15. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri içeren bir hasta yaymasında, köpüklü sitoplazması içinde sindirilmiş yabancı cisimler bulunan bir makrofaj (ok) ile polimorfonükleer lökositler (PMNL) görülmektedir (Papanicolaou x1000). 54

Şekil 4.16. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanmış olan 29 yaşındaki bir hastanın servikal örneğinde epitel hücrelerinin (E) yanında iki adet eozinofil lökosit (el) görülmektedir. Eozinofil lökositlerin her ikisinin de çekirdekleri iki loblu olup, sitoplazmalarında pembe eozinofilik granüllerin bolluğu dikkati çekmektedir (Papanicolaou x1000). 54

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4.17. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri içeren bir hasta örneğinde epitel (E) hücrelerinin üzerinde ve aralarında kıvrımlar yapmış mantar hif (ok) ve blastosporları (ok başı) ile hücre aralarında birkaç polimorfonükleer lökosit (PMNL) görülmektedir (Papanicolaou x1000)..... 55

Şekil 4.18. DFA (+) olan hasta örneğinde hücrelerin içinde ve dışında (ok) floresan (FITC) işaretli monoklonal antikorla işaretlenen ve elma yeşili renkte gözlenen toplu iğne başı büyüklüğünde EC'ler görülmektedir (40x). 56

Şekil 4.19. DFA (-) olan hastaya ait servikal yayma örneği görülmektedir (40x)... 56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Chlamydia cinsine ait türler, konakları ve neden olduğu hastalıklar (Serter, 1997; Everett, 2000).....	7
Çizelge 2.2. <i>C. trachomatis</i> 'in serotipleri ve neden oldukları hastalıklar.....	8
Çizelge 4.1. Çalışılan hastaların (n=200) sitolojik bulgularına ait istatistiksel veriler	46
Çizelge 4.2. <i>C. trachomatis</i> pozitifliği açısından sitolojik teknik ve DFA tekniğinin karşılaştırılması.	58
Çizelge 4.3. 200 hastanın pH ölçüm sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi.	58
Çizelge 4.4. Çalışılan her İki teknikle alınan sonuçlara göre 200 hastanın yaş aralıkları ve yaş ortalamaları	59
Çizelge 4.5. Hastaların jinekolojik şikayetlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi.	60
Çizelge 4.6. Hastaların klinik bilgilerine göre değerlendirilmesi.....	61

1. GİRİŞ

C. trachomatis cinsel yolla geçen hastalık etkenlerinin başında gelmektedir. Bu etken kadınlarda vajinit, servisit, endometrit, salpinjit, ooforit, üretrit gibi hastalıklara neden olmakta ve genellikle klinik belirti vermemektedir (Genç and Mardh, 1996; Guaschino and De Seta, 2000; Nelson and Helfand, 2001; Felice, 2005). Tanı konulamayıp tedavi edilmeyen Chlamydia enfeksiyonları pelviğin iltihabi hastalığı (PİH) gibi hastalıklara yol açmakta, fallop tüplerinin kronik enfeksiyonları dış gebelik ve tübal infertilite ile sonuçlanabilmektedir (Nelson and Helfand, 2001; Watson et al., 2002). *C. trachomatis*'in ayrıca postpartum endometrit, prematüre membran yırtılması, erken doğum, ölü doğum ve düşük ağırlıklı doğum gibi gebelik komplikasyonları ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Handsfield et al, 1986; Dodson and Fortunato, 1988; Jackson and Soper, 1997; Panuco et al., 2000; Nelson and Helfand, 2001).

C. trachomatis, Gram negatif, hareketsiz, zorunlu olarak hücre içinde yaşayan ve insanlarda çeşitli hastalıklara neden olan bir mikroorganizmadır (Jackson and Soper, 1997; Prescott et al, 1999). *C. trachomatis*'in de dahil olduğu Chlamydia türlerinin, metabolik aktivitelerini gerçekleştirebilmeleri için gerekli olan sistemlerden yoksun olmaları sonucu bir konağa bağımlı şekilde yaşamlarını sürdürmeleri nedeniyle önceleri virüs oldukları düşünülmüştür. Fakat yapılan çalışmalarla az da olsa kendi ATP'lerini sentezleyebildikleri ve bakterilere benzer özellikleri olduğu gösterilmiştir (Brooks et al., 1995; Serter, 1997; Stephens et al., 1998). Bu gelişmelere dayanılarak günümüzde Chlamydia'lar literatürde zorunlu hücre içi bakterileri olarak yer almaktadır (DeBattista et al., 2003; Kelly, 2003; Vandahl et al., 2004).

Chlamydia'lar yaşam sürelerince iki farklı morfolojik yapı gösterdikleri benzersiz yaşam döngüleri ile diğer mikroorganizmalardan ayrılmaktadır. Bu mikroorganizmalar yaşam döngüleri süresince Elementer Cisimcik (EC) ve Retiküler Cisimcik (RC) adı verilen metabolik aktivite özellikleri, büyüklükleri ve morfolojik görünüşleri farklı iki yapıda gözlenmektedir. EC, çevre koşullarına dayanıklı, hücreleri enfekte eden, metabolik yönden aktif olmayan yapı iken; RC, konak hücre içinde çoğalma yeteneğine sahip ancak enfektif özelliği olmayan, metabolik açıdan aktif olan yapıdır (Prescott et al., 1999; Schachter, 1999; Fields

and Hachstadt, 2002). Chlamydia'lar bu iki yapının birbirine dönüşümünü izleyen yaşam döngüleri sayesinde hayatta kalmayı başarabilmektedir.

C. trachomatis özellikle servikste bulunan metaplazik hücreleri, kolumnar epitel hücrelerini, üretra, rektum, konjonktiva hücreleri ve yeni doğanın solunum sistemi hücrelerini enfekte etmektedir (Gupta et al., 1979; Holmes, 1981; Welsh et al., 1997; Panuco et al., 2000; Campbell et al., 2001; Kelly, 2003). Chlamydial enfeksiyonun, EC'lerin konak hücreye tutunması ile başladığı bildirilmiştir (Schachter, 1999; Morrison, 2003). Chlamydia'ların, yüzeylerinde bulunan Major Dış Membran Proteini (MOMP) molekülü ile konak hücre yüzeyinde bulunan proteoglikan yapıdaki heparan sülfat proteinine bağlandığı ortaya konulmuştur (Su et al, 1996). Ayrıca *C. trachomatis*'in bazı serotiplerinin yüzeylerindeki, konak hücre yüzeyinde bulunan heparan sülfat benzeri moleküller ile konak hücre reseptörlerine tutunduğu gösterilmiştir (Zhang and Stephens, 1992; Stephens, 1994). Chlamydia'ların hücre içine girişinin ise klattrin kaplı çukurlardan reseptör aracılı endositoz ile gerçekleştiği bildirilmiştir (Hodinka et al.,1988).

Chlamydia'ların antijenik özellikleri ile ilgili yapılan çalışmalarda bu mikroorganizmaların cinse ve türe özgül antijenleri bulunduğu saptanmıştır. Chlamydial dış zarda bulunan lipopolisakkaritin tüm Chlamydia türlerinde ortak olduğu gösterilmiş ve bu molekül cinse özgül antijen olarak tanımlanmıştır. Chlamydial dış zarda bulunan diğer bir molekül olan Major Dış Membran Proteini (MOMP)'nin ise türe özgül antijen olduğu bildirilmiştir (MacDonald, 1985).

C. trachomatis'in sorumlu olduğu enfeksiyonların klinik belirti vermemesi veya klinik belirti görülse bile bu belirtilerin Chlamydia'ya özgül olmaması nedeniyle *C. trachomatis*'in tanısının konulması güçleşmekte ve bu durumun sonucu olarak toplumlarda *C. trachomatis* enfeksiyonlarının görülme sıklığı giderek artış göstermektedir (Esen ve ark., 1994). Bu nedenle hızlı ve doğru tanı konulması ve etkin bir tedavinin uygulanması büyük önem taşımaktadır. *C. trachomatis*'in tanısında sitolojik teknikler, serolojik teknikler, immünofloresan teknikleri, moleküler biyoloji teknikleri ve hücre kültürü tekniği gibi pek çok teknik kullanılmaktadır. Sitolojik tekniklerden biri, servikal örneklerin Papanicolaou (PAP) boyama yöntemine göre boyanıp ışık mikroskopik olarak incelenmesidir. Serolojik tekniklerde, hastadan alınan kan örneklerinde *C. trachomatis*'e özgül antijenler

veya bu antijenlere karşı oluşturulan antikorlar araştırılmaktadır (Taylor-Robinson and Thomas, 1980). İmmünofloresan tekniğinde ise Chlamydial antijen üzerinde bulunan epitopa karşı geliştirilen floresan işaretli antikor ile örneklerde *C. trachomatis* saptanabilmektedir. Literatürde “altın standart” olarak nitelendirilen hücre kültürü tekniği ise, maliyetinin yüksek olması, özel donanım gerektirmesi, zahmetli ve zaman alıcı (haftalar) olması gibi nedenlerle pratikte tercih edilmemektedir (Handsfield et al, 1986; Lipkin et al, 1986; Watson et al., 2002). Örneklerden Chlamydial DNA izolasyonu ve çoğaltılmasına dayanan moleküler biyoloji tekniklerinden polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve ligaz zincir reaksiyonu (LCR) teknikleri, uygulanmasının pratik olması ve kısa sürede sonuç alınabilmesi ile son yıllarda *C. trachomatis* tanısında en çok tercih edilen tekniklerdir.

Çalışmamızda *C. trachomatis*, uygulanması kolay, hızlı ve ucuz olan sitolojik teknik ile daha hassas ve özgül olan direkt floresan antikor (DFA) tekniği uygulanarak araştırılmıştır. İlk aşamada servikal örnekler, metaplazik hücrelerde Chlamydial inklüzyon cisimcikleri bulunup bulunmadığı açısından değerlendirilmiştir. İkinci aşamada ise aynı hastalardan alınan servikal örnekler DFA tekniği kullanılarak incelenmiş ve sitolojik olarak Chlamydia açısından şüpheli bulunan olguların, DFA tekniği ile doğrulanıp doğrulanmadığı tespit edilmiştir. Çalışmamız kapsamında yer alan 200 hastanın 12’sinin (%6) her iki teknik ile pozitif olduğu saptanmıştır. Bu uygulamalara göre sitolojik incelemenin ön belirleyici bir teknik olduğu, DFA’nın ise sitolojik olarak pozitif olduğu düşünülen olguları doğrulayıcı ve destekleyici bir teknik olduğu sonucuna varılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Chlamydia trachomatis*'in Tanımı

C. trachomatis, insanlarda pek çok hastalığa neden olan Gram (-), hareketsiz, kok şeklinde, zorunlu olarak hücre içinde yaşayan mikroorganizmalardır. Boyutları 0.2-1.5 µm arasında değişmektedir (Jackson and Soper, 1997; Prescott et al., 1999). Bu organizmalar ökaryotik hücreleri enfekte ederler (Hodinka et al., 1988; Cevenini et al., 2002; Fields and Hackstadt, 2002).

2.2. Tarihçesi

C. trachomatis'in neden olduğu trahom, Mısır'da yazılmış olan Eber papirüslerinde bile tanımlanmış olup tarihin çok eski devirlerinden beri bilinmektedir (Mabey et al., 2003; Önel, 2003). Ancak *C. trachomatis* 'in ilk kez ortaya konulması 1907 yılında Halberstaedter ve Von Prowazek tarafından gerçekleştirilmiştir (McGregor and French, 1991; Serter, 1997; Schachter, 1999; Mabey et al., 2003). Araştırmacılar Java'lı trahomlu bir hastadan alınan klinik örneği orangutan konjonktivasına inoküle etmişler ve oluşan enfeksiyondan aldıkları mukopürülan kazıntı örneğini Giemsa tekniği ile boyayarak intrasitoplazmik inklüzyon cisimciklerini tanımlamışlardır. Fakat organizmanın bir protozoan olduğunu düşünerek "Chlamydozoa" olarak adlandırmışlardır. Aynı araştırmacılar 1909 yılında inklüzyon konjonktivit saptanmış olan bebeklerin annelerinden alınan servikal örneklerde ve babalarından alınan üretral örneklerde epitel hücrelerinde inklüzyon cisimcikleri saptamış ve trahom ve genital enfeksiyonlara aynı etkenin neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (Schachter, 1999).

C. trachomatis'in izolasyonu ilk kez Lenfograduloma venereum (LGV)'lu bir hastadan yapılmıştır (Schachter, 1999). LGV ise ilk kez 1913 yılında Durand, Nicolas ve Favre tarafından bildirilmiştir (Önel, 2003). *C. trachomatis*'in genital sistemde hastalık oluşturan diğer suşlarının izolasyonu ise ilk kez 1959 yılında Jones, Collier ve Smith tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu izolasyon, *C. trachomatis* kökenli göz hastalığı ile doğan bir bebeğin annesinin serviks epitelinden yapılmıştır. Chlamydia'lar 1964 yılında konjonktivitli erkeklerin üretrasında saptanmıştır (Schachter, 1999).

2.3. Sınıflandırılması

Chlamydia, Yunanca bir sözcük olup ismini "Chlamys" sözcüğünden almıştır (Taylor-Robinson and Thomas, 1980; McGregor and French, 1991; Mabey et al., 2003). Chlamys ise "omuzları örten pelerin" anlamındadır. Bu anlatım Chlamydia tarafından oluşturulan inklüzyonların, enfekte hücre çekirdeği etrafında yerleşme şeklini ifade etmektedir. (Taylor-Robinson and Thomas, 1980; Serter, 1997).

Chlamydia'ların sınıflandırması ilk kez 1984 yılında yayınlanan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology isimli kitapta yer almıştır (Önel, 2003). Ancak son yıllarda, yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda sınıflandırmada değişiklikler olmuştur. Son dönemlerde yapılan 16S ve 23S rRNA gen analizi çalışmalarından ve duyarlılığı yüksek olan nükleik asit amplifikasyon tekniklerinden elde edilen verilere göre Chlamydia'lar 2 cins ve 9 tür olarak sınıflandırılmıştır (Everett and Andersen, 1999; Everett, 2000).

Everett, Chlamydiaceae ailesi içinde yer alan bu 2 cins ve 9 türün gruplandırılması sırasında serotip, antijenite, genomik endonükleaz restriksiyonu, ilişkili oldukları hastalıklar ve virülans özelliklerini dikkate aldığı çalışmasında; *C. psittaci*, *C. pneumoniae* ve *C. pecorum* türlerini, 2. cins olarak tanımlanan Chlamydophila cinsi içinde toplamıştır (Everett, 2000). Fakat gelen bilimsel eleştiriler doğrultusunda bu sınıflandırma kabul görmemiş olup bu üç tür hala Chlamydia cinsi içinde değerlendirilmektedir (Schachter et al., 2001; Stephens, 2003). Gerek eski sınıflandırma gerekse yeni düzenlemeye göre, bu tezin konusunu oluşturan *C. trachomatis*'in sistematik konumunda herhangi bir değişiklik olmamıştır. Chlamydia cinsine ait türlerin bulunduğu konaklar ve neden olduğu hastalıklar Çizelge 2.1'de liste halinde verilmiştir.

Bu bilgiler ışığında Chlamydia'ların sınıflandırılması aşağıdaki gibidir (Garrity et al., 2004):

Alem : Bacteria (Haeckel, 1984) Woese, Kandler & Wheelis, 1990

Şube : Chlamydiae

Sınıf : Chlamydiae

Takım : Chlamydiales

Aile : Chlamydiaceae

Cins 1 : Chlamydia

Türler : *Chlamydia psittaci* (Lillie 1930) Page 1968

Chlamydia trachomatis (Busacca 1935) Rake 1957

Chlamydia pecorum Fukushi ve Hirai 1992

Chlamydia pneumoniae Grayson ve ark. 1989

Chlamydia muridarum Everett ve ark. 1999

Chlamydia suis Everett ve ark. 1999

Cins 2 : Chlamydophila

Türler : *Chlamydophila abortus* Everett ve ark. 1999

Chlamydophila caviae Everett ve ark. 1999

Chlamydophila felis Everett ve ark. 1999

Çizelge 2.1. Chlamydia cinsine ait türler, konakları ve neden olduğu hastalıklar (Serter, 1997; Everett, 2000).

Tür	Bulunduğu Konak	Neden olduğu hastalıklar
<i>Chlamydia psittaci</i>	Kuş, aşağı yapılı memeliler	Kuşlarda konjonktiva, solunum sistemi ve gastrointestinal sistemde enfeksiyon. Ayrıca ev kedileri ve kobaylarda görülen düşüklerle ilişkili.
<i>Chlamydia trachomatis</i>	İnsan	Hiperendemik körlük oluşturan trahom, Lenfograduloma venereum (LGV), İnklüzyon konjonktivit, nongonokokkal üretrit, servisit, salpinjit, proktit, epididimit, yeni doğanda pnömoni
<i>Chlamydia pecorum</i>	Koyun, inek, domuz, keçi	Düşük, konjonktivit, ensefalomyelit, enterit, pnömoni, poliartrit ile ilişkili.
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	İnsan	Solunum yolları enfeksiyonları. Ayrıca arteroskleroz ve Alzheimer hastalığı ile ilişkili olduğu düşünülmekte.
<i>Chlamydia muridarum</i>	Fare, hamster	Pnömoni
<i>Chlamydia suis</i>	Domuz	Konjonktivit, enterit, pnömoni.
<i>Chlamydophila abortus</i>	Koyun, keçi, inek	Geviş getirenlerde endemik hastalıklar. Ayrıca tavşan, kobay, fare ve domuzlarda görülen düşüklerle ilişkili.
<i>Chlamydophila caviae</i>	Kobay	Konjonktivit
<i>Chlamydophila felis</i>	Ev kedileri	Konjonktivit, solunum yolu enfeksiyonları

C. trachomatis, tür içinde ise antijenik özelliklerine göre çeşitli serotiplere ayrılarak incelenmiş ve bu serotiplerin de çeşitli hastalıklar oluşturduğu saptanmıştır (Holmes, 1981; Özkuyumcu, 1985; Guaschino and De Seta, 2000; Panuco et al., 2000; Mabey et al., 2003). *C. trachomatis*'in serotipleri ve oluşturdukları hastalıklar Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. *C. trachomatis* 'in serotipleri ve neden oldukları hastalıklar.

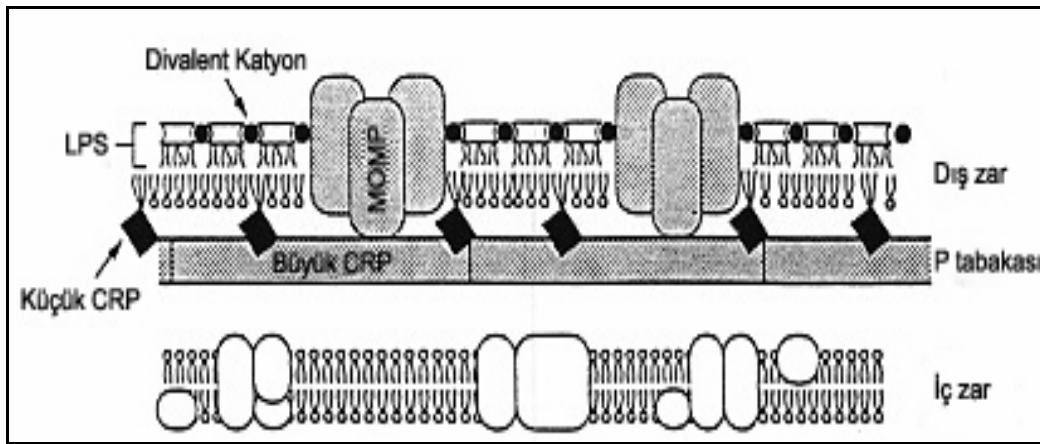
Tür	Serotip (Serovar)	Hastalık
<i>C. trachomatis</i>	L ₁ , L ₂ , L ₃	LGV
<i>C. trachomatis</i>	A, B, Ba, C	Hiperendemik körlük oluşturan trahom
<i>C. trachomatis</i>	D, E, F, G, H, I, J, K,	İnklüzyon konjonktivit, nongonokokkal üretrit, servisit, salpinjit, proktit, epididimit, yeni doğanda pnömoni ve konjonktivit

2.4. Biyolojik Özellikleri

Chlamydia'lar, diğer bakterilerden farklı olarak metabolik enerji üretimi sağlayan mekanizmalardan yoksun olmaları nedeniyle zorunlu hücre içi parazitidirler. Bu özellikleri nedeniyle uzun yıllar virüsler arasında değerlendirilmiş fakat daha sonraları virüslerden farklı olan ve onları bakterilere yaklaştıran bazı özelliklerinin bulunduğu gözlenmiştir. Chlamydia'ları virüslerden ayıran ve bakterilere daha çok benzediğini gösteren özelliklerden biri, bakterilerde olduğu gibi hem DNA, hem RNA bulundurmalarıdır. Virüsler ise RNA veya DNA'dan sadece birisini bulundururlar. Bakterilere benzeyen diğer özellikleri, ikiye bölünerek çoğalmaları, bakterilerinkine benzeyen fakat yapısında muramik asidin bulunmayışı ile bakteri hücre duvarından farklılık gösteren bir hücre duvarına sahip olmaları, metabolik yönden aktif olan pek çok enzim içermeleri, ribozomlarının bulunması şeklinde sıralanabilir (Brooks et al., 1995; Serter, 1997).

2.4.1. Hücre yapısı ve kompozisyonu

Chlamydia'lar yapısal olarak karmaşık mikroorganizmalardır. Çünkü Gram (-) bakterilerin hücre duvarına benzer olan, dışta hücre duvarı olarak da isimlendirilen dış zar, içte ise sitoplazmik iç zara sahiptirler (Schachter, 1999). Sert bir yapıya sahip olan Chlamydial dış zar yaklaşık 20 nm kalınlığındadır ve düzenli bir geometrik yapı göstermektedir (Brooks et al., 1995). Yapısında yağ asitleri ve karbonhidratlar bulunan dış zar, bakteri hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakayı ve N-asetil muramik asit (NAMA)'i içermez (Brooks et al., 1995; Cevenini et al., 2002). Bununla birlikte, bazı yazarlar tarafından dış zar yapısında eser miktarda NAMA bulunduğu bildirilmiştir (Schachter, 1999; Stephens and Lammel, 2001). Fakat bu miktar, hücre bütünlüğünü sağlamak için yeterli değildir. Bu nedenle de, Chlamydial dış zar, Chlamydia'ları, diğer bakteri türleri arasında farklı kılar. Bu özelleşmiş dış zarın, Chlamydia'nın yaşam döngüsü gereksinimlerine uygun bir yapı olarak özelleştiği düşünülmektedir (Şekil 2.1) (Schachter, 1999). Dış zar ve iç zar arasında periplazmik bölge bulunmaktadır (MacDonald, 1985; Everett, 2000; Stephens and Lammel, 2001).



Şekil 2.1. *C. trachomatis*'in dış zar yapısı.

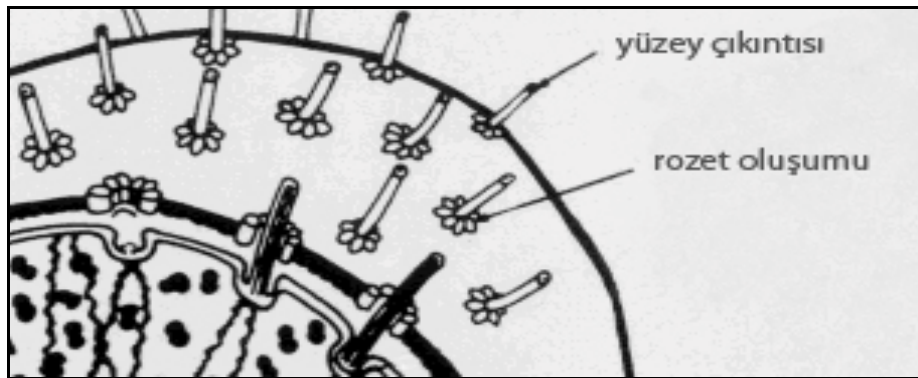
(www.mamma.com/Mamma_pictures?qtype=48&query=chlamydia+trachomatis+AND+cell+wall)

Dış zarda bulunan temel proteinler major dış membran proteini (MOMP) ve moleküler ağırlıkları 12-15 kDa ve 60 kDa olan sistince zengin iki proteindir (Cevenini et al., 2002; Fields and Hackstadt, 2002; www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_attach.asp). Bunlardan küçük molekül ağırlıklı protein; "OmcA" proteini ve büyük moleküler ağırlıklı protein; "OmcB"

proteini şeklinde isimlendirilmiştir (Cevenini, 2002; Kelly, 2003). MOMP, dış zar ağırlığının %60'ını, tüm mikroorganizma ağırlığının ise %30'unu oluşturmaktadır. MOMP'nin moleküler ağırlığı 38-43 kDa arasındadır (Schachter, 1999; Debattista et al., 2003). Bu protein, dış zarın en büyük yapısal proteinidir ve görevi dış zarın yapısal kararlılığını sağlamaktır. MOMP, yapısal bütünlüğü kurmak üzere disülfid bağları ile sisteince zengin OmcA ve OmcB proteinlerine bağlanır (Schachter, 1999).

Chlamydia'ların kimyasal kompozisyonununun %35 protein, %40-50 lipid olduğu, lipidlerin de büyük çoğunluğunu fosfolipidlerin oluşturduğu bildirilmiştir (Brooks et al., 1995; Schachter, 1999).

Chlamydia'ların morfolojik yapıları ile ilgili olarak Matsumoto tarafından yapılan bir çalışmada, Retiküler Cisimcik (RC)'lerin dış zarında yüzey çıkıntılarının bulunduğu gösterilmiştir. Bu çıkıntılar bir ucu Chlamydial sitoplazmik iç zara bağlı iken, diğer ucun dış zardan konak hücre sitoplazmasına doğru uzandığı gözlenmiştir. Yüzey çıkıntılarının dış zar ile bağlantı kurduğu noktalarda "rozet" adı verilen yapıların bulunduğu belirtilmiştir (Şekil 2.2). Bu yüzey çıkıntılarının içinde bulunan kanallar aracılığıyla, inklüzyon içinde bulunan RC'lerin konak hücre sitoplazması ile bağlantı kurduğu düşünülmüştür (Matsumoto, 1982).



Şekil 2.2. Chlamydial dış zarda yüzey çıkıntılarının ve rozet oluşumunun şematik görünümü.

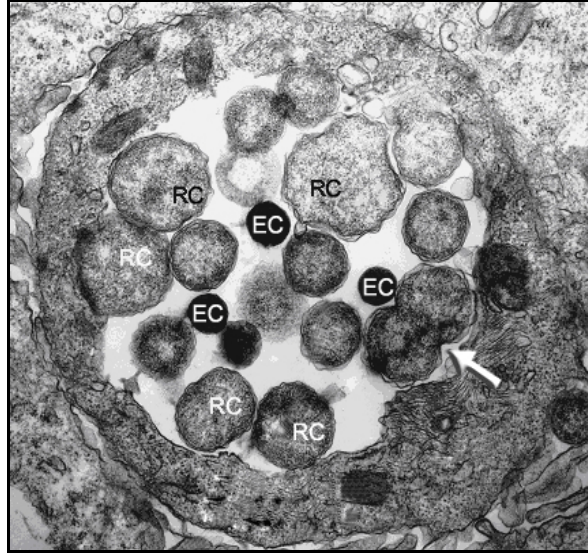
(www.chlamydiae.com/images/rosettesdiagram.gif)

2.4.2. Morfolojisi

Chlamydia'lar morfolojik olarak iki farklı yapıda bulunurlar. Bu yapılardan biri, yaklaşık 0.3 µm büyüklüğünde olan elementer cisimcik (EC)' dir. Bu yapı,

metabolik bakımdan inaktif olan bir yapıdır ve merkezde elektron yoğun bir bölge içermektedir. Bu bölgenin, histon benzeri proteinler ile sarılmış DNA bölgesi olduğu bildirilmektedir. EC' nin en önemli özelliği, replike olmaksızın hücre dışında bulunabilmesi ve enfektif yapıda olmasıdır. EC'ler, dış zar yapısında bulunan ve ozmotik stabiliteyi sağlayan sisteince zengin disülfid bağları sayesinde konak hücre dışında yaşamaya adapte olmuşlardır (Vandahl et al., 2004). EC sitoplazmasında protein sentezinden sorumlu olan 70S ribozomlar bulunmaktadır ve bu nedenle sitoplazma, granüllü bir görünümde (www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_EB.asp) EC'ler eşit miktarda RNA ve DNA içerirler (Brooks et al., 1995).

Chlamydia'ların yaşam döngüsünde yer alan diğer yapı ise retiküler cisimcik (RC)'tir. Yaklaşık 1 µm büyüklüğünde olan RC, konak hücre dışında yaşamını sürdürmez ve enfektif özelliği yoktur. Merkezinde EC gibi elektron yoğun bölge bulundurmaz. Hücre zarı da EC'ye göre daha girintili çıkıntılıdır (Fields and Hachstadt, 2002). RC, metabolik yönden aktiftir. Bu nedenle de çok sayıda ribozom bulundurur (Cevenini et al., 2002). RC, ayrıca DNA'nın 4 katı kadar RNA içerir (Brooks et al., 1995; Serter, 1997). RC dış zarı, EC'ye göre daha geçirgen özelliktedir ve bu özelliği, onun metabolik aktivitesi için gerekli olan molekülleri konak hücreden almasını kolaylaştırmaktadır (Şekil 2.3) (Cevenini et al., 2002; Vandahl et al., 2004).



Şekil 2.3. Bir inklüzyon içindeki EC ve RC'lerin elektron mikroskobik görünümü. Ayrıca bu inklüzyon içinde bölünmekte olan bir RC (beyaz ok) görülmektedir. EC'ler küçük siyah renkte, RC'ler daha büyük gri renkte görülmektedir.

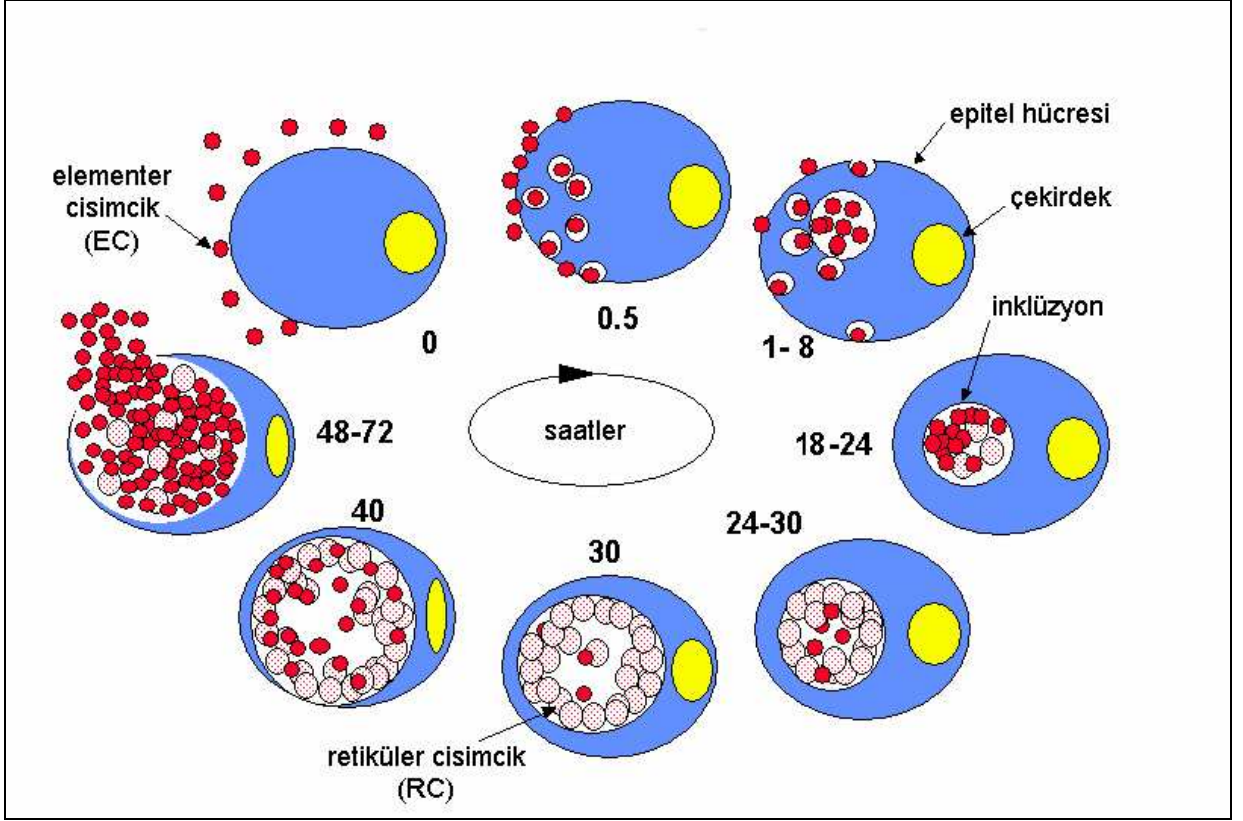
(www.chlamydiae.com/images/rbinclusion.gif)

2.4.3. Yaşam döngüsü

Chlamydia'lar sahip oldukları kendine özgü yaşam döngüsü ile diğer mikroorganizmalardan ayrılmaktadır. Bu yaşam döngüsünde EC'lerin rolü büyüktür. Chlamydia'ların yaşam döngüsünün, EC'nin konak hücreye tutunması ile başladığı bildirilmiştir (Taylor-Robinson and Thomas, 1980). Konak hücreye tutunmada, konak hücre üzerinde bulunan özgül reseptör bölgeleri rol oynamaktadır. Bu reseptörlere tutunmuş olan EC, reseptör aracılı endositoz ile hücre içine alınmaktadır. Konak hücre içindeki EC'ler, konak hücre mikrotübül ağı veya hücresel mikroflamentler kullanılarak perinükleer bölgeye taşınır (Özbal, 1999; Cevenini et al., 2002). Çevresi konak hücre zarından ayrılan bir zar ile sarılır. Böylece EC, endozom içinde hücre içine alınmış olur. Endozom içindeki EC'lerin hücreye ait lizozimler ile yıkıma uğratılması söz konusu değildir. Bu durum "fagolizozomal birleşmenin inhibe edilmesi" şeklinde ifade edilir. (Fields and Hachstadt, 2002). Perinükleer bölgeye taşınan EC'ler burada, golgi tarafından sentezlenen sfingomiyelin içeren veziküller içine alınır. Böylece de lizozomlar ile etkileşime girmez ve lizise uğratılmaktan kurtulurlar (Hackstadt et al., 1996; Hackstadt et al., 1997). EC'nin hücre içine girmesiyle birlikte Chlamydia'lara özgü protein sentezi de başlar (Hackstadt et al., 1997). Yaşam döngüsünün erken dönemlerinde sentezlenen bu proteinler EC'lerin RC'lere dönüşümünü indüklerler

(Önel, 2003). EC'ler, konak hücreye girişten 6-8 saat sonra, metabolik yönden aktif ve bölünebilme özelliğinde olan RC'ye farklılaşır. Bu dönüşüm sırasında EC dış zarında bulunan çapraz bağlı MOMP'nin üç boyutlu yapısının bozulduğu ve sıkı biçimde paketlenmiş olan DNA yapısının çözüldüğü gözlenir (Hatch et al., 1985; Vandahl et al., 2004). Bu dönüşümü tetikleyen unsurların neler olduğu henüz bilinmemektedir (Schachter, 1999; Vandahl et al., 2004). EC'lerin RC'lere farklılaşması sırasında ayrıca İnklüzyon D, E, F, G (Inc D, E, F, G) proteinleri ile *Chlamydia trachomatis* 228 ve 229 (CT228 ve CT229) gibi Inc proteinleri oldukları düşünülen proteinler ve ayrıca groEL ve groES isimli ısı şok proteinlerinin de sentezlendiği bilinmektedir. (www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_devreg.asp). RC, formuna dönüştükten sonra Chlamydia'lar konak hücrenin kaynaklarını kullanarak kendi RNA, DNA ve proteinlerini sentezlerler (Hatch et al, 1985; Schachter, 1999). RC'ler, konak hücreye girişten 8 saat sonra ikiye bölünerek çoğalmaya başlarlar ve bölünme 18-24. saate kadar devam eder. Bu çoğalma dönemi, metabolik aktivitenin en fazla olduğu dönemdir. Bu sürenin sonunda RC'ler, tekrar daha küçük olan enfektif EC'lere dönüşürler (Schachter, 1999). Bu dönüşümün moleküler mekanizması henüz aydınlatılmış değildir (Subtil and Dautry-Varsat, 2004). Enfeksiyonun başlamasından 40 saat sonra RC'lerin çoğunluğunun EC'lere dönüşümü gerçekleşmiş olur. RC'lerin EC'lere dönüşmesi sırasında DNA'nın kromatine kondanase olmasına aracılık eden HctA ve HctB isimli histon proteinleri ve OmcA ve OmcB adı verilen sisteince zengin dış membran proteinleri sentezlenmektedir (http://www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_devreg.asp).

RC'nin EC'ye dönüşümünün gerçekleşmesinden sonra, yaşam döngüsünün sonuna kadar EC'lerin sayısındaki artış sürer ve inklüzyonun içinde EC ve RC'ler birlikte bulunmakla birlikte, EC'ler ortamda sayıca baskın hale gelirler (Schachter, 1999). Döngünün başlamasından 48-72 saat sonra hücrenin yırtılması ile enfeksiyöz EC'ler ortama salınır (Şekil 2.4) (Holmes, 1981; Schachter, 1999; Mabey et al., 2003).



Şekil 2.4. *C. trachomatis*'in yaşam döngüsü

(www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_devreg.asp)

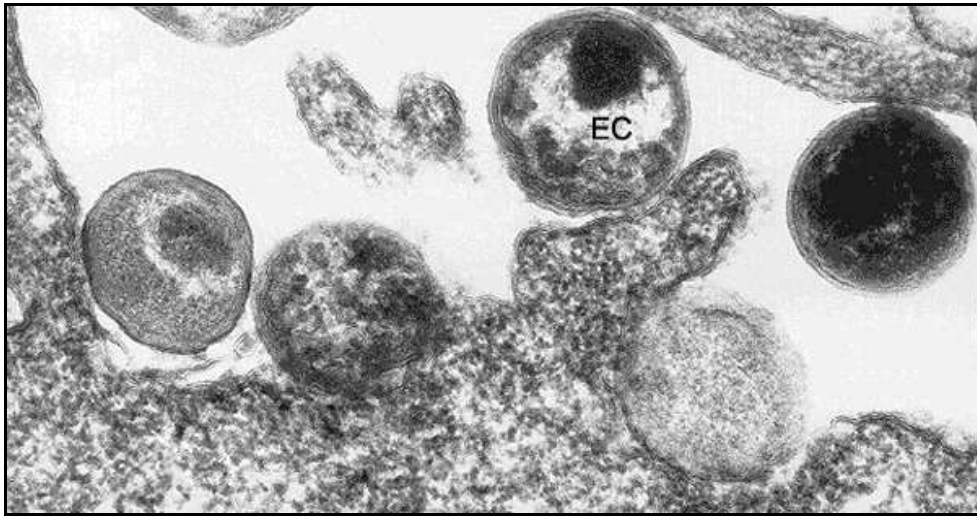
C. trachomatis'in yaşam döngüsü kısaca 5 basamakta özetlenebilir (Schachter, 1999):

1. EC'nin konak hücreye tutunması
2. EC'nin konak hücre içine girmesi
3. Hücre içi gelişim ve replikasyon sonucunda EC'nin RC'ye dönüşmesi
4. RC'nin EC'ye morfolojik dönüşümü
5. Konak hücrenin parçalanması ile enfeksiyöz EC'lerin ortama dağılması

2.4.3.1. Hücreye tutunması

Chlamydial EC'lerin konak hücre yüzeyine tutunması ile enfeksiyonun başladığı bilinmektedir (Şekil 2.5.) (Schachter, 1999; Morrison, 2003). Chlamydia'ların konak hücre yüzeyine tutunması, zayıf fakat özgül ligand etkileşimleri ile gerçekleşmektedir. Chlamydia'ların konak hücre yüzeyinde bulunan proteoglikan yapıdaki heparan sülfat molekülüne bağlandığı gösterilmiştir (Su et al., 1996). Bu molekül EC yüzeyindeki reseptör ile konak hücrenin yüzeyindeki özgül reseptör

arasında köprü görevi görmektedir (Schachter, 1999). Su ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, MOMP, Chlamydial sitoadezin olarak adlandırılmış ve Chlamydia'ların konak hücre yüzeyine tutunmasında MOMP'nin bir ligand gibi işlev gördüğü ve heparan sülfat molekülünün de bu ligandın bağlandığı reseptör olduğu belirtilmiştir (Su et al., 1996). Ayrıca *C. trachomatis*'in L₂ ve B serotiplerine ait EC'lerin, yüzeyinde, konak hücrenininkine benzeyen heparan sülfat benzeri glikozaminoglikan molekülü bulduklarını ve bu molekülü bir mikrobiyal adezin gibi kullanarak konak hücre reseptörüne tutunduklarını gösterilmiştir (Zhang and Stephens, 1992; Stephens, 1994).



Şekil 2.5. HeLa 229 hücre yüzeyine tutunmuş bir *C. trachomatis* EC'sine ait elektron mikroskop görüntüsü. EC yapısında dış zar ve iç zar dikkat çekmektedir.

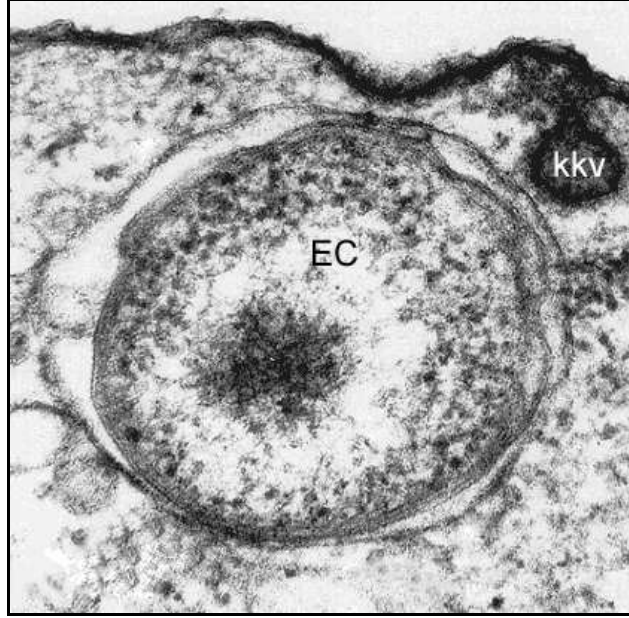
(www.chlamydiae.com/images/gifs6dec00/ctattach2.gif)

2.4.3.2. Hücreye girişi

Chlamydia'ların konak hücreye girişi ile ilgili elektron mikroskopik çalışmalar Chlamydia'ların kltrin kaplı çukurlardan reseptör aracılı endositoz yolu ile hücre içine girdiğini göstermiştir (Şekil 2.6). Reseptör aracılı endositoz, normalde fizyolojik olarak gerekli olan büyük moleküllerin hücre içine alınmasında kullanılan bir mekanizmadır. Chlamydial EC'lerin, kltrin kaplı veziküllerin taşıdıklarından daha büyük moleküller oldukları halde, bu yolla hücre içine girebildikleri gösterilmiştir (Hodinka et al., 1988).

Ayrıca, Carabeo ve arkadaşları, hücre kültürü çalışmalarında *C. trachomatis*'in konak hücreye bağlandığı bölgeye, konak hücreye ait aktin filamentlerinin

toplandığını ve bu toplanma sonucunda yapısında aktin filamentler bulunan mikrovillüslerin morfolojik yapısında değişiklikler meydana geldiğini gözlemişlerdir. Bu değişikliklerin ise *C. trachomatis*'in hücre içine alınışını kolaylaştırdığını bildirmişlerdir (Carabeo et al., 2002).



Şekil 2.6. HeLa hücresi içindeki bir *C. trachomatis* EC'sinin ve konak hücre yüzeyindeki klatriin kaplı vezikülün (kkv) elektron mikroskopik görünümü.

(www.chlamydiae.com/images/gifs6dec00/endebclathrin.gif)

2.4.4. Genetik özellikleri

Chlamydia türlerinin genom sekanslarının yapılması, özellikle Chlamydia'ların moleküler yapısı ile ilgili araştırmalarda önem taşımaktadır. Bu mikroorganizmaların genetik transformasyon sistemlerinden yoksun olmaları, Chlamydia ile ilgili moleküler biyoloji çalışmalarının yapılmasını güçleştirmektedir. Bu zorluklara rağmen 1998 yılında *C. trachomatis*'in D serovarına ait gen dizisi yayınlanmıştır (Stephens et al., 1998). Bu gelişme *C. trachomatis*'in metabolik yolları ve genom organizasyonu çalışmalarına ışık tutmuş, gen regülasyonu ve protein ifadesi ile ilgili bilgilere ise temel oluşturmuştur (Vandahl et al., 2004).

C. trachomatis yaklaşık 1000 kb'lık bir kromozomal DNA'ya ve 7,5 kb'lık bir plazmide sahiptir (Panuco et al., 2000; Cevenini et al., 2002; Loomis and Starnbach, 2002). *C. trachomatis* DNA'sının G-C içeriği %41-44 civarındadır (Jackson and Soper, 1997). Chlamydial EC'lerde DNA, HctA ve HctB adı verilen

iki temel histon-benzeri proteine sıkıca sarılmış durumdadır. HctA'nın EC oluşumu sırasında DNA'nın kromatine kondensasyonunda en önemli rolü oynadığı ve HctB'nin özgül genlerin ifadesinde rol aldığı düşünülmektedir. Ayrıca Chlamydial histon proteinlerinin, endonükleaz enzim aktivitesini arttırdığı yönünde bilgiler de elde edilmiştir. (www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_devcycle.asp)

C trachomatis'in tüm serotiplerinin MOMP'lerine ait aminoasit dizisi tanımlanmıştır. L₁ serotipinin MOMP'si 371 aminoasit, B ve L₂ serotipinin MOMP'si 372 aminoasit ve C serotipinin MOMP'si 375 aminoasit dizisi uzunluğundadır ve molekül ağırlıkları 39.5 ile 40.5 kDa arasında değişmektedir (Schachter, 1999).

Chlamydia'ların sahip olduğu proteinlerinden bazılarının etkenin antijenik özellikleri ile ilgili olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle, Chlamydia'ların proteinleri ile ilgili çalışmalar önem kazanmıştır. Son dönemlerde üzerinde çalışılan Chlamydial Genom Projesi (CGP) sonuçlarına göre 4 grup Chlamydial protein tanımlanmıştır. Bunlar; peptidoglikan sentez proteinleri, tip III sekresyon sistemi proteinleri, inklüzyon (Inc) membran proteinleri ve polimorfik membran proteinleri (pmp)' dir (Vandahl et al., 2004).

Peptidoglikan proteinleri ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, bu proteinler ile ilgili genom sekansları ortaya konulmuş ve Chlamydia'ların peptidoglikan sentezi için gerekli olan genlerin neredeyse tamamını bulundurduğu belirlenmiş olmakla birlikte, hücre duvarında bu genlerin ürünleri olan peptidoglikanın bulunmadığı veya eser miktarda bulunduğu bildirilmiştir (Subtil and Dautry-Varsat, 2004; Vandahl et al., 2004).

Tip III sekresyon sistemi ile ilgili çalışmalar, Gram (-) bakterilerde bulunan Tip III sekresyon sisteminin Chlamydia'larda da bulunduğunu göstermiştir. Tip III sekresyon sistemi, Chlamydia'ların iç ve dış zarında bulunan proteinlerle ilişkili olan ve Chlamydial sitozolde bulunan molekülerin konak hücre sitozolüne taşınmasında görev yapan protein kompleksleridir (Loomis and Starnbach, 2002; Vandahl et al., 2004). Bu sistemin, elektron mikroskopik çalışmalarla EC ve RC'lerin her ikisinde de gözlemlendiği bildirilmiştir (Vandahl et al., 2004).

Chlamydia'larda tanımlanan diğer bir protein grubu, Chlamydial inklüzyon zarı yapısında bulunan inklüzyon proteinleridir. Bu proteinler ilk kez *Chlamydomphila*

caviae (*C. caviae*) türünde tanımlanmış olup İnküzyon A (IncA), IncB, IncC şeklinde isimlendirilmişlerdir. Inc proteinlerinin Chlamydia'ların tüm türlerinde bulunduğu bildirilmiş olmasına rağmen Chlamydia dışındaki hiçbir organizmada bu proteinlere rastlanmamıştır. Bu proteinlerin Chlamydia'nın konak hücreye girişinden 2 saat sonra erken dönemde sentezlendikleri bildirilmiştir. Bu nedenle de Inc proteinlerinin, inküzyon oluşumu öncesinde gerçekleşen patojen-konak hücre etkileşimlerinde rol oynadıkları düşünülmektedir (Rockey et al., 2002). Varlığı bilinen Chlamydial A, B ve C Inc proteinlerine ek olarak Scidmore ve arkadaşları tarafından *C. trachomatis*'te Inc D, E, F, G şeklinde isimlendirilen 4 yeni Inc proteini tanımlanmıştır (Scidmore-Carlson et al., 1999).

Chlamydia'larda tanımlanan polimorfik membran proteinleri (pmp) ise ilk kez *Chlamydophila abortus* (*C. abortus*)'ta gösterilmiş olan bir protein ailesidir (Longbottom et al., 1996). Bu proteinlerin üç önemli fonksiyonu olduğu düşünülmektedir. Bunlar; Chlamydia'nın konak hücreye tutunmasında rol almaları, Chlamydial proteinlerin konak hücre sitoplazmasına taşınmasında görev yapmaları ve konak hücrenin Chlamydia'ya karşı immun yanıt oluşturmaya neden olmaları şeklinde sıralanabilir (Longbottom et al., 1996; Cevenini et al., 2002). *C. trachomatis*'te, pmpA-pmpH şeklinde isimlendirilmiş olan bu proteinleri kodlayan 9 tane gen bölgesi bulunduğu bildirilmiştir (Grimwood and Stephens, 1999; Henderson and Lam, 2001).

2.4.5. Metabolizması

Chlamydia'lar, metabolik aktivitelerini gerçekleştirmek için enerji kaynağı olarak konak hücrenin ATP'sine gerek duyarlar. Bu özellikleri nedeniyle Chlamydia'lar Moulder (1991), tarafından "enerji paraziti" olarak nitelendirilmiştir (Moulder, 1991; Campbell et al., 2001; Fields and Hachstadt, 2002; Vandahl et al., 2004). Ancak yapılan Chlamydial genom çalışmalarında Chlamydia'ların az da olsa ATP sentezleyebildiklerini gösteren yeni gen bölgeleri tanımlanmıştır. Chlamydial DNA sekans analizi çalışmalarında varlığı gösterilen fosfogliserat kinaz, piruvat kinaz ve süksinat tiyokinaz gibi ATP sentezinde rol alan pek çok enzimi kodlayan gen bölgesinin saptanması, Chlamydia'nın kendi ATP'sini sentezleyebildiğine dair ipuçları vermiştir (Stephens et al., 1998). Chlamydia'lar kendileri için gerekli olan aminoasit ve nükleotidleri konak organizmadan sağlamaktadırlar (Hachstadt et al.,

1997; Fields and Hachstadt, 2002). Enerji ve nükleotid gereksinimleri ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada, Chlamydia'ların, gelişimleri için zorunlu olarak ATP, GTP ve UTP'ye ihtiyaç duydukları (bu moleküller için okzotrofik oldukları), ancak CTP'ye gerek duymadıkları (CTP için okzotrofik olmadıkları) bildirilmiştir (Tipples and McClarty, 1993). Ayrıca Chlamydia'lara dışarıdan ATP gibi yüksek enerjili fosfat bileşikleri ve organik veya inorganik kofaktörler sağlandığı takdirde glukozu pirüvik ve glutamik aside parçalayarak karbondioksit oluşturabildikleri bilinmektedir (Özbal, 1999).

2.4.6. Boyanma özellikleri

Chlamydia'lar Giemsa boyası ile boyandığında EC'lerin eozinofilik, RC'lerin ise bazofilik boyandığı bildirilmiştir (Cevenini, 2002). Gelişimini tamamlamış (matür) inklüzyon cisimcikleri büyük bir sitoplazmik vakuol şeklinde görülür ve böyle matür Chlamydia'lar inklüzyon cisimcikleri görülen hücrelerde, çekirdek çoğu kez kenara itilmiştir. Chlamydia'lar inklüzyon cisimciklerini ışık mikroskopik olarak gözlemek için kullanılan bir diğer boya da iyot boyasıdır. İyot boyası inklüzyondaki glikojeni boyar. *C. trachomatis* inklüzyonları glikojen içerdiği için iyot boyası ile boyandığında kahverengi görülür. Ancak *C. pneumoniae* ve *C. psittaci* inklüzyonları glikojen içermediğinden iyot boyası ile reaksiyon vermez. Bu özellik *C. trachomatis*'i *C. pneumoniae* ve *C. psittaci*'den ayırtedici bir özelliktir. (Brooks et al.,1995; Schachter, 1999). Chlamydia'ların boyanmasında kullanılan bir diğer boya Macchiavello boyasıdır. EC'ler Macchiavello boyası ile kırmızı boyanmaktadır (Serter, 1997; Özbal,1999). Gram boyamanın ise Chlamydia tanısında kullanışlı olmadığı bildirilmiştir (Brooks et al.,1995; Serter, 1997).

2.4.7. Üremesini etkileyen fiziksel ve kimyasal etkenler

Chlamydia'lar ısı muamelesi ile kısa sürede inaktif hale gelmektedirler. Bunlar 60 °C'de 10 dakikada aktivitelerinin tümünü kaybederler. 37 °C'de 3-12 saat bırakılırlarsa enfekte etme yetenekleri kısmen kaybolur. -50 °C ile -70 °C arası sıcaklıklarda ise enfeksiyon oluşturma özelliklerini yıllarca koruyabilirler. Prosedürün doğru uygulanmadığı liyofilizasyon (dondurarak kurutma) tekniği ile aktivitelerinin çoğunu kaybettikleri ancak başarılı bir liyofilizasyon ile uzun süre enfektif halde kalabildikleri bildirilmiştir. Chlamydia'lar eterle 30 dakikada, %0.1'lik

formol ile 24 saatte ve %0.5'lik fenol ile 24 saatte inaktive edilebilirler (Brooks et al., 1995; Özbal, 1999).

2.5. Antijenik Özellikleri

Chlamydia trachomatis'in sahip olduğu antijenler cinse özgü ve türe özgü antijenler olmak üzere iki başlık altında incelenecektir.

2.5.1. Cinse özgül antijenler

Cinse özgül antijenler, Chlamydial lipopolisakkaritlerdir ve Gram (-) bakterilerin lipopolisakkaritleri ile benzerlik gösterir. Bu antijenler RC ve EC'lerin her ikisinde de bulunmaktadır ve tüm *Chlamydia* türlerinde ortakdır (MacDonald, 1985). Cinse özgül antijenlerin yapısında yağ asitleri, fosfolipidler ve 3-deoksi-D-mannooktulosonik asit (KDO) adı verilen bir trisakkaritin bulunduğu gösterilmiştir (Rund et al., 1999). KDO'nun, 2×10^5 - 2×10^6 Da molekül ağırlığına sahip olduğu ve bir lipopolisakkaritten izole edildiği bildirilmiştir (MacDonald, 1985). KDO yüksek derecede immünojenik bir yapıdır (Rund et al., 1999) ve laboratuvar çalışmalarında cins tayininde belirleyici (marker) olarak kullanılmaktadır (Cevenini, 2002). Cinse özgül antijenler ısıya, nükleazlara, ve proteinazlara dirençlidirler, fakat periodat ve lesitinaza karşı hassastırlar (Brooks et al., 1995; Serter, 1997).

2.5.2. Türe özgül antijenler

C. trachomatis dış zar yapısında bulunan MOMP, türe özgül antijen olarak tanımlanmıştır. Caldwell ve arkadaşları tarafından MOMP'nin Chlamydial dış zarın %60'ını oluşturan immünojenik bir protein olduğu bildirilmiştir (MacDonald, 1985). Yapılan deneylerin sonucunda, cinse özgül antijenler florokarbon veya deoksikolat gibi maddelerle uzaklaştırıldığında bile, türe özgül antijenlerin hücre çeperine bağlı kaldıkları bildirilmiştir (Brooks et al., 1995; Serter, 1997; Özbal, 1999).

2.6. Patojenitesi

C. trachomatis, serviksde bulunan kolumnar hücreleri, üretra, rektum, konjonktiva hücreleri ile yeni doğanın solunum sistemi hücrelerini enfekte eder (Holmes, 1981; Johnson, 1985; Kunimoto and Brunham, 1985; Lipkin et al., 1986; Zhang and Stephens, 1992; Su et al., 1996; Welsh et al., 1997; Campbell et al., 2001; Kelly, 2003).

C. trachomatis'in L₁, L₂ ve L₃ serotiplerinin neden olduğu enfeksiyonlardan biri Lenfograduloma venereum (LGV) adı verilen, lenf bezlerini tutan sistemik bir enfeksiyondur. Bu enfeksiyonda *C. trachomatis*, derideki sıyrıklardan ya da genital bölge mukozasından vücuda girer ve submukozaya geçer. Buradan bağ dokuya geçerek ekstraselüler sıvı aracılığıyla lenf kapillerlerine geçip lenfatik sistemdeki makrofajları enfekte eder (Morrison and Caldwell, 2002). LGV lezyonlarında, ortamda çok sayıda makrofaj bulunur. İn vitro çalışmalarda L₁, L₂, L₃ serotiplerinin makrofajlar içinde çoğalabildiği gösterilmiştir. Makrofajlar içinde çoğalan *C. trachomatis* serotipleri, lenf kapillerleri ile lenf bezlerine taşınır (Morrison and Caldwell, 2002; Önel, 2003). LGV enfeksiyonu sırasında oluşan küçük abse odakları nekrotik ve iltihaplı odaklarla birlikte granülomaya dönüşür (Önel, 2003). LGV lezyonlarında enfeksiyonun ileri safhalarında fibrozis görülebileceği ve makrofajlarda çoğalan *C. trachomatis*'in taşınması ile enfekte olan lenfatik dokuda plazma hücrelerinin ise sayıca artış gösterdiği rapor edilmiştir (Kunimoto and Brunham, 1985; Serter, 1997; Mabey et al., 2003).

C. trachomatis enfeksiyonların histopatolojisine bakıldığında, tüm dokularda papiller hipertrofi gözlemlendiği bildirilmektedir. Epitel altı dokulara lenf geçişi sonucunda folikül oluşumu gerçekleşir ve tedavi edilmediğinde skar oluşumu görülür (Johnson, 1985; Kunimoto and Brunham, 1985). Yapılan çalışmalarda mukopürülan servisit görülen hastalarda *C. trachomatis* ve Herpes simplex virüs gibi diğer enfeksiyon etkenlerinin ilişkili olduğu histolojik değişiklikler incelenmiş ve bu enfeksiyonların histopatolojik etkileri belirlenmiştir. 83 hastanın 21'inin *C. trachomatis* açısından (+) olduğu saptanmış ve bu hastaların histopatolojik incelemelerinde, endoservikal hücrelerde yoğun bir yangısal cevap tespit edilmiştir (Kunimoto and Brunham, 1985; Kiviat et al., 1990). Bunun yanında Chlamydial enfeksiyonlarda nekrotik ülserleşmeye rastlanmamış olup, plazma hücrelerinin histiyosit, lenfosit ve nötrofile göre sayıca baskın olduğu görülmüştür (Kiviat et al., 1990).

Chlamydia'ların normal koşullarda PMNL'ler içinde yaşamlarını sürdüremedikleri bilinmektedir. Ancak Register ve arkadaşlarının *C. trachomatis* ile polimorfonükleer lökosit (PMNL) arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmalarında, PMNL içinde bulunan Chlamydia'ların tamamının fagolizozomal lizise uğratılmadığı ve

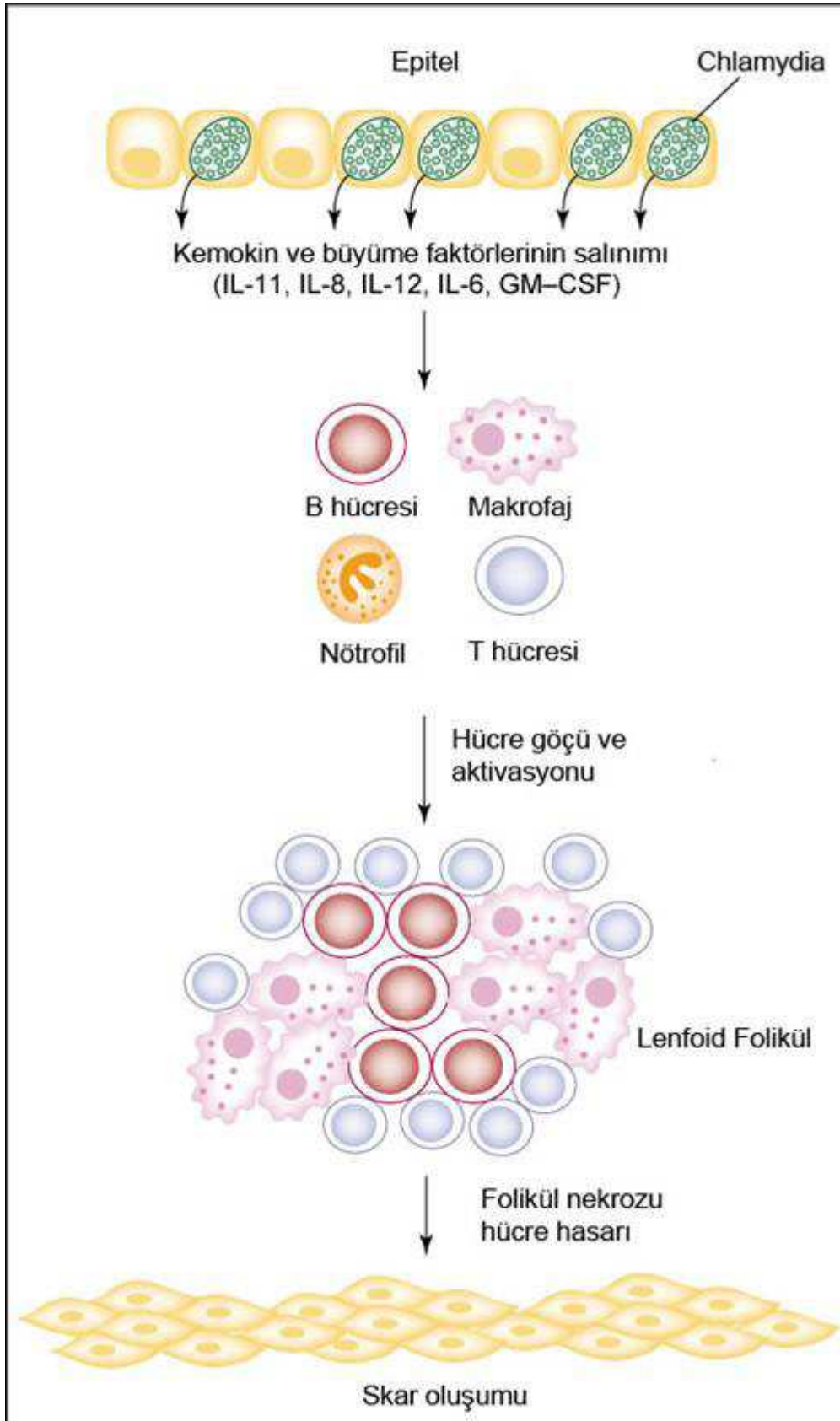
PMNL'lerin dejenerasyonundan sonra bu mikroorganizmaların komşu hücreleri enfekte etmek üzere serbest kaldıkları gözlenmiştir. Hücre kültüründe üretilen Chlamydia türleri ile PMNL'lerin karşılaşmasından yaklaşık 1 saat sonra Chlamydial EC'lerin %25-50'sinin enfeksiyon oluşturma özelliğini yitirmediği saptanmıştır (Register et al., 1986). Bununla birlikte enfeksiyon bölgesine ilk ulaşan hücrelerin PMNL'ler olduğu ve enfekte bölgelerde PMNL'lerin sayıca baskın olarak bulunduğu belirtilmiştir (Kunimoto and Brunham, 1985; Register et al., 1986; Monno et al., 1991).

C. trachomatis üremesinin konak hücre çekirdeğine bağlı olup olmadığını belirlemek amacıyla Perrara ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, çekirdeği çıkarılmış konak hücrede *C. trachomatis*'in üremesi incelenmiştir. Bu çalışmada *C. trachomatis*'in, çekirdeği olmayan hücrelerde de kolaylıkla çoğaldığı gösterilmiş ve *C. trachomatis*'in üremesi için konak hücrenin çekirdek fonksiyonlarına ihtiyaç duymadığı belirtilmiştir (Perara et al., 1990).

C. trachomatis'in sperm ile olan ilişkisi de araştırılmış ve *C. trachomatis* ile aynı ortamda bulunan sperm hücrelerinde *C. trachomatis*'in, sperm hareketliliği ve canlılığında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda, sperm hareketliliğinin azalmasında EC'lerin rolü olduğu bildirilmiştir (Villegas et al., 1991; Mardh and Novikova, 2001). Ayrıca Pacey ve Eley, *C. trachomatis*'in, spermelere reseptör aracılı bir mekanizma ile bağlandığını rapor etmişlerdir (Pacey and Eley, 2004). Bu sonuçlar, *C. trachomatis*'in, sperm hücrelerine tutunduğunu ve hücre içine girdiğini göstermektedir (Mardh and Novikova, 2001). *C. trachomatis*'in özellikle hangi serotipinin sperm üzerine etkili olduğunun araştırıldığı çalışmalarda, Hosseinzadeh ve arkadaşları tarafından *C. trachomatis*'in E serotipi ile spermler aynı ortama inoküle edilmiş ve sperm hareketliliğinde azalma ve bunun sonucunda ise prematüre sperm ölümü saptanmıştır (Hosseinzadeh et al., 2000). Yine aynı araştırma grubunun yaptığı bir başka çalışmada ise *C. trachomatis*'in neden olduğu insan spermlerinin ölümünde Chlamydial antijen olan LPS'nin rol aldığı ve spermidal (sperm öldürücü) etki gösterdiği bildirilmiştir (Hosseinzadeh et al., 2003).

2.7. Konağın İmmün Yanıtı

C. trachomatis ile enfekte konak hücrede, bu etkene karşı hücresel ve hümoral immün yanıt oluşturulur (Darougar, 1985; Kelly, 2003; Tiitinen et al., 2006). Chlamydial enfeksiyonlara karşı oluşturulan hücresel yanıt şu şekilde özetlemek mümkündür: Chlamydia'lar ile enfekte olan hücrelerden, IL-6 (interlökin), IL-8, IL-11, IL-12 ve granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) gibi proinflamatuvar (enfeksiyonu teşvik edici) sitokinler ve büyüme faktörleri salınır (Stephens, 2003; Fukuda et al., 2005). Bu mediyatörler, inflamatuvar nötrofiller, T hücreleri, B hücreleri ve monositlerin damardan çıkarak bağ dokuya geçmesini uyarır. Bağ dokuya geçen monositler, makrofaj halini alır. Bu hücreler ise kendi kemokin ve monokinlerini enfekte hücreye yönlendirir. Diğer konak hücre sitokinlerinin de indüklenmesi sonucunda oluşan immün yanıt ile hücresel proliferasyon ve dokunun yenilenmesi gerçekleşir ve iyileşme görülür. Fakat enfeksiyon ısrarcı olursa skar oluşumu gerçekleşir (Şekil 2.7) (Stephens, 2003). Ayrıca Ault ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Chlamydial enfeksiyona karşı makrofajlar tarafından salınan tümör nekroz faktör α 'nın (TNF- α) da hücresel immün yanıtta rol alan IL-1 ve IL-6 gibi diğer sitokinlerin salınmasını indükleyebileceği gösterilmiştir (Ault et al., 1996). Fukuda ve arkadaşları ise, IL-8'in doku hasarının gerçekleştiği bölgeye nötrofil göçünü indüklediğini bildirmişlerdir. IL-8 ve IL-6'nın Chlamydia ile enfekte HeLa 229 hücrelerinde en çok salınan sitokinler olduğu gösterilmiştir (Fukuda et al., 2005).



Şekil 2.7. *C. trachomatis* enfeksiyonunun immün yanıt modeli (Stephens, 2003).

Chlamydial enfeksiyonlara karşı hücresel ve humoral yanıtın oluşmasında Chlamydial ısı şok proteinlerinden [Heat Shock Proteins (Hsp)] Hsp 60'ın rolü olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Guaschino and De Seta, 2000). Isı şok proteinleri, bakteri, *Drosophila* (sirke sineği), *Chlamydia* ve insan gibi pek çok organizmada sentezlenen, filogenetik yapı ve fonksiyon bakımından evrimsel olarak hiç değişmeden kalmış olan proteinlerdir (Witkin, 1999; Debattista et al., 2003; Kılıçturgay, 2003). Hücre içinde ısı artışı, hipoksi, iskemi, inflamasyon ve reaktif oksijen metabolitlerinde artış gibi olaylar meydana geldiğinde bu proteinlerin sentezinde artış görülmesi nedeniyle bu proteinlere “stres proteinleri” de denilmektedir (Debattista et al., 2003; Kılıçturgay, 2003; Felice et al., 2005). Isı şok proteinleri (stres proteinleri), peptidlerin hücre içinde taşınmasında ve proteinlerin yanlış katlanma ve denatürasyonunun engellenmesinde görev yapan hücre içi moleküllerdir (Witkin, 1999; Kılıçturgay, 2003). Hsp 60 molekülü ise, ısı şok proteinleri ailesinin moleküler ağırlığı yaklaşık 57 kDa olan bir üyesidir (Guaschino and De Seta, 2000). Bu molekülün, konağın hücresel bağışıklık yanıtında görev yapan T lenfosit aktivasyonunu tetiklediği bildirilmiştir (Elbhar and Suchet, 1999).

C. trachomatis'in neden olduğu enfeksiyonlarda enfekte olmuş konak hücrenin immün yanıtlarından biri de humoral immün yanıtıdır (Darougar, 1985). Humoral yanıt, kan ve doku sıvılarında bulunan antikorlar tarafından oluşturulan yanıtıdır. Antikorlar immünoglobülin denilen, yabancı antijenlere karşı oluşturulan ve onlarla seçici olarak reaksiyona girebilen glikoprotein yapısındaki moleküllerdir (Kılıçturgay, 2003). İnsanda beş adet immünoglobülün bulunmaktadır. Bunlar IgA, IgD, IgE, IgG ve IgM olarak isimlendirilmiştir. Humoral yanıt, plazma hücrelerinin antijene karşı oluşturduğu antikor yanıtıdır (Noyan, 2000; Kılıçturgay, 2003). Toye ve arkadaşları, tubal infertilite tanısı konan hastalarda *Chlamydia trachomatis*'e karşı oluşturulan antikor bulunma sıklığını incelemişler ve Chlamydial Hsp 60 'a karşı oluşturulan antikor cevabı ile tubal infertilite arasında güçlü bir ilişki bulunduğunu göstermişlerdir (Toye et al., 1993). Tiitinen ve arkadaşları tarafından yapılan benzer bir çalışmada da, tübal infertilite tanısı konmuş kadınlarda Chlamydial Hsp 60 'a karşı oluşturulan IgG antikor ELISA tekniği ile saptanmış ve hasta olan grupta, kontrol grubuna oranla antikor miktarı daha yüksek bulunmuştur (Tiitinen et al., 2006). Ancak başka bir serolojik çalışmada da yine genital sistem enfeksiyonlarında antichlamydial immünoglobülin G (IgG) konsantrasyonunun

yüksek olduğu saptanmış fakat bu sonucun, Chlamydial enfeksiyon varlığını göstermek için yeterli olmadığı bildirilmiştir. Çünkü IgG'nin bulunması, akut bir enfeksiyon varlığını göstermekten ziyade, daha önce bu enfeksiyonun geçirilmiş olduğunun bir göstergesidir. IgM ise akut enfeksiyon sırasında titresi yüksek olan ve çok yeni geçirilmiş veya henüz geçirilmekte olan enfeksiyonun varlığını gösteren önemli bir belirleyici özelliktir. Antichlamydial IgA'nın da akut salpinjit, dış gebelik ve tubal infertilite ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (Guaschino and De Seta, 2000).

Chlamydial enfeksiyonların kronikleşmesinde, triptofan aminoasitini ortadan kaldıran İnterferon γ (IFN- γ) adı verilen proteinin görev aldığı bildirilmiştir (Morrison, 2003). IFN- γ , memeli hücrelerinde Chlamydial enfeksiyonlar gibi çeşitli enfeksiyonlara yanıt olarak üretilen antiviral proteinlerdendir. Bu protein T hücreleri ve doğal öldürücü [natural killer (NK)] hücreler gibi hücresel bağışıklığın elemanları tarafından üretilir. IFN- γ , enfekte olan hücrelerin yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanarak konak hücrede, indolamin 2,3 dioksigenaz (IDO) adı verilen enziminin sentezini indükler. Bu enzim de hücre içinde bulunan triptofan aminoasit miktarını azaltır (Loomis and Starnbach, 2002; Debattista et al., 2003; Kelly, 2003; Morrison, 2003). Triptofan, Chlamydial proteinlerin temel yapı taşlarından biridir. Bu nedenle, hücre içi triptofan miktarında azalma sonucunda, Chlamydia'ların yaşam döngüleri, RC'lerin oluşum aşamasında inhibe edilir ve RC'lerin EC'lere dönüşümü gerçekleşemez. Normal şekillerinden daha büyük RC'ler meydana gelir (Elbhar and Suchet, 1999; Morrison, 2003; Vandahl et al., 2004). Ancak ortamda bulunan IFN- γ 'nın uzaklaştırılması veya miktarının azalması ile Chlamydial döngü kaldığı yerden devam eder ve RC'ler EC'lere dönüşürler. Enfektif EC'lerin konak hücre dışına çıkması ile döngü tamamlanmış olur (Morrison, 2003; www.chlamydiae.com/docs/biology/persist_ifng.asp).

2.8. Neden Olduğu Hastalıklar

C. trachomatis, kadınlarda akut ve kronik mukopürülan servisit, endometrit, akut üretral sendrom, ooforit, akut salpinjit, bartolinit, proktit ve pelviğin iltihabi hastalığı (PİH) gibi hastalıklara neden olur (Gupta, et al., 1979; Holmes, 1981; Faro, 1985; Geerling et al., 1985; Handsfield et al., 1986; Lipkin et al., 1986; Sanders et al., 1986; Genç and Mardh, 1996; Nelson and Helfand, 2001; Felice, 2005). Salpinjitin

bıraktığı sekeller; kronik pelvik ağrı, hidrosalpinks, piyosalpinks, infertilite, tuboovarian abseler ve Fitz-Hugh Curtis sendromudur (Faro, 1985; Geerling et al., 1985).

Tanısı konulmayan ve tedavi edilmeyen Chlamydial enfeksiyonlar zamanla üst genital sisteme yayılabilir ve hem kadın hem de erkek üreme sisteminde inflamasyona neden olabilir. *C. trachomatis*'in, kadınlarda PİH gelişiminde rol alan önemli bir mikroorganizma olduğu bilinmektedir. PİH'ye bağlı olarak hastalarda dış gebelik, tübal infertilite ve kronik pelvik ağrı görüldüğü bildirilmiştir (Nelson and Helfand, 2001; Watson et al., 2002). Bazı ülkelerde *C. trachomatis* kaynaklı PİH sonrasında, dış gebelik gelişiminde artış görülmekte ve bu durum, gebeliğin ilk trimesterinde bebek ölümlerinin önde gelen nedenlerinden sayılmaktadır. Ayrıca *C. trachomatis*, enfekte anneden doğum sırasında bebeğe bulaşarak bebekte inklüzyon konjonktivit ve pnömoni gibi *C. trachomatis*'e bağlı hastalıklar oluşturabilmektedir (Giampaolo et al., 1983; Geerling et al., 1985; Lipkin et al., 1986; McGregor and French, 1991; Genç and Mardh, 1996; Watson et al., 2002).

C. trachomatis'in ayrıca Reiter Sendromunun ortaya çıkmasına yol açabileceği bildirilmektedir. Reiter Sendromu, konjonktivit, üretrit ve deri lezyonlarının birlikte görüldüğü bir seronegatif artrit hastalığıdır (Campbell et al., 2001; Pavlica et al., 2003). Yapılan çalışmalarda *C. trachomatis*'in Reiter sendromu ile ilişkili olduğu ve Reiter sendromlu hastalarda, T hücrelerinin görev aldığı hücrel immün yanıt görüldüğü bildirilmiştir (Kousa et al., 1978; Vilppula et al., 1983; Sieper et al., 1991).

2.9. Klinik Belirtileri

Chlamydial servikal enfeksiyonların %70-90'ında semptomlar ya çok azdır ya da hiç ortaya çıkmaz ve servikal incelemelerde serviks normal görünümündedir. Enfeksiyonlar belirti verdiği takdirde mukopürülan endoservikal akıntı, ara kanamalar, ilişki sonrası kanamalar, sık idrara çıkma ya da idrar yaparken ağrı (disüri) gibi klinik belirtiler görülebilir (Jackson and Soper, 1997; Davis, 1998; Campbell et al., 2001).

C. trachomatis'in neden olduğu bir hastalık olan LGV'de, enfeksiyon tek bir genital papül oluşumu ile başlar ve bunu, inguinal ve femoral lenfadenopati gelişimi izler.

Bazı hastalarda etkenin vücuda üretral, rektal veya servikal yoldan girişi ile enfeksiyon gözlenir. Bundan dolayı, LGV'li hastalarda, şankır veya rektal Herpes simpleks virüs enfeksiyonu belirtileri ile benzerlik gösteren klinik belirtiler gözlenebilir (Campbell et al., 2001).

Erkeklerde ise *C. trachomatis* varlığında idrar yaparken ağrı, sık idrara çıkma, üretra etrafında yanma ve kaşıntı, testislerde ağrı, hassasiyet ve şişme, alt karın bölgesinde ağrı, anüsten gelen akıntı gibi klinik belirtiler görülebilir (Davis, 1998). Chlamydial enfeksiyonlar ile *Neisseria gonorrhoeae*'nin neden olduğu enfeksiyonların klinik belirtileri birbirine benzerlik gösterdiğinden bu enfeksiyonların ayırt edici tanısı için laboratuvar yöntemlerine gerek duyulmaktadır (Campbell et al., 2001).

C. trachomatis enfeksiyonlarına yakalanma riski, yaşın küçük olması, evlilik durumu, çok sayıda veya yeni eş, mukopürülan servikal akıntı veya örnek alınması sırasında tetiklenen endoservikal kanama, cinsel ilişki sırasında koruyucu bariyerlerin kullanılmaması, *N. gonorrhoeae* enfeksiyonu gibi daha önceden geçirilmiş cinsel yolla bulaşan hastalık hikayesi, cinsel eşte enfeksiyon bulunması, tekrarlayan enfeksiyonların varlığı, alt karında ağrı, menstrual problemler, kızarıklık, düşük sosyoekonomik durum gibi koşullarda artış göstermektedir (Handsfield et al., 1986; Jackson and Soper, 1997; Davis, 1998; Guaschino and De Seta, 2000; Nelson and Helfand, 2001; Chislett, 2003). Özellikle yaşın 25'in altında olması ve yeni bir cinsel eşin varlığının en önemli risk faktörleri olduğu bildirilmiştir (Nelson and Helfand, 2001; Kelly, 2003; Macleod et al., 2005).

2.10. Epidemiyolojisi

Chlamydia'lar zorunlu hücre içi parazitleridir ve yalnızca enfekte ettikleri konak hücrede çoğalarak hayatta kalmaları mümkündür. Bu mikroorganizmalar kadın ve erkek genital sisteminin normal flora elemanı olmayıp patojen kabul edilmektedirler (Schachter, 1999). *C. trachomatis* cinsel yolla bulaşan hastalık etkenleri arasında tüm dünyada ön sıralarda yer almaktadır. ABD'de her yıl 4 milyon, Avrupa'da 10 milyon ve dünya çapında 89 milyon yeni Chlamydial enfeksiyon vakası ortaya çıktığı ileri sürülmektedir (Cavaliere et al., 1993; Scholes et al., 1996; Welsh et al., 1997; Guaschino and De Seta, 2000; Campbell et al., 2001; Minkoff and Baker, 2004). *C. trachomatis* enfeksiyonları 1995 yılında ABD'de en fazla rapor edilen

enfeksiyon olmuştur (Centers for Disease Control and Prevention, 1996). İngiltere, Galler ve Kuzey İrlanda'da bulunan genitoüriner kliniklere 1996-2002 yılları arasında başvuran hastalarda Chlamydial enfeksiyonların tanısında %140 artış görüldüğü bildirilmiştir. Bunun nedenlerinden biri, nükleik asit amplifikasyon teknikleri kullanımının yaygınlaşmasıdır. İngiltere'de bulunan genitoüriner tıp kliniklerinde 2002 yılında Chlamydia tanısı konan 82.000'den fazla birey bulunduğu bildirilmiştir (Eley et al., 2005).

Chlamydial enfeksiyonların klinik belirtilerini dikkate alarak yapılan epidemiyolojik çalışmalarda enfekte kadınların %50-75'inde ve erkeklerin %50'sinde hastalıkların klinik belirti vermediği görülmektedir (Guaschino and De Seta, 2000; Watson et al., 2002; Harindra et al., 2003; Minkoff and Baker, 2004; Eley et al., 2005). Enfeksiyonların büyük bir yüzde ile adölesanlarda, 25 yaşın altındaki kadınlarda ve genç erkeklerde görüldüğü tespit edilmiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda toplumlarda yaşın artmasıyla, *C. trachomatis* görülme sıklığının azalma gösterdiği bildirilmiştir (McGregor and French, 1991; Cavaliere et al., 1993; Campbell et al., 2001; Pacey and Eley, 2004; Macleod et al., 2005). Minkoff ve Baker tarafından yapılan bir çalışmada Chlamydial enfeksiyonun 15-19 yaşlarında görülme oranı %46 iken, 20-24 yaş arası kadınlarda bu oranın %33'e düştüğü saptanmıştır (Minkoff and Baker, 2004).

Chlamydial enfeksiyonların görülme sıklığı ile ilgili olarak yapılan seroepidemiyolojik çalışmalarda ise cinsel yönden aktif kadınların %20-40'ında *C. trachomatis*'e ait antikor bulunduğu belirlenmiş ve hamile olmayan kadınların yaklaşık %9'unun serviksinde *C. trachomatis* saptandığı belirtilmiştir (Faro, 1985). Hamile kadınlarda ise semptomatik ve asemptomatik Chlamydial enfeksiyonların görülme sıklığının %2-37 arasında olduğu gösterilmiştir (Minkoff and Baker, 2004). Ayrıca hamile kadınlarda görülen gonokok enfeksiyonlarının %40'ına Chlamydia enfeksiyonlarının eşlik ettiği bildirilmiştir (Jackson and Soper, 1997). Gebelik döneminde görülen *C. trachomatis* enfeksiyonlarının, postpartum endometrit, erken dönem prematüre membran yırtılması, erken doğum, ölü doğum ve düşük ağırlıklı doğum gibi gebelik komplikasyonları ile ilişkili olduğunu belirten yayınlar bulunmaktadır (Handsfield et al., 1986; Dodson and Fortunato, 1988; Jackson and Soper, 1997; Panuco et al., 2000; Nelson and Helfand, 2001).

Chlamydial enfeksiyonlardan biri olan ve körlükle sonuçlanan trahom ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda, tüm dünyada 150 milyon trahom hastası bulunduğu ve bunların 6 milyonunun trahom nedeniyle kör olduğu bildirilmiştir (Stephens and Lammel, 2001; Mabey et al., 2003). Chlamydial LGV enfeksiyonunun ise Kuzey Amerika'da son yıllarda görülme yüzdesinin düşmüş olmasına rağmen, Afrika, Asya, Orta ve Güney Amerika'da daha sıklıkla görüldüğü belirtilmiştir (Campbell et al., 2001).

Tedavi edilmeyen endoservikal enfeksiyonların %20-40'ında enfeksiyonun üst genital sistemlere yayıldığı ve bu vakaların %10-40'ında PİH ile ilişkili semptomlar gözlemlendiği saptanmıştır (Guaschino and De Seta, 2000; Campbell et al., 2001). Amerika'da her yıl 1 milyonun üstünde kadının PİH'ye yakalandığı ve bu vakaların %20-50'sinin *C. trachomatis* nedeniyle meydana geldiği yapılan epidemiyolojik çalışmalarla bildirilmiştir. Tedavi edilmeyen PİH'nin önemli iki sonucu olan tubal infertilite ve dış gebeliğin, Chlamydial akut salpinjit nedeniyle görülebildiği, bu hastalığı bulunan kadınların %25'inin infertil olduğu bilimsel olarak rapor edilmiştir (Guaschino and De Seta, 2000). Ayrıca başka bir çalışmada da, Chlamydial enfeksiyonun, bakteriyel vajinoza neden olan aerobik ve anerobik patojenlerin servikse geçişinde tetikleyici rol oynadığı belirtilmiştir (Elbhar and Suchet, 1999).

2.11. *C. trachomatis* ile Servikal Kanser İlişkisi

Cinsel yolla geçen hastalık etkenlerinden biri olan *C. trachomatis*'in servikal kanser ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Gupta ve arkadaşları, Chlamydia ile bağlantılı olan servikal atipinin, hücrenin kendini enfektif mikroorganizmaya karşı korumak amacıyla geliştirdiği savunma mekanizmaları sonucu ortaya çıkmış olabileceğini rapor etmişlerdir (Gupta et al., 1979). Allerdin ve arkadaşları ise, daha önce displazi tanısı verilmemiş olsa bile, servikal simirlerinde koilostotik hücrelerin ve Chlamydial inklüzyonların bulunmasının, bu kadınlarda servikal kanserin görülmesi riskini önemli oranda artırdığını bildirmişlerdir (Allerdin et al., 1985).

Servikal kanser gelişiminde *C. trachomatis*'in rolünü inceledikleri serolojik çalışmalarında bazı araştırmacılar *C. trachomatis* enfeksiyonu varlığında Servikal İnterepitelyal Neoplazi (CIN) bulunma yüzdesinin yüksek olduğunu saptamışlar ve invaziv kanser gelişiminde *C. trachomatis*'in G, I ve D serotiplerinin aktif rol aldığını

belirtmişlerdir (Anttila et al., 2001; Markowska, 2002). Wallin ve arkadaşları ise Human Papilloma Virüs (HPV) enfeksiyonunun servikal kanser gelişiminin nedenlerinden biri olduğunu, ancak *C. trachomatis*'in servikal kanser gelişimindeki rolünün açıklığa kavuşmadığını belirtmişlerdir. Bu araştırma grubunun, *C. trachomatis* ile servikal kanser arasındaki ilişkiyi araştırmak üzere yaptıkları prospektif çalışmada servikal kanser tanısı konulmuş 118 hastanın 10'unda (%8) *C. trachomatis* DNA'sı saptanmıştır. Buna karşılık kontrol grubu olarak belirlenen 118 hastanın hiçbirinde servikal kanser gelişmemiştir. Bu verilere göre *C. trachomatis* enfeksiyonunun servikal kanser gelişimi için yüksek risk oluşturduğu sonucuna varılmıştır (Wallin et al., 2002).

Harnekar ve arkadaşları, enfekte hücrelerde görülen Chlamydial değişiklikler ile CIN ilişkisini inceledikleri çalışmalarında, Chlamydia'ların ko-karsinojenik özellikte olduğunu ve CIN gelişiminde potansiyel bir etken olabileceğini vurgulamışlardır (Harnekar et al., 1985). Ayrıca literatürde *C. trachomatis*'in CIN gelişiminde HPV'nin kofaktörü olabileceğini bildiren yayınlar da bulunmaktadır (Hakama et al., 2000; Smith et al., 2002; Tamim et al., 2002).

Ness ve arkadaşları tarafından, *C. trachomatis* ile genital sistem kanserlerinden bir diğeri olan yumurtalık kanseri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, yumurtalık kanseri tanısı bulunan 117 hastanın Chlamydial antijenlere karşı yanıtları, serolojik olarak ELISA tekniği ile incelenmiş ve *C. trachomatis*'in D serotipi antijenlerine ve Chlamydial Hsp 60-1, Hsp 60-2 ve Hsp 60-3 moleküllerine karşı oldukça yüksek düzeyde IgG varlığı saptanmıştır. Bu veriler, kronik Chlamydial enfeksiyonların, yumurtalık kanseri gelişiminde bir risk faktörü olabileceğini düşündürmüştür (Ness et al., 2003).

2.12. Tanı Teknikleri

C. trachomatis'in tanısında kullanılan teknikler; sitolojik teknik, serolojik teknikler, Direkt Floresan Antikor (DFA) tekniği, moleküler teknikler olan PCR ve LCR teknikleri ve hücre kültürü teknikleri başlıkları altında incelenecektir.

2.12.1. Sitolojik teknik

Chlamydial enfeksiyonların tanısında kullanılan en eski teknik, örneklerin sitolojik olarak Giemsa boyama tekniğine göre boyanarak ışık mikroskopunda

incelenmesidir. Bu teknik trahom etkeninin izolasyonundan önce, enfekte epitel hücrelerinde inklüzyonları göstermek için uzun bir süre kullanılmış olup, genital sistem örneklerinin rutin incelenmesinde kullanılmaması önerilmektedir. Bu tekniğin trahom tanısı için bazı dezavantajları vardır. Bunlar Giemsa boyama tekniğine göre incelenecek örneklerin, tanının verilmesini kolaylaştırması açısından çok sayıda hücre içermesi gerekliliği ve örneğin bulunduğu bir lamın incelenmesinin oldukça zaman alıcı olmasıdır. Ayrıca bu teknik yüksek hassasiyete sahip olmadığı için günümüzde sadece yeni doğanın akut inklüzyon konjonktiviti tanısında uygulanması önerilmektedir (Schachter, 1997).

C. trachomatis'in saptanmasında kullanılan bir diğer sitolojik teknik, Papanicolaou (PAP) boyama tekniğine göre boyanan servikal örneklerin ışık mikroskopik olarak incelenmesidir. Papanicolaou boyama tekniği, *C. trachomatis* tanısının verilmesinde uygulanması kolay, hızlı ve ucuz bir teknik olarak kabul edilmektedir (Cavaliere et al., 1993). PAP tekniğinde, yaymalarda görülen metaplazik hücreler önem taşımaktadır. Metaplazik hücrelerin bulunuşu, örneklerde Chlamydial inklüzyon cisimcikleri aranması açısından yol gösterici olmaktadır. Dolayısıyla metaplazik hücreleri içeren yaymaların Chlamydial inklüzyon cisimcikleri yönünden daha dikkatli incelenmesi gerekmektedir.

Papanicolaou tekniğinin duyarlılık ve özgüllüğü ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda PAP örnekleri incelenen 125 hamile kadından 4'ünün (%3.2) *C. trachomatis* pozitif olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Papanicolaou boyama tekniğinin duyarlılığı %100, özgüllüğü ise %99 olarak saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda, düşük risk grubu olarak nitelendirilen hamile kadınlarda Papanicolaou boyama tekniğinin kullanılmasının uygun olduğu belirtilmiştir. Ancak bu tekniğin sağlıklı sonuç verebilmesi için yeterli endoservikal örneğin alınması ve yaymaların deneyimli sitologlar tarafından değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Panuco et al., 2000). PAP ile boyanmış yaymalar *C. trachomatis* tanısında genellikle çok özgül ve hassas sonuçlar vermemekle birlikte, bu tekniğin, daha ileri teknikler uygulanacak hastaların saptanmasında bir ön belirleyici özellik taşıdığı bildirilmiştir.

2.12.1.1. Papanicolaou simirlerinde *C. trachomatis* tanısı

Papanicolaou boyama yöntemine göre boyanmış yaymaların sitoplazma içi Chlamydial inklüzyon cisimcikleri varlığı açısından incelenmesi, tüm dünyada özellikle Amerika'da yaygın biçimde başvurulan bir tanı tekniğidir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ABD'de her yıl 45 milyondan fazla PAP simir uygulaması yapıldığı bildirilmiştir. *C. trachomatis* araştırılacak simirler %96'lık saf alkol veya saç spreyi ile tespit edilip Papanicolaou boyama prosedürüne göre boyanmaktadır. PAP simirlerinde servikal epitel hücrelerinin yanı sıra inflamasyon bulunan hücreler ve bu hücrelerde inflamasyona bağlı hücresel değişiklikler de belirlenebilmektedir (Gupta et al., 1979; Paler et al., 2000).

Paler ve arkadaşları, PAP simirlerinde gözlenen inflamasyonun *C. trachomatis* enfeksiyonları açısından uyarıcı bir özelliğinin olup olmadığını araştırdıkları çalışmalarında vajinal akıntı, pelvik ağrı, cinsel eş sayısının fazlalığı gibi öyküleri olan hasta grubu ile çalışmışlar ve bu özelliklerinden ötürü, bu grubu *C. trachomatis* bulunması açısından yüksek risk taşıyan populasyon olarak değerlendirmişlerdir. Bu hastalara ait PAP simirlerini incelemiş ve inflamasyon varlığının, *C. trachomatis* enfeksiyonunu düşündürebilecek bir ön belirleyici olabileceği sonucuna varmışlardır (Paler et al., 2000).

Papanicolaou ile boyanan simirlerde, Chlamydia ile enfekte hücrelerde intrasitoplazmik değişiklikler Gupta ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Chlamydia ile enfekte olan hücreler genellikle normalden biraz büyükçe, çok çekirdekli ve metaplazik görünümündedirler (Gupta et al., 1979; Giampaolo et al., 1983). Hücreler, genellikle sayıları 3 ile 6 arasında değişen hücre grupları şeklinde görülürler. Hücre çekirdekleri büyümüştür ve hiperkromatik boyanırlar. Kromatin, büyüme aktivitesinin gerçekleştiğinin veya tamir ya da iyileşme sürecinin başladığının bir göstergesi olacak şekilde çekirdek içinde dağılmış ve belirgin yapıdadır. Başlangıçta, Chlamydia partikülleri asidofilik, kok şeklinde yapılar halindedir. EC'nin konak hücre içine alınmasından sonra, Papanicolaou ile boyanmış simirlerde vakuolün içinde büyük intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri görülür. Bu inklüzyon cisimciğinin içinde, EC'den daha büyük ve daha bazofilik görünümde olan ve RC olarak adlandırılan yeni yapılar gözlenir. Bu aşamada ayrıca EC ile RC arasında bir ara form olan intermediyet cisimciklerin bulunduğu

bildirilmiştir. İçinde RC'lerin yer aldığı çok sayıda inklüzyonun konak hücrenin çekirdeği etrafında kümelendiği gözlenir. Bu intrasitoplazmik inklüzyonlar vakuolün merkezinde bazofilik bir yoğunlaşma meydana getirirler (Gupta et al., 1979; Giampaolo et al., 1983). Ayrıca PAP simirlerinde eozinofilik boyanan inklüzyon cisimciklerine de rastlandığı rapor edilmiştir (Gupta et al., 1979). Gupta (1979) ve Naib (1970) tarafından Chlamydial yaşam döngüsünde farklı büyüklüklerde görülen inklüzyon cisimcikleri, "elementer veya kokkoid cisimcik", "intermediyet cisimcik" ve "geç retiküler cisimcik" şeklinde tanımlanmıştır (Giampaolo et al., 1983; Geerling et al., 1985).

PAP simirlerinde *C. trachomatis*'in görünüm kriterlerinin saptanması, *C. trachomatis* ile çalışan pek çok araştırmacıya bu etken ile yaptıkları çalışmalarda ışık tutmuştur. Shiina, *C. trachomatis*'in farklı morfolojik görünümünü saptadığı çalışmada, PAP ile boyanmış 233 hücrenin 200'ünde (%85.8) Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin bulunduğunu saptamıştır. EC ve başlangıç cisimciği olarak adlandırılan RC'lerin birlikte bulunduğu bu inklüzyon cisimciklerine "nebular inklüzyon" adını vermiş ve servikal simirlerde *C. trachomatis* tanısı için nebular inklüzyonun görülmesinin gerekli olduğunu bildirmiştir. Nebular inklüzyon içinde EC ve RC'lerin bulunma oranlarının, yaşam döngüsünün farklı evrelerine göre farklılık gösterdiği belirtilmiştir (Shiina, 1985).

Borges ve arkadaşlarının *C. trachomatis*'in metaplazik ve displazik hücreler ile ilişkisini inceledikleri çalışmalarında *C. trachomatis*'in metaplazik hücreleri enfekte ettiği, ayrıca bu örneklerde displazik hücrelerin de bulunduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, Papanicolaou tekniğine göre boyanmış örnekler incelenmiş ve *C. trachomatis* pozitif olan 187 hastadan alınan 73 yayma değerlendirilmiştir. Bu yaymaların %72.6'sında metaplazik hücrelerin ve %16.4'ünde displazik hücrelerin bulunduğu saptanmıştır. Metaplazik hücre saptanan örneklerde, bu hücrelerin *C. trachomatis* ile enfekte olduğu görülmüştür (Borges et al., 1984).

2.12.2.Serolojik teknikler

C. trachomatis saptanmasında kullanılan serolojik tekniklerden birisi Kompleman fiksasyon (CF) testidir. Bu yöntem, hasta serumunda Chlamydia cinsine özgül ısıya dayanıklı LPS molekülüne karşı oluşturulan total antikorları saptamaya yöneliktir. Bu testin duyarlılığı, antikor yanıtının zayıf olduğu Chlamydial

enfeksiyonlarda düşüktür (Taylor-Robinson and Thomas, 1980). CF testi genellikle LGV ve pisittakozis tanısında kullanılmaktadır (Darougar, 1985).

Serolojik tekniklerden bir diğeri olan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) tekniğinde de kan örneklerinde *C. trachomatis* antijeninin veya buna karşı oluşturulan antikorların varlığı araştırılır. ELISA tekniği, literatürde Enzim Immunoassay (EIA) şeklinde de ifade edilmektedir. ELISA tekniğinin hassasiyeti, CF testine göre daha yüksektir. Bu tekniğin duyarlılığı ve özgüllüğü Direkt Floresan Antikor (DFA) tekniği ile benzerdir (Schachter, 1997). Ancak Chlamydial enfeksiyon açısından düşük risk taşıyan populasyonlarda ELISA tekniğinin DFA tekniğine göre daha iyi sonuçlar verdiği ve uygulanmasının, immünofloresan tekniklerin uygulanmasından daha kolay olduğu bildirilmiştir (Taylor-Robinson and Thomas, 1980; Gann et al., 1990).

2.12.3.Direkt floresan antikor (DFA) tekniği

Direkt floresan antikor (DFA) tekniği, Chlamydia dış zarında bulunan MOMP'nin türe özgül antikor bağlanma bölgelerine (epitop) bağlanan antikorlar ile *C. trachomatis*'i saptama esasına dayanır. Bu teknik ile enfekte bölgelerden dökülen epitel hücrelerindeki EC'ler tespit edilir. DFA tekniğinde preparatlarda tüm sahada elma yeşili renkte ışımaya veren en az 10 adet EC'nin görülmesi tanı için önemlidir (Forbes et al., 1986; Lipkin et al., 1986; Cavaliere et al., 1993; Inhorn et al., 2001). DFA tekniği, Chlamydial enfeksiyonun saptanmasında hücre kültürü tekniği kadar özgül olmamakla birlikte daha duyarlı bir testtir. Bu tekniğin, yüksek risk taşıyan populasyonlarda ve hücre kültürü tekniklerinin uygulanamayacağı durumlarda kullanıldığı bildirilmiştir (Schachter, 1997).

DFA tekniğinde, alınan endoservikal örneğin miktarı ve kalitesi önemlidir. Welsh ve arkadaşları DFA tekniği ve PCR tekniğinin doğru sonuç vermesinde örnek yeterliliğinin etkisini inceledikleri çalışmalarında, servikal örneklerde bir veya daha fazla kolumnar ya da metaplazik hücrelerin bulunmasını ya da her mikroskobik alanda PMNL görülmesini değerlendirme için yeterli kabul etmişlerdir. Bu araştırmacılar, DFA tekniğinde, çalışılan örnek miktarının, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniğine göre güvenilir sonuçların alınmasında daha önemli olduğunu bildirmişlerdir. (Welsh et al., 1997).

DFA tekniğinin en önemli dezavantajı, floresan mikroskobu gibi laboratuvar donanımları gerektirmesi ve uygulama ve sonuçlarının değerlendirilmesinde deneyimli ve kalifiye elemanlara gerek duyulmasıdır. DFA tekniğinin en önemli avantajı ise, 1 saat gibi kısa bir sürede sonuç vermesidir (Schachter, 1997; Harindra et al., 2003).

2.12.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve Ligaz zincir reaksiyonu (LCR) Teknikleri

Moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Ligaz Zincir Reaksiyonu (LCR) gibi DNA amplifikasyon tekniklerindeki ilerlemeyi de beraberinde getirmiştir. Bu teknikler ile çok az miktarlardaki örneklerden bile Chlamydial DNA çoğaltılabilmektedir. DNA amplifikasyon tekniklerinin %90'ın üzerinde duyarlılığa ve %100'lük bir özgüllüğe sahip oldukları bildirilmiştir (Welsh et al., 1997).

DNA amplifikasyon teknikleri, antijen saptama teknikleri olan EIA ve DFA tekniklerine göre daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip fakat daha pahalıdır (Schachter, 1997; Nelson and Helfand, 2001). DNA amplifikasyon tekniklerinin, hücre kültürü tekniğine göre daha duyarlı oldukları da rapor edilmiştir. Ayrıca hücre kültürü tekniği ile sonuçların alınması haftalar sürmekte ancak DNA amplifikasyon teknikleri ile birkaç saat gibi kısa bir sürede sonuç alınması mümkün olmaktadır (Schachter, 1997; Harindra et al., 2003; Schachter et al., 2003).

2.12.5. Hücre kültürü tekniği

C. trachomatis tanısında kullanılan in vitro hücre kültürü tekniği, özgül ve duyarlı olmakla birlikte pahalı, zaman alıcı ve uygulanmasında özel laboratuvar donanımlarına ihtiyaç duyulan bir tekniktir (Gupta et al., 1979; Lindner et al., 1985; Lipkin et al., 1986; Cavaliere et al., 1993). Bu nedenle rutin uygulamalarda hücre kültürü tekniğinin kullanılması tercih edilmemektedir (Handsfield et al., 1986; Watson et al., 2002).

C. trachomatis'in hücre kültüründe üretilmesinde, başta McCoy hücreleri olmak üzere, HeLa 229 ve BHK-21 hücre türleri kullanılmaktadır (Hodinka et al., 1988; Su et al., 1996; Serter, 1997; Fukuda et al., 2005). Tek tabaka halinde hazırlanmış olan hücrelere şüpheli örnekler inoküle edildikten sonra bu hücreler 35 °C'de 48-

72 saat inkübe edilmektedir. Bu hücreler daha sonra Giemsa veya iyot boyama tekniğine göre ya da floresan antikor tekniğine göre boyanmakta ve inklüzyonların varlığı açısından mikroskopik olarak incelenmektedirler (Schachter, 1997).

Hücre kültürü tekniği literatürde "altın standart" olarak nitelendirilmektedir (Taylor-Robinson and Thomas, 1991; Cavaliere et al., 1993; Guaschino and De Seta, 2000; Nelson and Helfand, 2001; Watson et al., 2002; Harindra et al., 2003; Schachter et al., 2003). Ancak hücre kültürü tekniği %100 özgüllüğe sahip olmakla birlikte duyarlılığı %70-80 civarındadır. Bu nedenle, günümüzde bu tekniğin altın standart olarak kabul edilmesinin uygun olmadığı düşüncesi yaygınlık kazanmaktadır (Handsfield et al., 1986; Taylor-Robinson and Thomas, 1991; Nelson and Helfand, 2001; Harindra et al., 2003).

Günümüzde *C. trachomatis* tanısında en sık kullanılan ve en duyarlı olan teknikler, moleküler biyoloji teknikleri olan PCR ve LCR teknikleridir. Duyarlılık açısından bu teknikleri hücre kültürü tekniği ile DFA ve ELISA teknikleri izlemektedir (Schachter, 1997).

2.13. Tedavisi

C. trachomatis tedavisinde tetrasiklin türevleri olan oksitetrasiklin ve doksisisilin ilk başvuru alan antibiyotiklerdir (Davis, 1998; Guaschino and De Seta, 2000). Chlamydial enfeksiyonların tedavisinde günde 2 kez alınmak üzere 7 günlük 100 mg doksisisilin veya tek doz halinde 1g azitromisin alınması önerilir (Sanders et al., 1986; Genç and Mardh, 1996; Davis, 1998; Nelson and Helfand, 2001; Cram et al., 2002; Chislett, 2003). Azitromisinin doksisisilin ile aynı etkinlikte olup, ondan iki kat daha pahalı olduğu belirtilmiştir (Davis, 1998). Oral kontraseptifler ile birlikte alındığında doksisisilin gibi antibiyotiklerin etkisinde azalma görülebileceği bildirilmiştir (Chislett, 2003). *C. trachomatis* enfeksiyonlarının iyileştirilmesi için uygulanabilecek başka bir tedavide ise günde 4 kez 500 mg'lık tetrasiklinin 7 gün veya günde 2 kez 50 mg'lık minosiklinin 10 gün süre ile alınması önerilmektedir (Faro, 1985; Sanders et al., 1986).

PIH görülen kadınlarda oksitetrasiklin veya doksisisilin tedavisine en az 2 hafta süre ile devam edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Buna ek olarak, metronidazol gibi *N. gonorrhoeae* ve diğer organizmalara etkili olan geniş spektrumlu bir antibiyotik

verilmesi, hastalıkların kontrol altına alınmasında kolaylık sağlaması açısından önem taşımaktadır (Davis, 1998).

C. trachomatis'in neden olduğu trahomun tedavisinde topikal olarak uygulanan tetrasiklin içeren pomadların günde 2 kez sürülerek 6 hafta süre ile kullanılması önerilmektedir (Mabey et al., 2003).

Gebelikte görülen *C. trachomatis* enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotiklerin eritromisin ve amoksisilin olduğu bildirilmiştir (Nelson and Helfand, 2001; Adimora, 2002). Bu ilaçların kullanım dozu ise 10 gün süre ile günde 4 kez 500 mg'lık eritromisin veya 7 günlük günde 3 kez alınmak üzere 500 mg'lık amoksisilin şeklindedir (Faro, 1985; McGregor and French, 1991; Jackson and Soper, 1997; Davis, 1998; Cram et al., 2002). Ancak doksisilin, gebelik sırasında görülen Chlamydial enfeksiyonların tedavisi için uygun olmadığı rapor edilmiştir (Chislett, 2003).

Chlamydial enfeksiyonlardan korunmada ve *C. trachomatis*'e bağlı mevcut hastalıkların iyileştirilmesinde yardımcı olması açısından, eğer enfeksiyon asemptomatik ise tedaviye bağlı kalınmasının önemi özellikle vurgulanmalıdır. Enfekte bireylerin cinsel eşleri de asemptomatik olsalar bile, ileride oluşabilecek enfeksiyon veya komplikasyonlara karşı takip edilmeli ve gerekirse tedavi edilmelidir. Her iki bireyin tedavisi tamamlanana dek cinsel ilişkide bulunulmaması gerektiği bildirilmelidir (Davis, 1998; Chislett, 2003). Bireyler Chlamydial enfeksiyonların uzun bir süre klinik belirti vermeden varlığını sürdürebileceği konusunda bilgilendirilmelidir (Chislett, 2003).

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na çeşitli jinekolojik şikayetlerle başvuran veya rutin kontrollere gelen ve gebe olmayan 200 hastayı kapsamaktadır.

3.1. Klinik Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi

Hastalardan sitolojik ve immünofloresan incelemeler için servikal örnekler alınmadan önce, hastanın yaşı, son adet tarihi, doğum yapıp yapmadığı, yaşayan çocuk sayısı, varsa düşüklerinin sayısı, hormon tedavisi alıp almadığı, adetlerinin düzenli olup olmadığı, jinekolojik bir ameliyat geçirip geçirmediği, kasık ağrısı, kaşıntı, akıntı ve idrar yaparken yanma gibi şikayetlere dair klinik bilgiler jinekolog tarafından sorulmuş ve bu bilgiler hasta dosyasına ve araştırma amacıyla başka bir dosyaya kaydedilmiştir. Ayrıca, serviksin dış görüntüsü, ektoserviks yüzeyinde herhangi bir hemorajik alanın olup olmadığı jinekolog tarafından dosya bilgilerine eklenmiştir. Araştırma kapsamındaki tüm klinik bilgiler bilgisayara aktarılmış ve verilerin istatistiksel değerlendirmeleri yapılmıştır.

3.2. Sitolojik İnceleme İçin Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

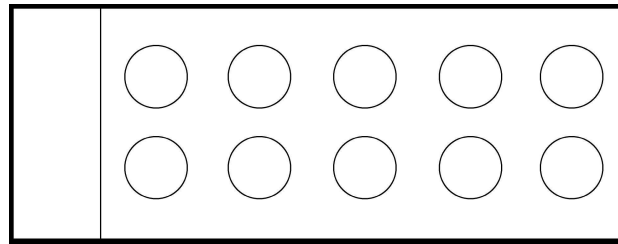
Hastalara ait servikal örnekler, jinekolog tarafından spekülüm takıldıktan sonra servikal fırça (cyto brush) yardımı ile alınmış ve daha önceden temizlenmiş lamlara tek yönlü olarak yayılmıştır. Yayma işlemi uygulanırken, örnek yayılmış alana geri dönüp ikinci kez yayma yapılmamasına dikkat edilmiştir. Sitolojik inceleme için her hastadan toplam iki servikal yayma hazırlanmıştır. Hazırlanan yaymalar havada kurutulmadan içinde saf alkol bulunan şalelere konularak tespit edilmiş ve rutin Papanicolaou boyama tekniğine göre boyanmıştır (Papanicolaou, 1963).

Boyanan yaymalar entellan kullanılarak lamel ile kapatılmış ve mikroskopik inceleme sırasında her preparattaki lamel alanı, incelenen alanın 1/4' ü tekrar görülecek şekilde titizlikle ve dikkatle Chlamydia'ya ait inklüzyon cisimciklerinin varlığı açısından taranmıştır. Mikroskopik incelemede Prior marka binoküler mikroskop kullanılmış ve ilk tarama x10'luk objektif ile yapılmıştır. Daha detaylı incelemede ise x40'luk objektif ve immersiyon objektifi (x100) kullanılmıştır. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri açısından şüpheli alanlar, mikroskop altında

lamel üzerine çini mürekkebi ile nokta konularak işaretlenmiştir. Daha sonra Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanan yaymalarda, x100'lük objektifte Leica DFC 320 marka kamera ataçmanlı Leica DM 4000B marka dijital mikroskop kullanılarak işaretli alanların fotoğrafları çekilip kaydedilmiştir.

3.3. DFA Tekniği için Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

İmmünofloresan inceleme için, her hastadan ucu pamuk sarılı steril eküvyon ile eküvyon kendi eksenini etrafında döndürülerek endoservikal kanaldan ve ektoserviksten örnek alınmıştır. Alınan örnekler, immünofloresan inceleme için özel olarak hazırlanmış, üzerinde her bir hasta örneği için 0.6 cm çapında on tane daire bulunan özel bir lam üzerine her bir hasta örneği bir daireye gelecek şekilde yayılmıştır (Şekil 3.1). Örnekler eküvyondan lama yayılırken, eküvyon döndürülerek yayma işlemi gerçekleştirilmiş ve eküvyonun tamamında bulunan örneğin homojen bir şekilde lama aktarılmasına dikkat edilmiştir. Havada kurutulduktan sonra bir damlalık yardımıyla örneklerin üzerine 1-2 damla saf metil alkol damlatılarak örnekler lama tespit edilmiştir. Tespit işleminden sonra immünofloresan incelemeye kadar geçecek olan sürede örnekler +4 °C'lik buzdolabında saklanmıştır. Daha uzun süreli saklama işlemlerinde -20 °C'lik derin dondurucu kullanılmıştır.



Şekil 3.1. İmmünofloresan incelemede kullanılan ve her bir hastanın örneğinin yayılması için üzerinde on adet daire bulunan lam örneği.

Lam üzerine tespit edilmiş her bir hasta örneğinin üzerine "Fluorotect Chlamydia (Omega Diagnostics UK.)" kit içeriğinde bulunan floresan izotiyosiyanat (FITC) işaretli monoklonal antikor solüsyonu damlatılmıştır. Kullanılan FITC işaretli bu monoklonal antikor, *C. trachomatis*'in tüm serotiplerinde ortak olan MOMP'ye özgüdür ve antikor, özgül olarak bu proteine bağlanmaktadır.

3.3.1. İmmünofloresan antikor tekniğinin uygulanış şekli

1. Her hasta örneği için ayrılan tüm alanı kaplayacak şekilde 25 µl *C. trachomatis*'e özgül floresan işaretli monoklonal antikor solüsyonu damlatıldı ve nemli ortamda, 37 °C'lik etüvde 30 dakika bekletildi.
 2. İnkübasyondan sonra her bir alan üzerindeki solüsyon Pasteur pipeti yardımıyla PBS ile akıtıldı ve lamalar, içinde Phosphate Buffered Saline (PBS) yıkama tamponu bulunan şalelere konularak 10 dk yıkama işlemi yapıldı.
 3. Şalelerden çıkarılan örneklerin çevresindeki fazla PBS kurutma kağıdı ile silindi.
 4. Lam üzerindeki her bir alana gliserol damlatılarak üzerleri lamel ile kapatıldı.
 5. İmmünofloresan antikor tekniğine göre hazırlanan örnekler Olympus BX 51 marka floresan mikroskopta x20'lik ve x40'lık objektiflerle incelendi. Örneklerde toplu iğne başı büyüklüğünde parlak, yuvarlak, elma yeşili renkte EC'lerin görülmesiyle, örnek *C. trachomatis* açısından pozitif olarak değerlendirildi. Değerlendirmede, tüm mikroskop alanında en az 10 adet EC bulunması esas alındı. *C. trachomatis* antijen pozitifliği saptanan alanlar belirlendi ve Leica DC 500 marka floresan ataçmanlı dijital mikroskopta bu alanların fotoğrafları çekildi. Chlamydial elementer cisimciklere göre düzensiz şekilli, farklı büyüklükte ve beyaz, kırmızı ya da sarı floresan ışımaya veren cisimcikler, özgül olmayan ışımalar olarak değerlendirildi.
- Her çalışmada üretici firma tarafından sağlanan pozitif ve negatif kontrol slaytları kullanıldı.

3.4. pH Ölçümü

Çalışma kapsamında yer alan hastalardan servikal fırça ile alınan örnekler, pH indikatör kağıdına (Merck) sürülerek renk değişimi gözlenmiştir. 1-14 arası değerlendirme skalasına sahip olan pH indikatör kağıdında, renk değişimine karşılık gelen pH değeri bulunarak verilere kaydedilmiştir.

3.5. İstatistiksel Analiz

Araştırma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizi, Ki-kare (Chi-Square) ve Fisher Kesinlik (Fisher's Exact) testleri kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar

Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 11.5 paket programında değerlendirilmiştir. Anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

4. SONUÇLAR

Çalışma kapsamına alınan 200 hastaya ait servikal örnek sitolojik ve immünofloresan antikor teknikleri ile Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin varlığı açısından incelenmiş ve her iki tekniğin uygulanması sonucu elde edilen verilerin ayrı ayrı istatistiksel değerlendirmeleri yapılmıştır. Ayrıca hastaların her birinden alınan servikal sıvı örneğinin pH değeri ölçülerek kaydedilmiştir.

4.1. Servikal Örneklerin Sitolojik Teknikle İncelenmesi ve İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi

Hastalardan alınan servikal örneklerin sitolojik olarak incelenmesinde servikal yaymalarda *C. trachomatis* varlığına ait hücrenel değişiklikler dikkate alınmıştır. Metaplazik hücrelerin ve sayıları az olmakla birlikte endoservikal hücrelerin sitoplazmasında *C. trachomatis*'e ait EC'lerin ve RC'lerin oluşturduğu eozinofilik ve bazofilik boyanmış hücre içi yuvarlak şekilli inklüzyon cisimciklerinin görülmesiyle, bu örnekler *C. trachomatis* açısından şüpheli görülmüş olup [Ct (+)] olarak nitelendirilmiştir. Bu şüpheli olguların pozitif veya negatif olduğu immünofloresan antikor tekniği ile doğrulanmıştır. Metaplazik hücrelerde, küçük ve hücreye henüz girmekte olan inklüzyonlar EC olarak değerlendirilmiştir. Metaplazik hücre içinde çekirdeğe yakın bulunan ve EC'den daha büyük olan inklüzyonlar RC'lere ait inklüzyon cisimcikleri olarak nitelendirilmiştir.

Çalışmamızda Chlamydial inklüzyon cisimciklerini gördüğümüz yaymalarda çok bol metaplazik hücrelere rastlanmıştır (Şekil 4.1-Şekil 4.8). Araştırma kapsamındaki 200 hastanın 36'sında (%18) metaplazik hücreler görülmüştür. Metaplazik hücrelerin saptandığı 36 yaymanın 15'inde (%78.9) bu hücrelerde Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanmış ve *C. trachomatis* varlığı ile metaplazik hücrelerin bulunması arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). Metaplazik hücrelerin görülmediği sadece 4 (%21.1) yaymada Chlamydial inklüzyon cisimcikleri tespit edilmiştir. Şekil 4.1'de, metaplazik hücreye girmekte olan Chlamydial EC görülmektedir. EC'nin hücre zarı ile etkileşimine bakıldığında endositotik aktivitenin gerçekleştiği, ışık mikroskopik olarak gözlenebilmektedir. Bazı metaplazik hücrelerde ise oldukça büyük inklüzyon cisimciklerine rastlanmıştır (Şekil 4.2). Ayrıca inklüzyon cisimciklerinin bazılarının metaplazik hücre çekirdeğinin kenarında yer aldığı (Şekil 4.3 ve Şekil

4.4) hatta bazılarının çekirdeği iterek onun kavis oluşturmasına neden olduğu görülmüştür (şekil 4.3). Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin rengine dikkat edildiğinde bir kısmının bazofilik (şekil 4.1, şekil 4.2, şekil 4.4, şekil 4.5 ve şekil 4.6), bir kısmının ise eozinofilik (şekil 4.3) renkte olduğu dikkatimizi çekmiştir.

Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin saptandığı yaymaların bazı alanlarında metaplazik hücre çekirdeklerinin normalden daha büyük ve hiperkromatik olduğu, çekirdekçiklerinin hem büyüklüklerinde hem de sayılarında artış olduğu gözlenmiştir (şekil 4.1 ve şekil 4.7). Hatta bazı hücre çekirdeklerinin zarlarında da düzensizlik olduğu görülmüştür (şekil 4.1). şekil 4.3'te ise metaplazik hücre çekirdeğinin dejenere olduğu gözlenmiştir.

Metaplazik hücreler sitoplazmik özellikleri bakımından incelendiğinde, bazılarının oldukça ince sitoplazmik uzantılar içerdiği ve böyle hücrelerin bazılarının sitoplazmik uzantılarında bile inklüzyon cisimciklerinin bulunduğu görülmüştür (şekil 4.8). Ayrıca şekil 4.9'da Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanmış olan bir hasta örneğinde, sahip olduğu uzun bir sitoplazmik uzantı ile sitoplazmik polimorfizm gösteren bir epitel hücresi görülmektedir.

Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin varlığı açısından pozitif olduğunu düşündüğümüz 34 yaşındaki bir hastanın yaymasında ise ileri derecede displazik değişiklikler gösteren hücre çekirdeklerine rastlanmıştır (şekil 4.10-şekil 4.13). şekil 4.10 ve şekil 4.12'de hücre çekirdeğinin sitoplazmanın büyük bir kısmını kaplamış olduğu ve çekirdek zarında girintili çıkıntılı düzensizlikler bulunduğu dikkati çekmiştir.

Chlamydial inklüzyon cisimcikleri içeren yaymalarda görülen bir diğer önemli sitoplazmik değişiklik, çekirdek etrafındaki sitoplazmanın tamamen dejenere olması ve çekirdek etrafının geniş bir boşluk şeklinde görülmesidir (şekil 4.14). Koilostotik hücreler adı verilen bu tip hücreler sadece 2 hasta yaymasında tespit edilmiştir.

Chlamydial inklüzyon cisimcikleri içeren yaymalar diğer hücreler açısından değerlendirildiğinde, bu yaymalarda PMNL'nin çok bol bulunduğu dikkatimizi çekmiştir. PMNL'ler Chlamydial inklüzyon cisimcikleri bulunan 19 servikal yaymanın 17'sinde (%89.5) tespit edilmiştir. şekil 4.1, şekil 4.4, şekil 4.5 ve şekil

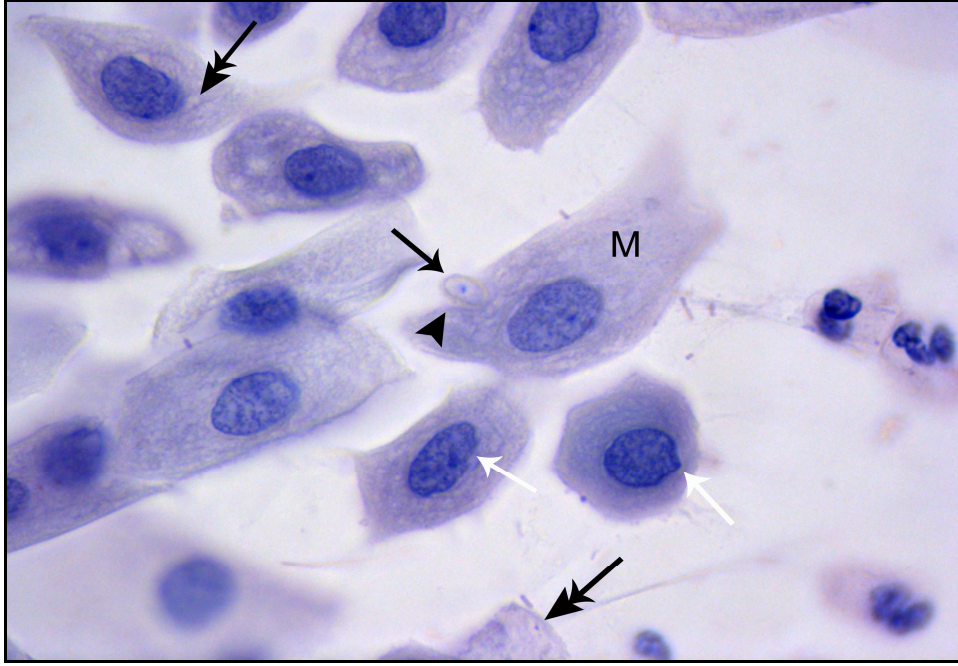
4.6'da PMNL'lerin, enfekte hücrelerin çevresinde bulunduğu gözlenirken, Şekil 4.6'da ek olarak PMNL'nin adeta zara bitişik olarak bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca makrofajlar ve eozinofil lökositlere de rastlanmıştır. Makrofajlar 19 yaymanın sadece 1'inde (%5.5) (Şekil 4.15) ve eozinofil lökositler ise 19 yaymanın 4'ünde (%21.1) (Şekil 4.16) görülmüştür. Bu 19 yaymanın 8'inde (%42.1) laktobasiller ve 6'sında (%31.6) ise kokobasiller görülmüştür.

Chlamydial inklüzyon cisimcileri tespit edilen 19 servikal yayma, enfeksiyon etkenleri açısından incelendiğinde sadece 1 hastada mantar hif ve blastosporlarına rastlanmış olup (Şekil 4.17) başka bir enfeksiyon etkenine rastlanmamıştır. Inklüzyon cisimciği saptanan hastalarla, inklüzyon cisimciği saptanmamış olan kontrol grubu hastalarda görülen hücresel değişikliklerin karşılaştırmalı istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

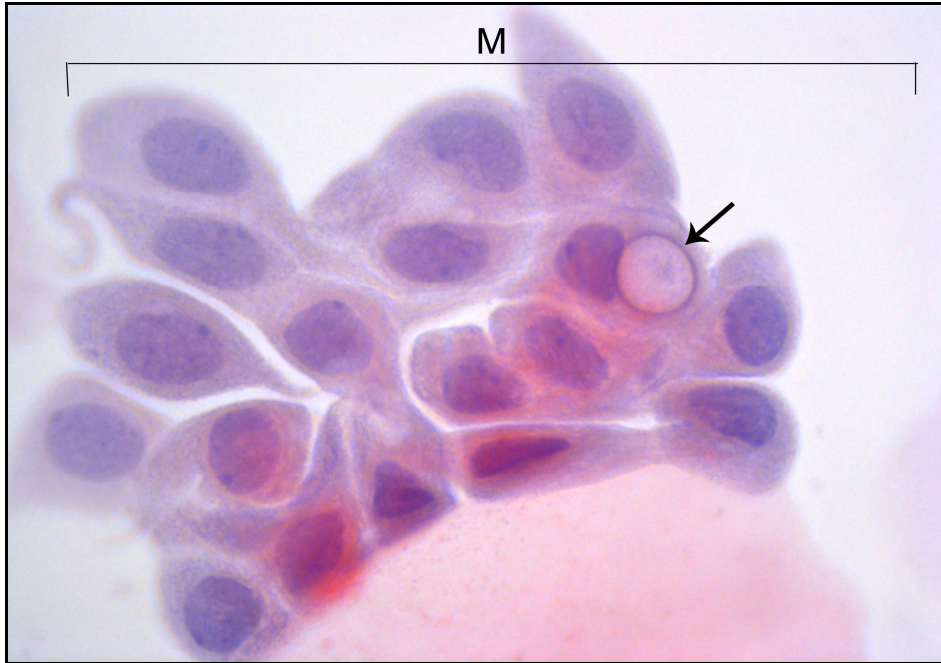
Çizelge 4.1. Çalışılan hastaların (n=200) sitolojik bulgularına ait istatistiksel veriler

Sitolojik Bulgular	Ct (+) hastalar (n= 19)	Ct (-) hastalar (n= 181)
Metaplazi		
*p<0.05		
VAR	15 (%78.9)	21 (%11.6)
YOK	4 (%21.1)	160 (%88.4)
Endoservikal hücre		
p>0.05		
VAR	14 (%73.7)	116 (%64.1)
YOK	5 (%26.7)	65 (%35.9)
Koilostotik Hücre		
p>0.05		
VAR	2 (%10.5)	9 (%5.0)
YOK	17 (89.5)	172 (%95.0)
PMNL		
p>0.05		
VAR	17 (%89.5)	141 (%77.9)
YOK	2 (%10.5)	40 (%22.1)
Makrofaj		
p>0.05		
VAR	1 (%5.3)	12 (%6.6)
YOK	18 (%94.7)	169 (%93.4)
Eozinofil Lökosit		
p>0.05		
VAR	4 (%21.1)	32 (%17.7)
YOK	15 (%78.9)	149 (%82.3)
Laktobasil		
p>0.05		
VAR	8 (%42.1)	75 (%41.4)
YOK	11 (%57.9)	106 (%58.6)
Kokobasil		
p>0.05		
VAR	6 (%31.6)	38 (%21.0)
YOK	13 (%68.4)	143 (%79.0)

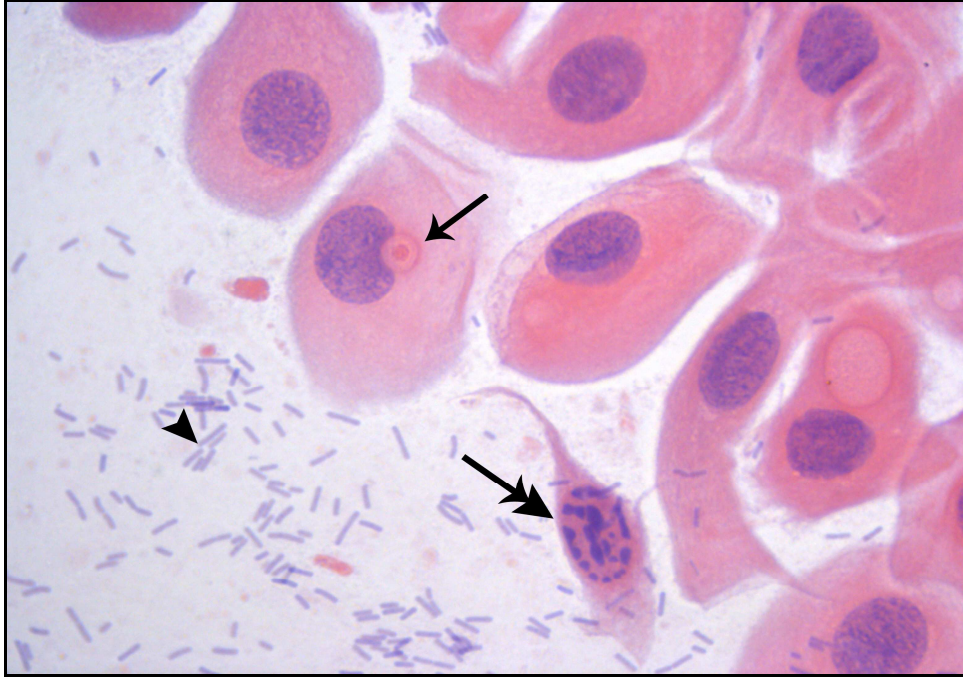
*İstatistiksel olarak anlamlı bulunan sonuçlar.



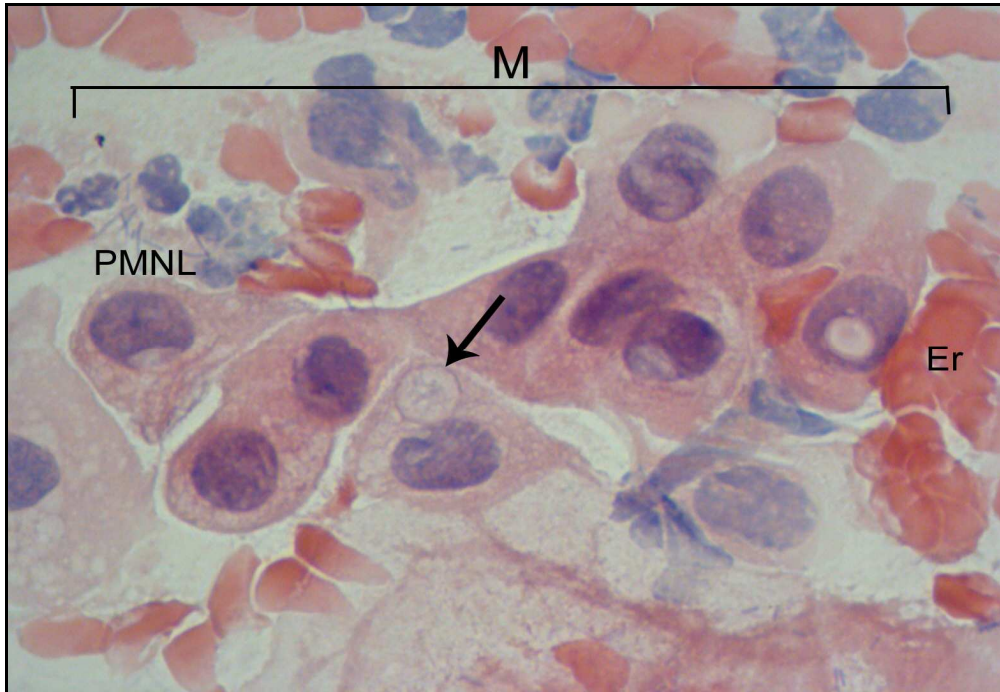
Şekil 4.1. Metaplazik hücreyi (M) enfekte etmek üzere hücrenin zarında içeri doğru çöküntü oluşturarak (ok başı) endositotik aktivite ile hücre içine girmekte olan bir elementer cisimcik EC (ok) görülmektedir. Diğer metaplazik hücrelerde de sitoplazma içi inklüzyon cisimcikleri (çift ok) görülmektedir. Ayrıca metaplazik hücrelerin çekirdeklerinin büyük olduğu ve çekirdek zarında hafif düzensizlikler (beyaz ok) bulunduğu dikkati çekmektedir (Papanicolaou x1000).



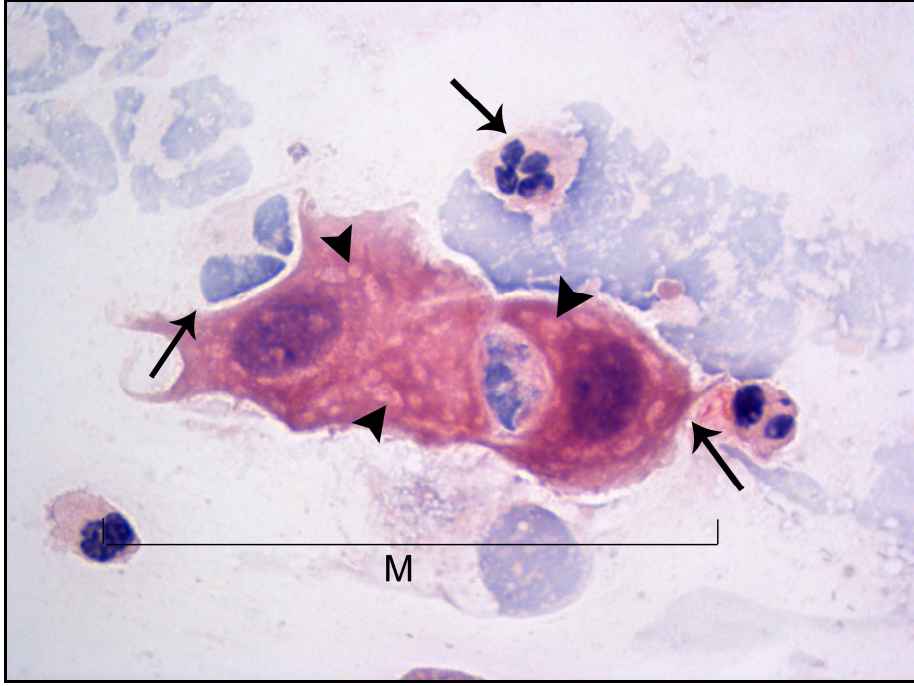
Şekil 4.2. Metaplazik hücre grubunda (M) çekirdeğin yanında yer alan *C. trachomatis*'e ait oldukça büyük bir inklüzyon cisimciği (ok) görülmektedir. (Papanicolaou x1000).



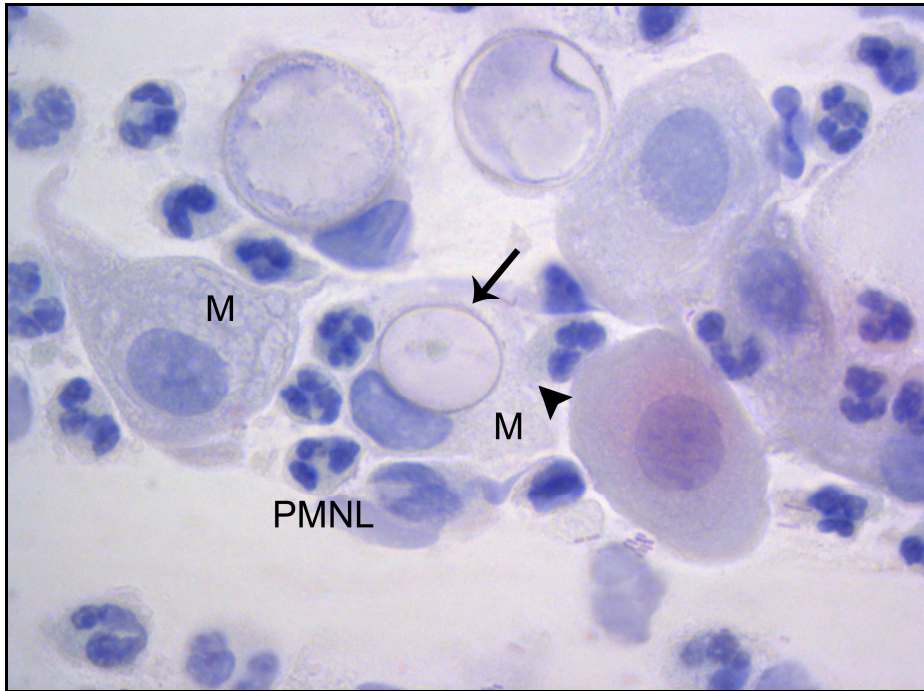
Şekil 4.3. Metaplazik hücre içinde, hücre çekirdeğini iterek çekirdeğin kavis almasına neden olmuş ve çekirdeği hücre zarına yaklaştırmış olan bir inklüzyon cisimciği (ok) görülmektedir. Ayrıca çekirdek dejenerasyonu (çift ok) görülen bir metaplazik hücre ve ortamda laktobasiller (ok başı) gözlenmektedir. (Papanicolaou x1000).



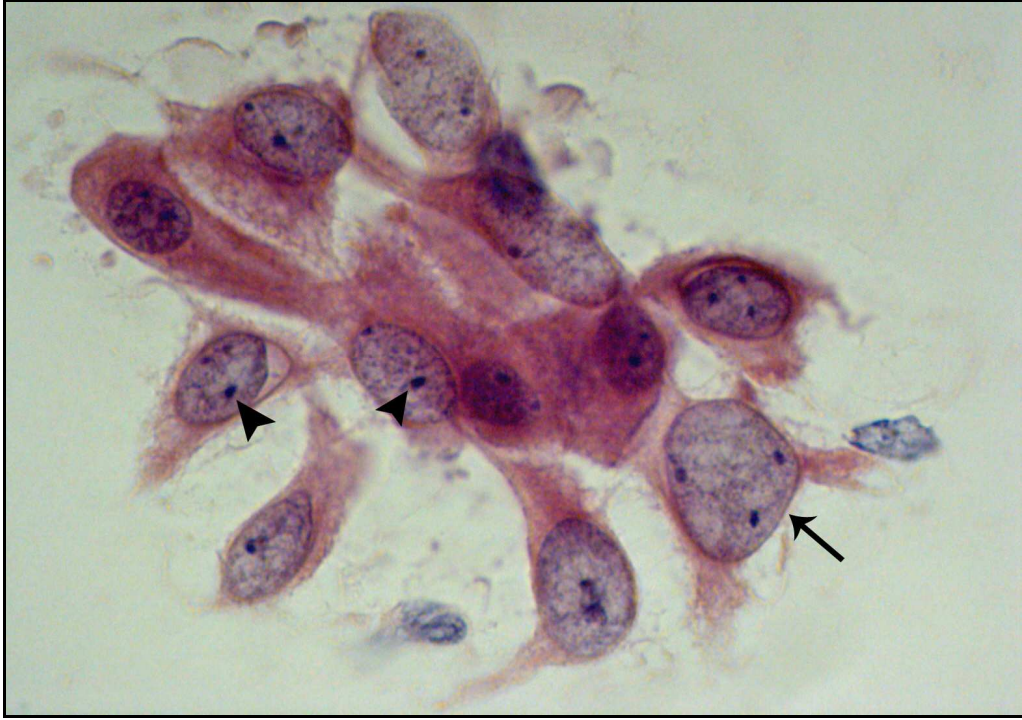
Şekil 4.4. Metaplazik hücre grubunda (M) bazofilik görünümlü bir inklüzyon cisimciği (ok). Ayrıca ortamda eritrositler (Er) ve metaplazik hücrelerin etrafında polimorfonükleer lökositler (PMNL) görülmektedir. (Papanicolaou x1000)



Şekil 4.5. Sitoplazmik uzantılar yapmış iki metaplazik hücrenin (M) içinde irili ufaklı çok sayıda inklüzyon cisimcikleri (ok başı) ve metaplazik hücrelerin çevresinde polimorfonükleer lökositler (ok) görülmektedir (Papanicolaou x1000).



Şekil 4.6. Metaplazik hücre (M) içinde oldukça büyük bir Chlamydial inklüzyon cisimciği (ok) görülmektedir. Hücre çekirdeğinin inklüzyon cisimciği tarafından kenara itildiği, çekirdeğin inklüzyona bakan yüzünde yassılaşıma meydana geldiği ve çekirdeğin şeklinin uzadığı görülmektedir. Ayrıca polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) metaplazik hücre etrafında dizilim gösterdiği ve bazılarının zara adeta yapıştıkları (ok başı) dikkati çekmektedir. (Papanicolaou x1000).



Şekil 4.7. Normalden biraz iri çekirdekleri (ok), belirgin çekirdekçikleri (ok başı), uzantılar yapmış sitoplazmaları ve hafif hiperkromatik görünümleri ile metaplazik bir hücre grubu görülmektedir (Papanicolaou x1000).



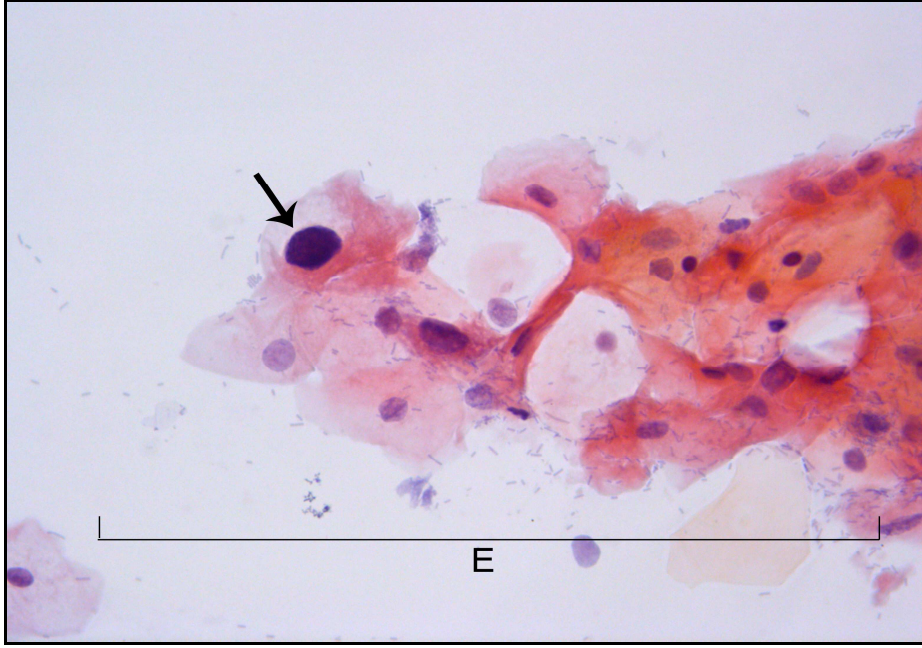
Şekil 4.8. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanmış bir yaymada çekirdekleri nispeten iri, bazılarında oldukça ince sitoplazmik uzantılar (ok) bulunan metaplazik hücre grubu (M) görülmektedir. Sitoplazmik uzantıların bazılarının inklüzyon cisimcikleri içerdiği (ok başı) dikkati çekmektedir (Papanicolaou x1000).



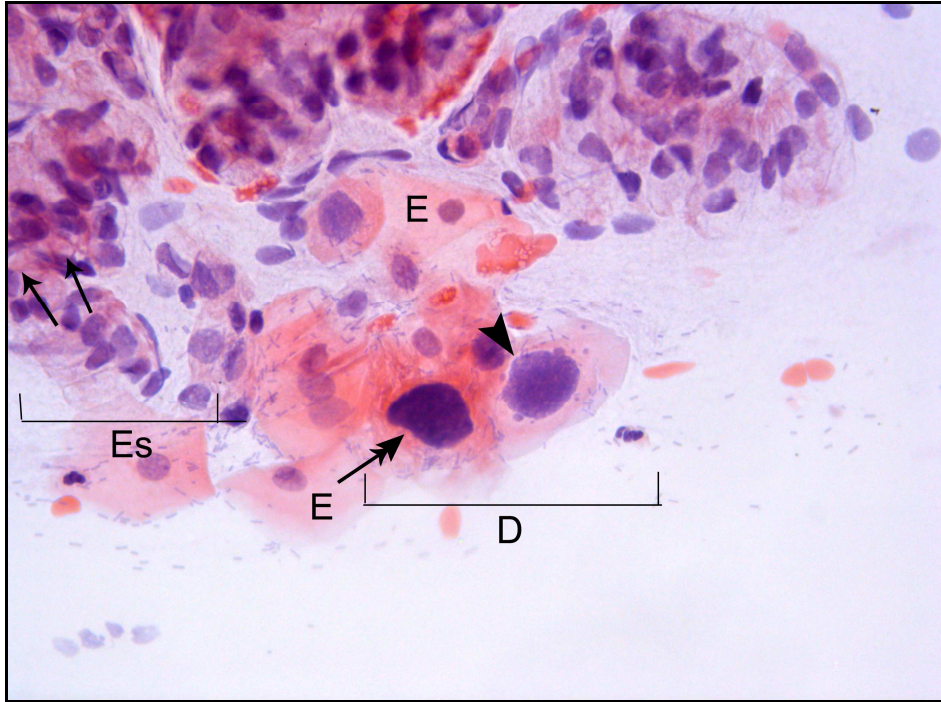
Şekil 4.9. Uzun bir sitoplazmik uzantı (ok) içeren yelpaze şeklinde bir epitel hücresi (E) ile çekirdeği eksentrik konumda olan bir başka epitel hücresi (E) görülmektedir (Papanicolaou x1000).



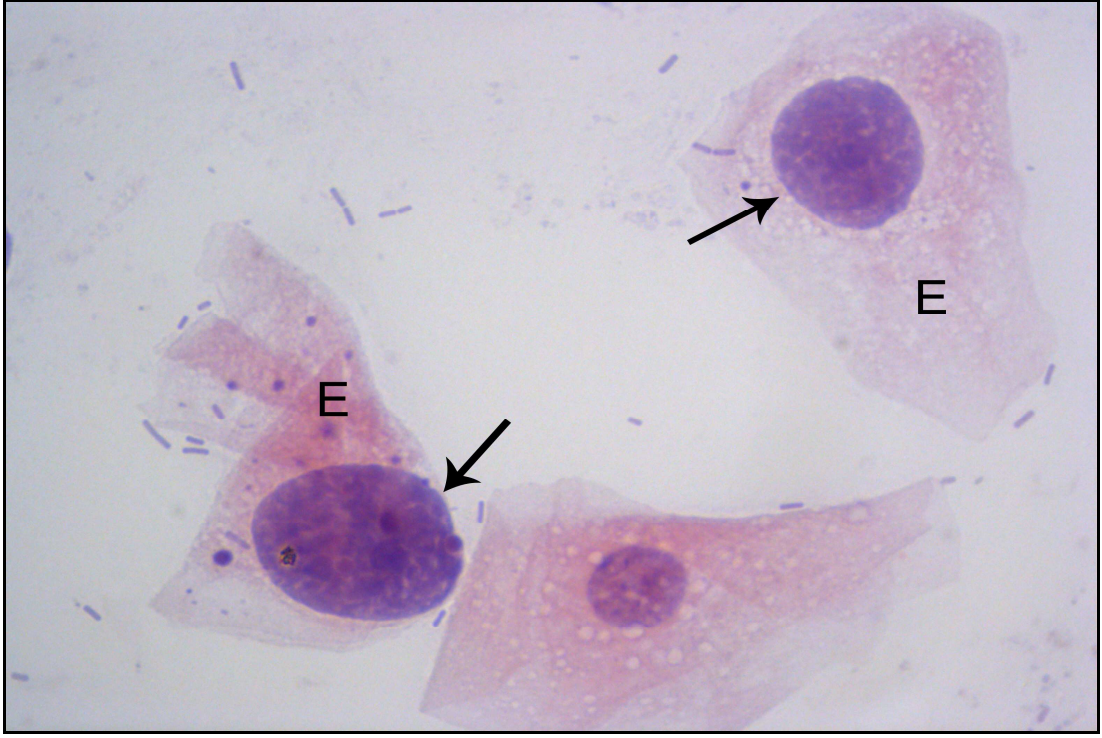
Şekil 4.10. İleri derecede displazik değişiklikler saptanan 34 yaşındaki bir hastanın servikal yayma örneği görülmektedir. Çekirdeğin ileri derecede büyümüş olması, çok koyu boyanması ve çekirdek zarının düzensiz oluşu (ok) dikkati çekmektedir (Papanicolaou x1000).



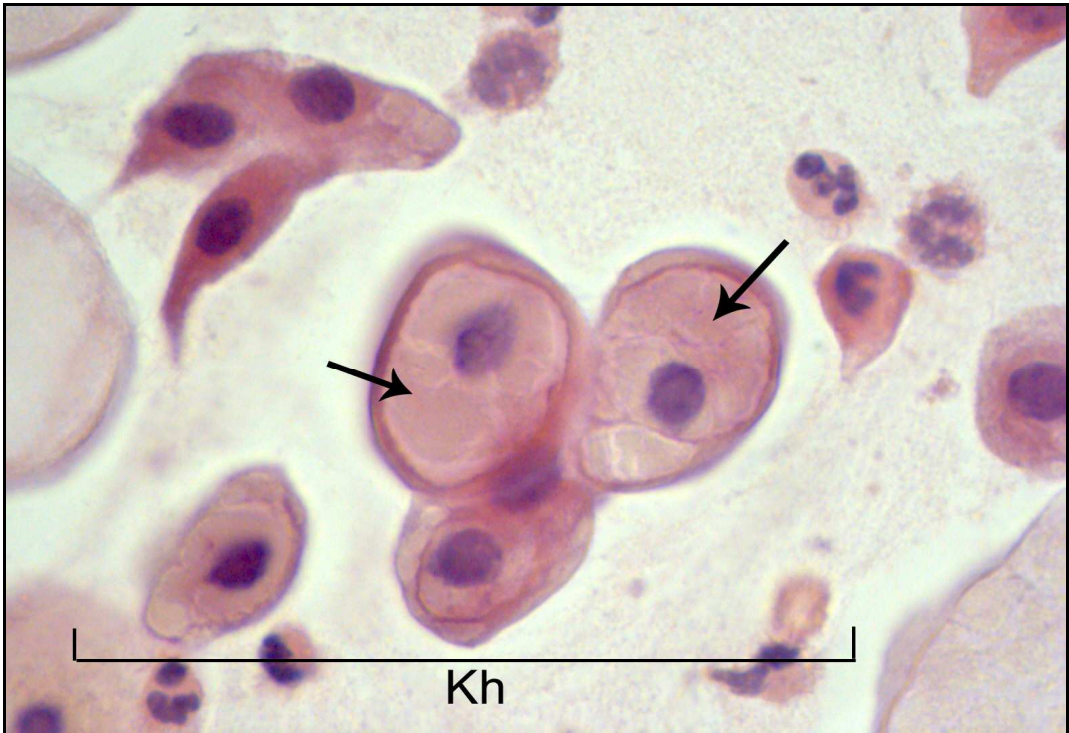
Şekil 4.11. Chlamydial inklüzyon cisimciği içeren bir hastaya ait servikal yayma örneğinde, normal görünümlü epitel hücre grubu (E) ve normal bir sitoplazma içinde, hiperkromatik boyanmış, iri bir çekirdeğe sahip displazik değişiklikler gösteren bir hücre (ok) görülmektedir (Papanicolaou x400).



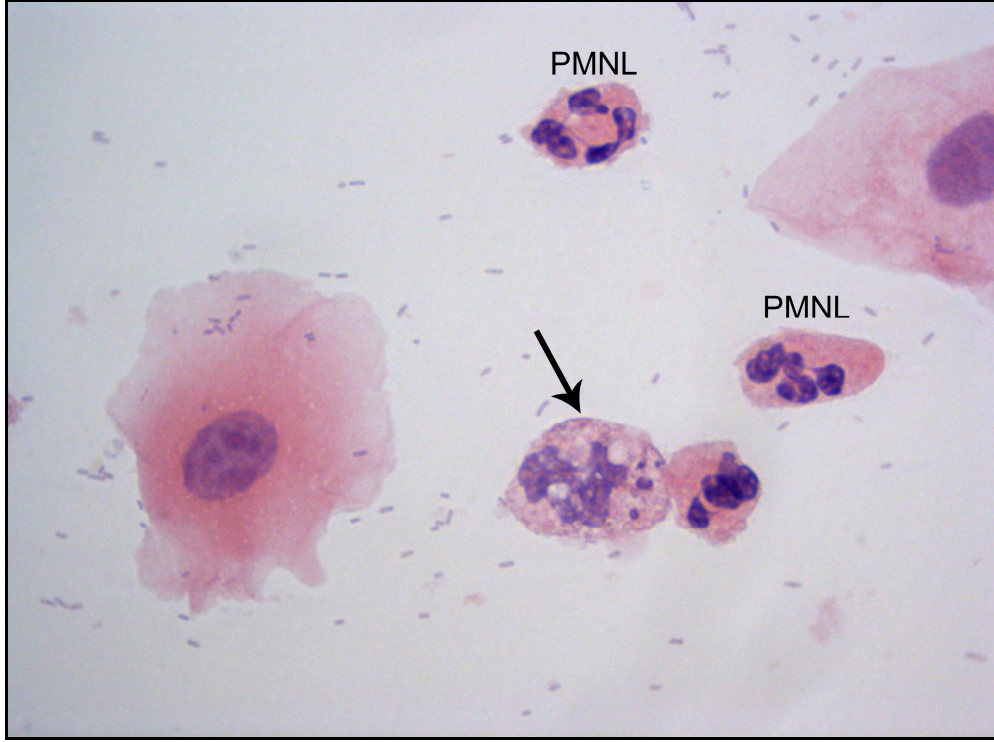
Şekil 4.12. Benign endoservikal hücre grupları (Es) ve bazı hücrelerin sitoplazmalarında Chlamydial inklüzyon cisimcikleri (ok) görülmektedir. Ayrıca normal epitel hücreleri (E) ile birlikte iki displazik hücre (D) görülmektedir. Displazik hücrelerin iri ve hiperkromatik boyanmış çekirdekleri dikkati çekmektedir. Her iki hücrenin çekirdek zarlarında içeri ve dışarı doğru girinti (çift ok) ve çıkıntı (ok başı) şeklindeki zar düzensizlikleri gözlenmektedir (Papanicolaou x400).



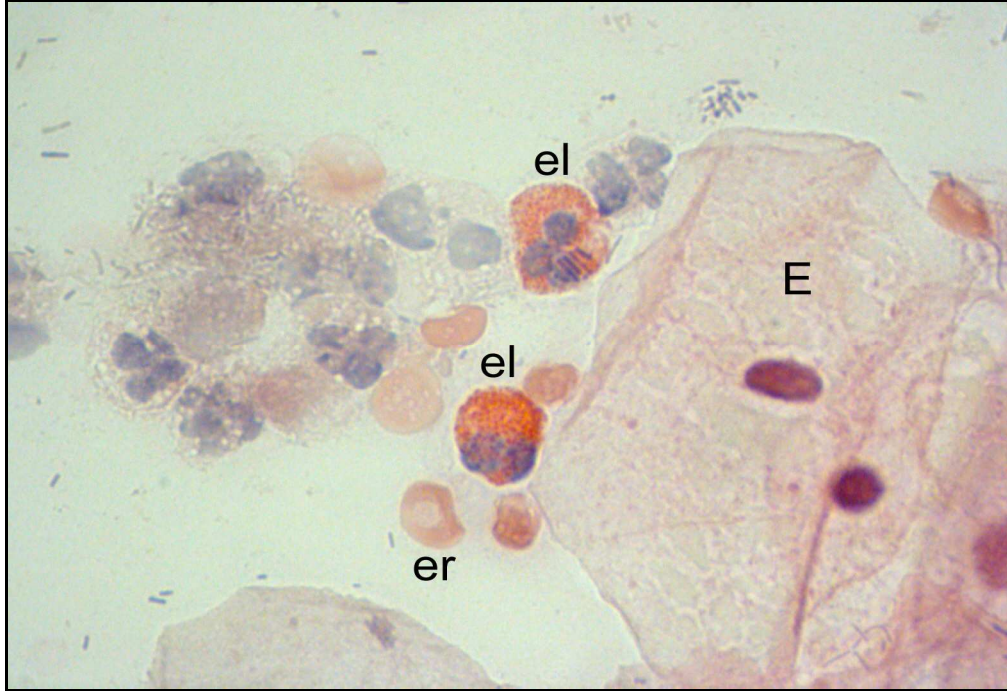
Şekil 4.13. Çekirdekleri oldukça irileşmiş ve hafif hiperkromatik boyanmış (ok), displazik özellikler taşıyan epitel hücreleri (E) görülmektedir (Papanicolaou x1000).



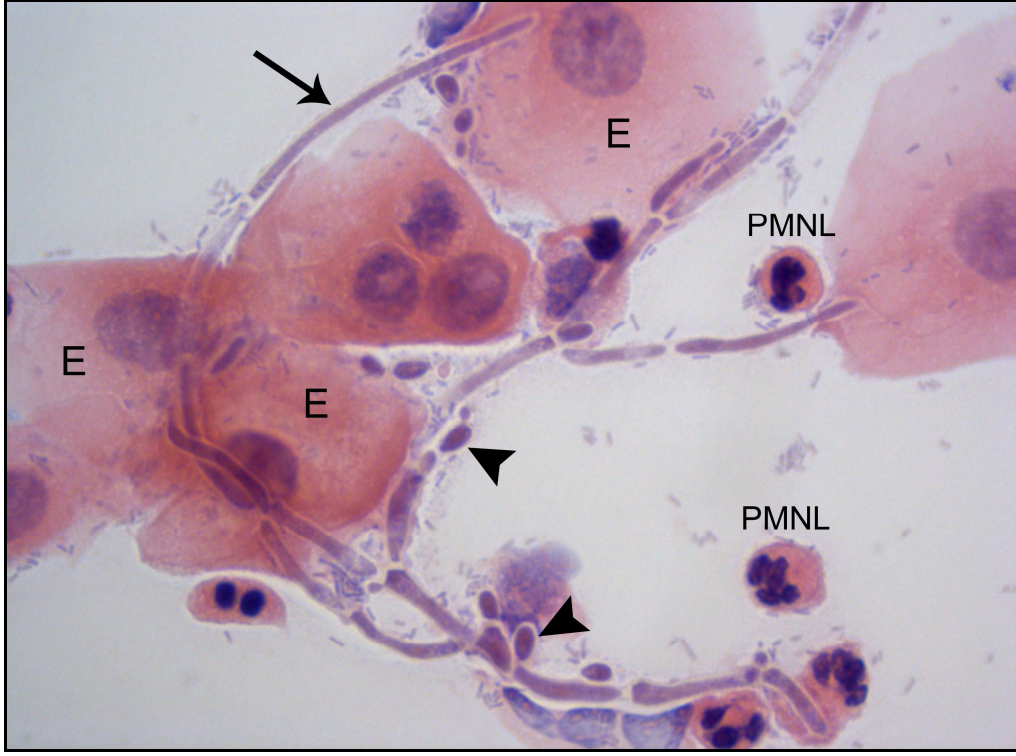
Şekil 4.14. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanan hasta örneğinde çekirdek etrafında geniş boşluk (ok) içeren koilostotik epitel hücreleri (Kh) görülmektedir (Papanicolaou x1000).



Şekil 4.15. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri içeren bir hasta yaymasında, köpüklü sitoplazması içinde sindirilmiş yabancı cisimler bulunan bir makrofaj (ok) ile polimorfonükleer lökositler (PMNL) görülmektedir (Papanicolaou x1000).



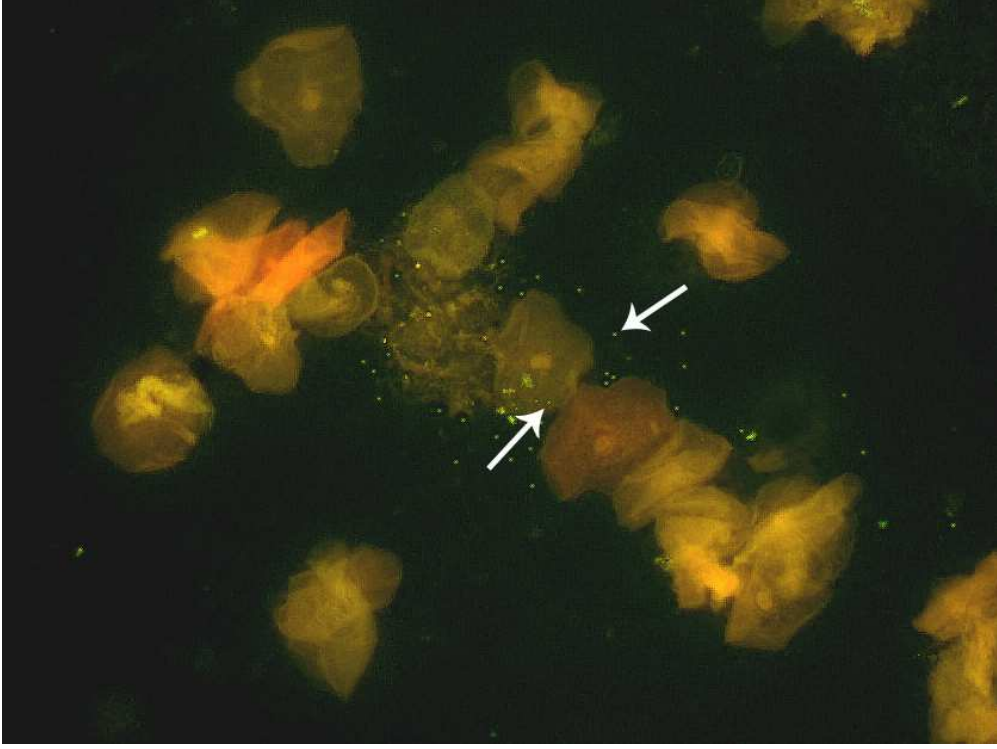
Şekil 4.16. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanmış olan 29 yaşındaki bir hastanın servikal örneğinde epitel hücrenin (E) yanında iki adet eozinofil lökosit (el) görülmektedir. Eozinofil lökositlerin her ikisinin de çekirdekleri iki loblu olup, sitoplazmalarında pembe eozinofilik granüllerin bolluğu dikkati çekmektedir (Papanicolaou x1000).



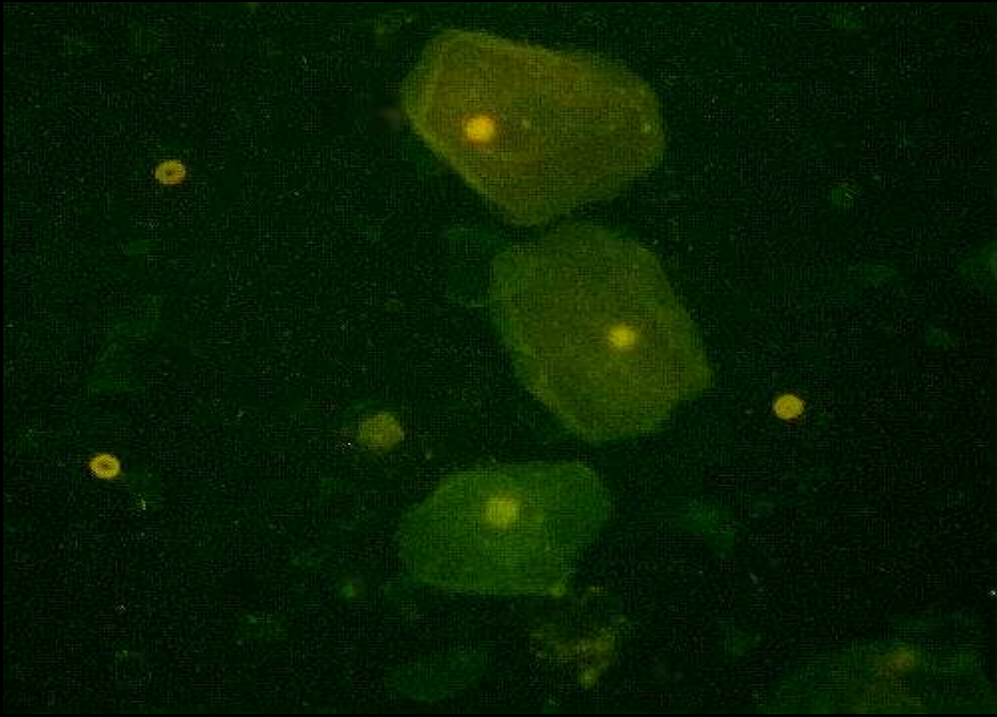
Şekil 4.17. Chlamydial inklüzyon cisimcikleri içeren bir hasta örneğinde epitel (E) hücrelerinin üzerinde ve aralarında kıvrımlar yapmış mantar hif (ok) ve blastosporları (ok başı) ile hücre aralarında birkaç polimorfonükleer lökosit (PMNL) görülmektedir (Papanicolaou x1000).

4.2. Servikal Örneklerin Direkt Floresan Antikor (DFA) Tekniği ile İncelenmesi ve İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi

Direkt Floresan Antikor (DFA) tekniği uygulanan 200 servikal örneğin 49'unda (%24.5), *C. trachomatis* bulunduğu saptanmıştır. DFA tekniğine göre boyanan servikal örnekler floresan mikroskobunda incelenmiş, düzgün yuvarlak şekilli, toplu iğne başı büyüklüğünde, elma yeşili renkte ışımaya veren cisimcikler EC olarak kabul edilmiş ve bu yaymalar *C. trachomatis* pozitif [DFA (+)] olarak değerlendirilmiştir. Şekil 4.18'de bu tip özellikler gösteren ve DFA (+) olarak nitelendirilen bir hasta örneği görülmektedir. Hiçbir floresan ışımaya vermediği yayma örnekleri ise *C. trachomatis* (-) [DFA (-)] olarak kabul edilmiştir. Ayrıca elma yeşili renkte ışımaya vermeyen, kırmızı, beyaz renklere ışımaya veren özgül olmayan ışımalar da yine DFA (-) olarak değerlendirilmiştir. Şekil 4.19'da DFA (-) olan bir hastaya ait hiçbir floresan ışımaya vermediği servikal yayma örneği görülmektedir.



Şekil 4.18. DFA (+) olan hasta örneğinde hücrelerin içinde ve dışında (ok) floresan (FITC) işaretli monoklonal antikorla işaretlenen ve elma yeşili renkte gözlenen toplu iğne başı büyüklüğünde EC'ler görülmektedir (40x).



Şekil 4.19. DFA (-) olan hastaya ait servikal yayma örneği görülmektedir (40x).

4.3. Chlamydia Pozitifliği Açısından Sitolojik ve DFA Tekniklerinin Karşılaştırılması

Çalışma kapsamında yer alan 200 hastanın 19'u (%9.5) sitolojik tekniğe göre, 49'u (%24.5) ise DFA tekniğine göre *C. trachomatis* (+) olarak değerlendirilmiştir. Sitolojik olarak Ct (+) olan 19 hastanın 12'sinin (%63.2) immünofloresan antikor tekniğine göre de *C. trachomatis* (+) olduğu saptanmıştır. Sitolojik teknik ve DFA tekniği ile elde edilen bulguların karşılaştırmalı analizi Çizelge 4.2'de verilmiştir.

4.4. pH Ölçüm Değerleri ve İstatistiksel Açısından Değerlendirilmesi

Çalışma kapsamında yer alan 200 hasta örneğinin pH ölçümleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çizelgede sitolojik ve DFA tekniklerinin sadece birisi ile pozitif olarak değerlendirilen hastalar: OLASI POZİTİF GRUP (n=44), her ikisi ile de pozitif olarak değerlendirilen hastalar: POZİTİF GRUP (n=12), her iki teknikle de negatif olarak değerlendirilen hastalar: NEGATİF GRUP (n=144), şeklinde gösterilmiştir. Bu verilere göre, pH değerinin 5'ten küçük veya büyük olması ile *C. trachomatis* varlığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir sonuç bulunamamakla birlikte ($p>0.05$), sitolojik teknik ve DFA tekniğinin her ikisine göre *C. trachomatis* (+) olan 12 hastanın 7'sinin pH'sının 5'ten büyük olduğu görülmüştür. Ayrıca sadece sitolojik tekniğe göre (+) olan 6 hastanın ve sadece DFA tekniğine göre (+) olan 29 hastanın da pH değerlerinin 5'ten büyük olduğu saptanmıştır.

4.5. Klinik Veriler ve İstatistiksel Değerlendirmeleri

Çalışma kapsamında yer alan 200 hastaya ait yaş aralıkları ve yaş ortalamaları Çizelge 4.4'te ayrı ayrı verilmiştir.

Klinik veriler, akıntı, kaşıntı, yanma, kasık ağrısı, abortus, miyom, post partum bilgileri istatistiksel olarak değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.5). Sitolojik ve DFA tekniklerine göre, klinik verilerden hiçbiri ile *C. trachomatis* bulunması arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$). Ancak sitolojik teknik ve DFA tekniğinin her ikisi ile de *C. trachomatis* pozitif olduğu saptanan 2 hastada akıntı, 1 hastada kaşıntı şikayeti olduğu tespit edilmiştir. Yine sitolojik teknik ve DFA tekniğinin her ikisi ile de *C. trachomatis* pozitif olduğu saptanan 12 hastanın 4'ünün (%33.3) daha önce bir düşük hikayesi olduğu

görülmüştür. Ayrıca sadece DFA tekniği ile inceleme sonucunda DFA pozitif olarak nitelendirilen *C. trachomatis* (+) 37 hastanın 8'inin (%16.2) düşük hikayesi olduğu belirlenmiştir. Bu bulgulara ek olarak 1 hastada miyom bulunduğu, 1 hastanın ise post partum (doğum sonrası) döneminde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.2. *C. trachomatis* pozitifliği açısından sitolojik teknik ve DFA tekniğinin karşılaştırılması.

TEKNİK	SİTOLOJİK	
	Ct (+) (n=19)	Ct (-) (n=181)
DFA (+) (n=49)	12 (%63.2)	37 (%20.4)
DFA (-) (n=151)	7 (%36.8)	144 (%79.6)

Çizelge 4.3. 200 hastanın pH ölçüm sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi.

pH	OLASI POZİTİF GRUP (n=44)	POZİTİF GRUP (n=12)	NEGATİF GRUP (n=144)
<5	9(%20.5)	5 (%41.7)	46 (%31.9)
p>0.05			
>5	35 (%79.5)	7 (%58.3)	98 (%68.1)
p>0.05			
Toplam (n=200)	44(%100)	12 (%100)	144 (%100)

Çizelge 4.4. Çalışılan her İki teknikle alınan sonuçlara göre 200 hastanın yaş aralıkları ve yaş ortalamaları

TEKNİK	YAŞ ARALIĞI	YAŞ ORTALAMASI
OLASI POZİTİF GRUP (n= 44)	24-81	40.0± 10.9
POZİTİF GRUP (n=12)	27-74	41.8 ± 15.2
NEGATİF GRUP (n=144)	20-69	39.9 ± 10.0
TOPLAM (n= 200)	20-81	40.2 ± 10.4

Çizelge 4.5. Hastaların jinekolojik şikayetlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi.

JİNEKOLOJİK ŞİKAYETLER	OLASI POZİTİF GRUP	POZİTİF GRUP	NEGATİF GRUP
	(n= 44)	(n=12)	(n=144)
Akıntı			
p>0.05			
VAR	7(%15.9)	2 (%16.7)	35 (%24.3)
YOK	37 (%84.1)	10 (%83.3)	109 (%75.7)
Kaşıntı			
p>0.05			
VAR	0 (%0)	1 (%8.3)	11 (%7.6)
YOK	44 (%100)	11 (%91.7)	133 (%92.11)
Yanma			
p>0.05			
VAR	0 (%0)	0 (%0)	1 (%0.7)
YOK	44 (%100)	12 (%100)	143 (%99.3)
Kasık Ağrısı			
p>0.05			
VAR	1 (%2.3)	0 (%0)	10 (%6.9)
YOK	43(% 97.7)	12 (%100)	134 (%93.1)
TOPLAM			
VAR	8 (%18.2)	3 (%25)	57 (%39.6)
YOK	36 (%81.8)	9 (%75)	87 (%60.4)

Çizelge 4.6. Hastaların klinik bilgilerine göre değerlendirilmesi.

KLİNİK BİLGİLER	OLASI POZİTİF GRUP	POZİTİF GRUP	NEGATİF GRUP
	(n= 44)	(n=12)	(n=144)
Abortus			
p>0.05			
VAR	8 (%18.2)	4 (%33.3)	25 (%17.4)
YOK	36 (%81.8)	8 (%66.7)	119 (%82.6)
Miyom			
p>0.05			
VAR	4 (%9.1)	1 (%8.3)	19 (%13.2)
YOK	40 (%90.9)	11 (%91.7)	125 (%86.8)
Post partum			
p>0.05			
VAR	3 (%6.8)	1 (%8.3)	9 (%6.3)
YOK	41 (%93.2)	11 (%91.7)	135 (%93.8)

5. TARTIŞMA

C. trachomatis, cinsel yolla bulaşan, kadın, erkek ve yeni doğanda çeşitli enfeksiyonlara neden olan patojen bir mikroorganizmadır. Kadınlarda görülen salpinjit ve PİH gibi enfeksiyonlar, dış gebelik ve tübal infertilite gibi ciddi durumlarla sonuçlanabilmektedir. Böyle ciddi hastalıklara neden olması ve çeşitli komplikasyonlara yol açması, *C. trachomatis* kaynaklı enfeksiyonlara olan ilginin daha da artmasına neden olmuştur. *C. trachomatis* enfeksiyonları çoğu zaman klinik belirti vermemesi nedeniyle, toplumda enfeksiyonların görülme sıklığında artış gözlenmektedir. Bu nedenle doğru, güvenilir ve hızlı tanı önem taşımaktadır. Bu çalışmada, 200 hastaya ait servikal örnek, sitolojik teknik ve DFA tekniği kullanılarak *C. trachomatis* varlığı açısından incelenmiştir.

Çalışmamızda sitolojik ve immünofloresan teknikleri ile inceleme sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2'de sunulmuştur. Araştırma kapsamına alınan 200 hastanın 7'si (%3.5) sitolojik olarak (+) olup, DFA tekniğine göre (-)'tir. İncelenen bu 200 hastanın 37'si (%18.5) ise DFA tekniğine göre (+) olup, sitolojik inceleme ile (-) olarak değerlendirdiğimiz hasta grubunu oluşturmaktadır. Bu iki hasta grubu birlikte "olası pozitif grup" olarak değerlendirmeye alınmıştır. 200 hastanın 12'sinin (%6) ise hem sitolojik tekniğe hem de DFA tekniğine göre *C. trachomatis* açısından (+) olduğu saptanmıştır. Bu hastalar ise "pozitif grup" olarak değerlendirilmiştir. Her iki tekniğe göre de negatif olduğu saptanan hasta grubunda 144 hasta yer almakta olup bu hastalar "negatif grup" olarak gruplandırılmıştır. İstatistiksel açıdan değerlendirildiğinde *C. trachomatis* bulunması açısından bu iki teknik arasında anlamlı bir ilişkinin bulunduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Cavaliere ve arkadaşları da çalışmalarında, Papanicolaou ve DFA teknikleri ile inceledikleri 33 hastanın 29'unun her iki tekniğe göre pozitif olduğunu saptamışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre Papanicolaou (PAP) tekniğinin *C. trachomatis* tanısının verilmesinde yararlı bir teknik olduğunu ancak servikal yaymalarda morfolojik değerlendirmenin çok dikkatli yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (Cavaliere et al., 1993). Palayekar ve arkadaşlarının Giemsa, PAP, DFA ve EIA tekniklerini karşılaştırdıkları çalışmaları sonucunda, DFA tekniğinin diğer tekniklere göre daha duyarlı ve özgül olduğunu bildirmişlerdir (Palayekar et al., 2000). Ayrıca literatürde PAP simirlerinin *C. trachomatis* saptanmasında yeterince güvenilir ve duyarlı olmadığını bildiren yayınlara da rastlanmıştır (Giampaolo et al., 1983; Geerling et

al., 1985). Bizim çalışmamızda, sitolojik olarak *C. trachomatis* pozitif olduğu düşünülen 19 servikal örneğin 12'si (%63.2) gibi büyük bir bölümü, pozitif olduğu DFA tekniği ile de pozitif bulunmuştur. Sitolojik tekniğin yararı, DFA tekniğinin uygulanacağı hastaların seçilmesinde bir ön tanı oluşturmasıdır. Ancak DFA tekniği, duyarlılığı ve özgüllüğü sitolojik tekniğe göre oldukça yüksek olan bir tekniktir. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgu, Cavaliere ve arkadaşlarının çalışmaları ile de paralellik göstermiştir.

Literatürde *C. trachomatis*'in özellikle metaplazik hücreleri ve nadiren de olsa endoservikal hücreleri enfekte ettiği bildirilmektedir (Gupta et al., 1979; Giampaolo et al., 1983; Lindner et al., 1985; Panuco et al., 2000). Bu bilgiden yola çıkarak *C. trachomatis*'in sitolojik teknik ile saptanmasındaki en önemli kriterimiz servikal yaymalarda metaplazik hücrelerin bulunup bulunmadığının araştırılması olmuştur. Çalışmamızda sitolojik olarak *C. trachomatis* pozitif olarak değerlendirilen 19 hastanın 15'inde (%78.9) metaplazik hücrelerde Chlamydial inklüzyon cisimcikleri görülmüştür. Metaplazik hücrelerin görülmediği sadece 4 (%21.1) yaymada Chlamydial inklüzyon cisimciklerine rastlanmıştır. Bu 4 yaymada, enfekte olan hücrelerin endoservikal hücreler olduğu tespit edilmiştir. Gupta ve arkadaşları, PAP simirlerinde Chlamydial enfeksiyonların belirtilerini sitolojik olarak araştırdıkları çalışmalarında genellikle metaplazik hücrelerin enfekte olduğunu ancak nadiren de olsa yalnızca kolumnar hücrelerde enfeksiyon görülebildiğini belirtmişlerdir (Gupta et al., 1979). Bizim çalışmamızda ağırlıklı olarak metaplazik hücrelerde, az sayıda ise endoservikal hücrelerde Chlamydial enfeksiyonların varlığını tespit etmemiz, Gupta ve arkadaşlarının bulguları ile uyum göstermektedir. Metaplazik hücrelerin, salgı epiteli hücrelerinin çok katlı yassı epitel hücrelerine dönüşüm formları olduğu ve mekanik bir travma, irritasyon veya enfeksiyon durumlarında görüldüğü bilinmektedir (Koss, 1992). *C. trachomatis*'in, enfekte etmek üzere enfeksiyonlara hassas olan bu hücreleri seçtiği düşünülmüştür. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulgu, diğer yazarların Chlamydia'nın metaplazik hücreleri enfekte ettiği bulgularını destekler niteliktedir. Metaplazik hücreler, PAP simirlerinde bizi Chlamydial enfeksiyonları düşünmemiz yönünde uyaran anahtar hücreler özelliğinde olduklarından, metaplazik hücre görülen servikal örneklerin Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin varlığı açısından çok dikkatli biçimde incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin bulunduğu metaplazik hücreler morfolojik özellikleri açısından incelendiğinde, hücrelerin hafif hiperkromatik boyandıkları, hücre çekirdeklerinin normalden biraz iri olduğu (Şekil 4.1 ve Şekil 4.7), çekirdekçiklerinin ise sayılarının arttığı ve normale oranla hafif büyüdükleri (Şekil 4.7) gözlenmiştir. Ayrıca Şekil 4.8'de metaplazik hücrelerin oldukça uzun ve ince sitoplazmik uzantılar yaptığı görülmüştür. Hatta bu uzantıların bazılarında Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Böyle ileri düzeyde ince ve uzun sitoplazmik uzantılara sahip metaplazik hücrelerin varlığının, hasta tedavi edilmediği takdirde daha ileri sitoplazmik değişikliklere gidebileceğini ve kanser gelişimi basamaklarından olan displazik değişikliklerin ortaya çıkabileceği olasılığını düşündürmüştür. Literatürde, displazik değişikliklerin sonucunda ise servikal kanser gelişebileceğini belirten yayınlar bulunmaktadır (Berndt and Neuser, 1978; Scully, 1981; Marshall, 2003).

Literatür bilgilerine göre, Chlamydial yaşam döngüsünde küçük olan sitoplazma içi cisimcikler EC, daha büyük olan inklüzyon cisimcikleri ise RC olarak nitelendirilmektedir (Taylor-Robinson, 1980; Schachter, 1999; Guaschino and De Seta, 2000). Bizim çalışmamızda Şekil 4.1, Şekil 4.3, Şekil 4.5 ve Şekil 4.8'de metaplazik hücrelerde saptanan küçük Chlamydial inklüzyon cisimcikleri EC olarak, Şekil 4.2, Şekil 4.4 ve Şekil 4.6'da gözlenen EC'lere oranla daha büyük olan Chlamydial inklüzyon cisimcikleri ise RC olarak değerlendirilmiştir. Şekil 4.1'de EC olarak değerlendirilen inklüzyon cisimciğinin, metaplazik hücreye henüz girmekte olduğu düşünülmüştür. Bu bulgu ile yaymalar dikkatli bir biçimde incelendiğinde EC'nin enfektif özelliğinin ışık mikroskopik olarak da gözlenebildiği sonucuna gidilmiştir. Böylece çalışmamızda Chlamydial yaşam döngüsünde iki farklı morfolojik yapı olan EC ve RC'yi ışık mikroskopik olarak gözlemek mümkün olmuştur. Işık mikroskopik olarak elde ettiğimiz bu sitolojik sonuçlar, benzer çalışmaları yapan yazarların sonuçları ile paralellik göstermiştir (Geerling et al., 1985; Lindler et al., 1985; Demirezen et al., 1987).

Sitolojik açıdan *C. trachomatis* pozitif olarak değerlendirilen 19 hastaya ait servikal yaymada gözlenen Chlamydial inklüzyon cisimcikleri, renkleri açısından incelendiğinde bir kısmının eozinofilik boyanıp pembe renkte görüldüğü (Şekil 4.3), diğer kısmının ise bazofilik boyanıp mavimsi renkte görüldüğü (Şekil 4.1, Şekil 4.2,

Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6) saptanmıştır. Gupta ve arkadaşları, PAP simirlerinde Chlamydial sitomorfolojiyi detaylı olarak araştırdıkları çalışmalarında Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin hem eozinofilik hem de bazofilik boyandığını gözlemişlerdir (Gupta et al., 1979). Bizim de çalışmamızda PAP simirlerinde Chlamydial inklüzyonların renklerine dair elde ettiğimiz bulgular, Gupta ve arkadaşlarının bulguları ile uyum göstermektedir.

Çalışmamızın sitolojik incelemesi aşamasında saptanan hücresel değişikliklerden biri de, bir hasta yaymasında görülen displazik değişiklikler olmuştur. Çalışmamızda Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'de çekirdek büyümesi, çekirdek zarında düzensizlikler, ileri düzeyde hiperkromatizm gibi hücresel değişiklikler tespit edilmiştir. Displazik hücrelerde normal bir sitoplazma ve anormal bir çekirdek bulunmaktadır. Bulgularımızda, Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'de görülen displazik hücrelerin sitoplazmik hacimlerinin normal görünümlü hücrelerden farkı olmadığı, fakat çekirdeklerinin normal hücre çekirdeğine göre oldukça irileştiği net bir biçimde görülmektedir. Ancak displazi varlığında görülen bu hücresel değişikliklerin hiçbirisi kanser hücrelerindeki kadar ileri düzeyde değildir. Çalışmamızda sitolojik olarak negatif olan 181 hastanın hiçbirinde displazik hücrelere rastlanmamıştır. Fakat Chlamydial inklüzyon cisimciği saptanan çalışma grubundaki 19 servikal yaymanın 1'inde displazik değişiklikler görülmüş olması bize Chlamydia'ların ko-karsinojenik bir etken olabileceğini düşündürmüştür. Literatürde Chlamydia'ların servikal kanser gelişimi ile ilişkili olabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Hernekar ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada Chlamydia'ları ko-karsinojenik olarak değerlendirmişler ve bu mikroorganizmaların CIN gelişiminde potansiyel bir etken olabileceğini belirtmişlerdir (Harnekar et al., 1985). Ayrıca bazı araştırmacılar tarafından yapılan serolojik çalışmalarda, *C. trachomatis* enfeksiyonu görülen hastalarda CIN bulunma yüzdesinin yüksek olduğu saptanmıştır (Anttila et al., 2001; Markowska, 2002). Yazarların bu bulguları, Chlamydia'nın ko-karsinojenik olabileceği yönündeki düşüncemiz ile uyum göstermektedir.

Çalışmamızda sitolojik teknikle gözlediğimiz diğer bir sitoplazmik değişiklik de Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanan yaymalardan bazılarında sitoplazmanın dejenere olması ile ortaya çıkan büyük boşluklardır (Şekil 4.14). Çekirdeğin

etrafında görülen bu büyük sitoplazmik boşluklar, başka bir enfeksiyon etkeni olan Human Papilloma Virus'ün (HPV), enfekte ettiği hücrelerde meydana getirdiği değişikliklerden en önemlisidir. Literatürde koilostotoik hücrelerin görülmesinin, HPV tanısı için belirleyici bir kriter olduğu belirtilmektedir (zur Hausen, 1987; Isakova, 1991). Dolayısıyla araştırmamızda sitolojik teknikle *C. trachomatis* pozitif olarak değerlendirilen 19 örneğin 2'sinde Chlamydial inklüzyonlara ek olarak koilostotik hücrelerin de bulunması, HPV koenfeksiyonunu düşündürülebilir. Syrjanen ve arkadaşları HPV lezyonu bulunan hastalarda Chlamydial servisit varlığını araştırdıkları çalışmalarında, HPV lezyonlarından aldıkları 204 biyopsi materyaline indirekt immünoperoksidaz tekniği uygulamışlar ve 2 örneğin, HPV yanı sıra *C. trachomatis* açısından da pozitif olduğunu saptamışlardır (Syrjanen et al., 1985). Bu çalışmanın sonuçları, *C. trachomatis* ve HPV'nin birlikteliği bakımından bulgularımız ile benzerlik göstermektedir.

Chlamydial genital sistem enfeksiyonlarında, konağın immün yanıtı sırasında enfeksiyon bölgesine ilk ulaşan hücrelerin PMNL'ler olduğu ve bu hücrelerin genellikle enfeksiyon bölgesinde sayıca baskın olarak bulunduğu bildirilmiştir (Kunimoto and Brunham, 1985; Register et al., 1986; Monno et al., 1991; Barteneva et al., 1996). Çalışmamızda da Şekil 4.1, Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da görüldüğü gibi yaymaların bazılarında PMNL'lerin, inklüzyon cisimcikleri ile enfekte hücrelerin çevresinde ve zara bitişik olarak bulunduğu tespit edilmiştir. PMNL'ler Şekil 4.1, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te olduğu gibi metaplazik hücrelerin yakın çevresinde görülürken, Şekil 4.6'da ise PMNL zarı ile metaplazik hücre zarının birbirine çok yaklaştığı, hatta bazı PMNL'lerin adeta zara yapıştığı ışık mikroskopik olarak saptanmıştır. Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin pozitifliği ile PMNL bulunması arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki görülmemiş olmasına rağmen sitolojik olarak Chlamydial inklüzyon cisimcikleri saptanan 19 yaymanın 17'sinde (%89.5) PMNL'lere rastlanmış olması, *C. trachomatis* negatif olan hastalarda başka enfeksiyonların varlığını akla getirmektedir. Çalışmamızda elde edilen bulgular ise Chlamydial enfeksiyonlarda PMNL'lerin sayıca bol olarak bulunduğunu gösteren çalışmaların bulguları ile paralellik göstermektedir. Wyrick ve arkadaşları tarafından yapılan in vitro çalışmada, Chlamydial inklüzyon cisimciklerinin salgıladıkları kemotaktik faktörler nedeniyle, PMNL'lerin enfekte hücrelere doğru yaklaştıkları, dolayısıyla Chlamydial enfeksiyonun PMNL

kemotaksisini tetiklediği saptanmıştır. Bu çalışmanın devamı olarak ise *C. trachomatis*'i ortadan kaldırmak üzere antibiyotik uygulanan hücre kültüründe bile, geride kalan Chlamydial antijenik epitopların bulunması nedeniyle PMNL kemotaksisinin 4 hafta kadar sürdüğü ortaya konulmuştur. Ancak Chlamydial antijenik yapılar ortadan kalktığında kemotaksisin de sona erdiği tespit edilmiştir (Wyrick et al., 1999). Çalışmamızda Şekil 4.6'da saptamış olduğumuz Chlamydial inklüzyon cisimcikleri içeren metaplazik hücre zarı ile PMNL arasındaki bağlantının, Chlamydia'ların salgıladıkları kemotaktik faktörler nedeniyle gerçekleştiği, bunun da konak hücrelerin bir savunma mekanizması olduğu düşünülmüştür. Bu düşüncemiz, Wyrick ve arkadaşlarının araştırma sonuçları ile uyum göstermektedir.

Çalışmamız kapsamında sitolojik olarak Chlamydial inklüzyon cisimciği saptanan ve *C. trachomatis* pozitif olduğu düşünülen 19 servikal yaymanın 1'inde inklüzyon cisimciklerine ek olarak maya hif ve blastosporları bulunduğu tespit edilmiş ve mikrobiyolojik olarak doğrulanmamış olmakla birlikte, bu mayanın büyük olasılıkla *Candida* olduğu düşünülmüştür (Şekil 4.17). *Candida* türlerinin neden olduğu vajinal kandidiyazisin pH=4.0-4.5 civarında ortaya çıktığı bildirilmiştir (Koss, 1992). *C. trachomatis*'in ise vajinal pH'nın 6 ve daha üzeri olduğu yüksek pH'larda daha sık görüldüğü literatür bilgilerinde yer almaktadır (Hanna et al., 1985; Das et al., 2005). Çalışmamızda Chlamydial inklüzyon cisimcikleri ile *Candida* hif ve blastosporlarının birlikte bulunduğu bu hastadan alınan servikovajinal sıvı örneğinin pH'sı ise 8 olarak ölçülmüştür. Ölçülen bu pH değeri farklı pH'larda yaşamlarını sürdüren bu iki mikroorganizmanın, vajinal floranın dengesi bozulduğunda pH=8 gibi bazik bir değerde bile birlikte yaşayabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca hastaya ait klinik bilgilere bakıldığında hastanın rahim içi araç (RİA) kullandığı ve akıntı-kaşıntı gibi jinekolojik şikayetlerinin bulunduğu saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında, RİA'nın da vajinal floranın bozulmasına ve dolayısıyla *Chlamydia trachomatis* ve *Candida* gibi iki ayrı enfeksiyon etkeninin bir arada bulunabileceği bir ortam yaratılmasına katkısı olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda uygulanan diğer teknik olan DFA tekniği ile incelenen 200 servikal örneğin 49'u *Chlamydia* antijeni pozitif olarak değerlendirilmiştir. DFA tekniğinde *Chlamydia trachomatis*'e özgül floresan işaretli monoklonal antikolar kullanılmış

ve örneklerde, hücrelerin içinde ya da dışında floresan veren, küçük, düzgün kenarlı yapılar pozitif [DFA (+)] kabul edilmiştir (Şekil 4.18). Teknikte özgül monoklonal antikorların kullanılması, her çalışmada pozitif ve negatif kontrollerin uygulanması ve değerlendirmenin deneyimli uzman tarafından yapılması DFA testinde yalancı pozitiflik ya da yalancı negatif sonuç verme olasılığını minimum düzeye indirmiştir. Örneklerde kırmızı, beyaz renklerde görülen ışımalar nonspesifik olarak dikkate alınmış, veya hiç ışımaya vermeyen bu örnekler DFA (-) olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.19). Cavaliere, Inhorn ve Garozzo da Chlamydia'ları DFA tekniği ile inceledikleri çalışmalarında bizim kullandığımız tanı kriterlerini kullanmışlar ve bu kriterlerin Chlamydia pozitifliği açısından önem taşıdığını vurgulamışlardır (Cavaliere et al., 1993; Garozzo et al., 1993; Inhorn et al., 2001). Çalışmamızda servikal yaymalar, bu yazarların kriterleri doğrultusunda değerlendirilmiş ve *C. trachomatis* pozitif ve negatif olguları saptanmıştır. Mainkhard ve Borisov, DFA tekniği ile 176 servikal örnek çalışmışlar ve endoservisit görülen hastaların %28.8'inde, PİH görülen hastaların %34.7'sinde ve sterilite görülen hastaların %18.8'inde *C. trachomatis* pozitifliği saptamışlardır. Bu araştırmacılar, Chlamydia hastalıklarının tedavisinde güvenilir tanı tekniklerine ihtiyaç duyulduğunu, DFA tekniğinin de *C. trachomatis* tanısında bu amaca hizmet eden uygun bir teknik olduğunu belirtmişlerdir (Mainkhard and Borisov, 1995). Çalışmamızda saptadığımız gibi, DFA tekniğinin *C. trachomatis* tanısında sitolojik tekniğin yanı sıra kullanılabilecek bir teknik olduğu yönündeki düşüncemiz, yazarların düşünceleri ile paralellik göstermektedir.

Literatürde genital *C. trachomatis* enfeksiyonlarının en fazla adolesanlarda, 25 yaşın altındaki kadınlarda ve genç erkeklerde görüldüğü, buna bağlı olarak toplumlarda yaşın artmasıyla, *C. trachomatis* görülme sıklığının azalma gösterdiği bildirilmiştir (McGregor and French, 1991; Cavaliere et al., 1993; Campbell et al., 2001; Pacey and Eley, 2004; Macleod et al., 2005). Bizim çalışmamızda her iki teknik ile de *C. trachomatis* pozitif tanısı verilen 12 hastanın yaş ortalamasının 41.8 ± 15.2 ve yaş aralığının 27-73 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Bu değerler literatürdeki yaş sınırlarına uymamaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda *C. trachomatis*'in 25 yaşın altında görüldüğünün bildirilmesine rağmen, ülkemizdeki yaş ortalamasının 41 ve üzeri olduğu saptanmıştır. Bunun nedeninin, ülkemizde cinsel ilişki yaşının diğer ülkelere göre daha yüksek olması,

buna bağlı olarak da kliniğe gelen hastaların daha yüksek yaş grubunda yer alması olduğu düşünölmüştür.

Çalışma kapsamında yer alan 200 hastaya ait vajinal sıvı örneklerinin pH ölçümleri yapılmış ve her iki teknik ile de *C. trachomatis* pozitif olarak değerlendirilen 12 hastanın 7'sinin (%58.3) pH değerinin 5'ten büyük olduğu saptanmıştır. Literatürde *C. trachomatis*'in yüksek vajinal pH ile ilişkili olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır (Hanna et al., 1985; Das et al., 2005). Hanna ve arkadaşları vajinal akıntı şikayeti olan 89 hasta ile çalışmışlar ve vajinal pH'nın 6.0-7.5 arası olduğu 7 (%14) hastada, *Mycoplasma hominis* ve *C. trachomatis* gibi enfeksiyon etkenlerinin yüksek oranda bulunduğunu saptamışlardır. Araştırıcılar, bu sonuçlara göre 6'nın üzerinde olan pH değerinin, enfeksiyon etkenleri görölmeleri açısından belirleyici bir tanı kriteri olabileceğini belirtmişlerdir (Hanna et al., 1985). Çalışmamızda da 5'ten büyük pH'larda Chlamydial enfeksiyon görölme yüzdesinin daha yüksek olması, yazarların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bu bilgilere dayanılarak, normalde 4-4.5 değeri ile asidik olan vajen pH'sının kadınları Chlamydial enfeksiyon riskine karşı koruduğu ancak yükselen vajen pH'sının *C. trachomatis* gelişimi için uygun ortam oluşturduğu düşünölmüştür.

C. trachomatis enfeksiyonlarında görölen klinik şikayetlere bakıldığında, enfeksiyon görölen kadınların %50-75'inde, erkeklerin ise %50'sinde hastalıkların asemptomatik seyrettiği bildirilmektedir (Guaschino and De Seta, 2000; Watson et al., 2002; Harindra et al., 2003; Minkoff and Baker, 2004; Eley et al., 2005). Semptomatik enfeksiyonlarda görölen klinik belirtiler arasında ise, anormal vajinal akıntı, ara kanamalar, ilişki sonrası kanamalar, sık idrara çıkma ya da idrar yaparken ağrı (disüri) gibi yakınmalar yer almaktadır (Jackson and Soper, 1997). Ayrıca kolaylıkla indöklenen endoservikal kanama, mukopürölan endoservikal akıntı ve anösten gelen akıntı şeklinde belirtiler de görölebileceği rapor edilmiştir. (Davis, 1998; Campbell et al., 2001). Çalışmamızda akıntı, kaşıntı, yanma, kasık ağrısı gibi klinik şikayetler *C. trachomatis* pozitif olarak değerlendirilen 12 hastanın 3'ünde, olası pozitif olarak değerlendirmeye alınan 44 hastanın 8'inde ve negatif olarak değerlendirilen 144 hastanın 57'sinde saptanmıştır (Çizelge 4.5). *C. trachomatis* görölmesi ve klinik şikayetler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$). *C. trachomatis* pozitif ve olası pozitif toplam 56

hastanın 11'inde (~%20) klinik bulguların olması, enfeksiyonun büyük oranda asemptomatik geçtiğini vurgulamaktadır. *C. trachomatis* negatif (144 hastanın 57'sinde) ~%25 oranında klinik bulguların pozitif olması ise, bu kişilerde başka enfeksiyon etkenlerinin varlığını düşündürmektedir. Ancak çalışmamız kapsamında diğer mikrobiyolojik etkenlerin varlığının araştırılması yer almamaktadır. Bu bilgiler ışığında, akıntı, kaşıntı, yanma gibi klinik şikayetlerin *C. trachomatis* tanısı için belirleyici olmadığı, bu belirtilerin *C. trachomatis*'e özgül olmayıp başka enfeksiyon etkenleri varlığında da bu klinik şikayetlere rastlanabileceği düşünülmüştür.

Literatürde gebelik döneminde annede görülen *C. trachomatis* enfeksiyonlarının prematüre membran yırtılması, prematüre doğum, düşük ağırlıklı doğum, ölü doğum, spontan düşüklükler ve dış gebelik gibi gebelik komplikasyonları ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Lamont et al., 1986; Jackson and Soper, 1997; Sozio and Ness, 1998). Gebelik döneminde gözlenen *C. trachomatis* enfeksiyonuna karşı oluşturulan IgG miktarının, spontan abortus öyküsü bulunmayan hastalara göre daha yüksek olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (Witkin, 1992; Avasthi et al., 2003). Avasthi ve arkadaşları, gebeliğin birinci trimesterindeki 125 hastayı inceledikleri çalışmalarında, ELISA tekniği ile *C. trachomatis* IgG antikoru pozitiflik oranının, gebelik kaybı olan hastalarda daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu verilerden, gebelik döneminde oluşabilecek *C. trachomatis* enfeksiyonunun spontan düşük ve dış gebeliğin önemli nedenlerinden biri olduğu sonucuna gidilmiştir (Avasthi et al., 2003). Çalışmamızda, her iki teknikle *C. trachomatis* pozitif olduğu saptanan 12 hastanın 4'ünün (%33.3) ve sadece DFA (+) olan 37 hastanın 8'inin (%21.6) daha önceden geçirilmiş bir abortus öyküsünün bulunduğu kaydedilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların, diğer araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırılabilmesi için, özellikle gebelik komplikasyonları olan hasta grubu ile çalışılması, hastaların düşük hikayeleri ile ilgili bilgilerin daha kapsamlı alınması gerektiği düşünülmüştür. Ayrıca, abortus öyküsü olan hastaların bir de Chlamydia enfeksiyon açısından değerlendirmesinin yararlı olabileceği sonucuna gidilmiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda klinik yakınması olan veya rutin kontrollere gelen kadınların servikal örneklerinde *C. trachomatis* araştırılmış ve istatistiksel açıdan

bu iki parametre arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu görülmüştür ($p<0.05$). Bu iki tekniğin *C. trachomatis* tanısında birbirini desteklediği saptanmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz tüm bulgular ışığında, jinekolojik yakınmaları olan hastaların, diğer enfeksiyon etkenlerinin yanında *C. trachomatis* pozitifliği açısından da araştırılması gerektiği, bu amaçla tanı şansının artırılması için sitolojik ve immünofloresan teknikleri birlikte kullanılmasının uygun olacağı düşünülmüştür. Ancak DFA tekniğinin uygulanamadığı sağlık kuruluşlarında sitolojik incelemenin, bir ön tarama testi olarak kullanılabileceği yargısına varılmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adimora, AA., 2002, Treatment of uncomplicated genital *Chlamydia trachomatis* infections in adults, Clin Infect Dis., 35(Suppl 2), 183-186.
- Allerding, TJ., Jordan, SW., Boardman, RE., 1985, Association of human papilloma virus and Chlamydia infections with incidence cervical neoplasia, Acta Cytol., 29(5), 653-660.
- Anttila, T., Saikku, P., Koskela, P., Bloigu, A., Dillner, J., Ikaheimo, I., Jellum, E., Lehtinen, M., Lenner, P., Hakulinen, T., Narvanen, A., Pukkula, E., Thoresen, S., Youngman, L., Paavonen, J., 2001, Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma, JAMA., 285(1), 47-51.
- Ault, KA, Tawfik, OW., Smith-King, MM., Gunter, J., Terranova, PF., 1996, Tumor necrosis factor-alpha response to infection with *Chlamydia trachomatis* in human fallopian tube organ culture, Am J Obstet Gynecol., 175(5),1242-1245.
- Avasthi, K., Garg, T., Gupta, S., Grewal, RK., Ram, S., 2003, A study of prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in women with first trimester pregnancy losses. Indian J Pathol Microbiol 46(1), 133-136.
- Barteneva, N., Theodaor, I., Peterson, EM., De La Maza, LM, 1996, Role of neutrophils in controlling early stages of a *Chlamydia trachomatis* infection, Infect Immun., 64(11), 4830-4833.
- Berndt, H., Neuser, D., 1978, Epidemiology of cervical cancer [author's transl], Arch Geschwulstforsch, 48(3), 250-75.
- Borges, RJ., Carmona, O., Machado, H., Esparza, J., 1984, Chlamydial infection in Papanicolaou-stained cervical smears, Acta Cytol.,28(4), 471-476.
- Brooks, GF., Butel, JS., Ornston, LN., 1995, Chlamydiae, Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology Twentieth Edition. Jawetz, E., Melnick, JL., Adelberg, EA. (eds), Prentice-Hall International Inc., 294-302.
- Campbell, LA., Marrazzo, JM., Stamm, WE., Kuo, C., 2001, Chlamydiae. Laboratory Diagnosis of Bacterial Infections. Cimolai, N. (ed), Marcel Decker, Inc., New York Basel. pp. 795-821.
- Carabeo, RA., Griesnaber, SS., Fischer, E., Hackstadt, T., 2002, *Chlamydia trachomatis* induces remodelling of the actin cytoskeleton during attachment and entry into HeLa cells, Infect Immun., 70(7), 3793-3803.
- Cavaliere, MJ., Maeda, MYS., Shirata, NK., Filho, AL., Shih, LWS., Siqueria, M., Muelenare Correa, MGB., Oliveira, HF., 1993, Cervico-vaginal chlamydia trachomatis infection in pregnant adolescent and adult women, Arch Gynecol Obstet., 253, 175-182.

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Ten leading nationally notifiable infectious diseases, United States 1995, 1996, MMWR Morb Mortal Wkly Rep., 45(41), 883-884.
- Cevenini, R., Donati, M., Sambri, V., 2002, *Chlamydia trachomatis* – the agent, Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol., 16(6), 761-773.
- Chislett, L., 2003, What is genital chlamydia?, Nurs Times., 99(35), 46.
- Cram, LF., Zapata, MI., Toy, EC., 2002, Genitourinary infections and their association with preterm labor, Am Fam Physician., 65(2), 241-248.
- Darougar, S., 1985, The humoral immune response to Chlamydial infection in humans, Rev Infect Dis., 7(6), 736-730.
- Das, S., Sabin, C., Allan S., 2005, Higher vaginal pH is associated with *Chlamydia trachomatis* infection in women: a prospective case-controlled study, Int J STD AIDS, 16(4), 290-293.
- Davis, A., 1998, Chlamydia: the most common sexually transmitted infection, Nurs Times., 94(5), 56-58.
- Debattista, J., Timms, P., Allan, J., Allan, J., 2003, Immunopathogenesis of *Chlamydia trachomatis* infections in women, Fertil Steril., 79(6), 1273-1287.
- Demirezen, Ş., Çakar, N., Beksaç, MS., 1987, Detection of *Chlamydia trachomatis* in Papanicolaou-stained smears, Acta Reprod Turc., 8(3), 59-63.
- Dodson, MG., Fortunato, SJ., 1988, Microorganisms and premature labor, J Reprod Med., 33(1), 87-96.
- Elbhar, MA., Suchet, JH., 1999, Persistent “silent” *Chlamydia trachomatis* female genital track infections, Infect Dis Obstet Gynecol., 7, 31-34.
- Eley, A., Pacey, AA., Galdiero, M., Galdiero, M., Galdiero, F., 2005, Can *Chlamydia trachomatis* directly damage your sperm?, Lancet Infect Dis., 5: 53-57.
- Esen, T., Erdoğan, T., Ander, H., 1994, Genito-üriner sistemin *Chlamydia trachomatis* infeksiyonları. Chlamydia İnfeksiyonları ve Tanıda Yenilikler. Anđ, Ö., Badur, S., Ağaçfidan, A. (Editörler), Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, İstanbul, 11-23.
- Everett, KD., 2000, Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye, Vet Microbiol., 75, 109-126.
- Everett, KD., Andersen AA., 1999, Identification of nine species of the Chlamydiaceae using PCR-RFLP, Int J Syst Bacteriol., 49(2), 803-13.
- Faro, S., 1985, *Chlamydia trachomatis* infection in women, J Reprod Med., 30(3), 273-278.

- Felice, V., David, S., Cappello, F., Farina, F., Zummo, G., 2005, Is chlamydial heat shock protein 60 a risk factor for oncogenesis?, *Cell Mol Life Sci.*, 62, 4-9.
- Fields, KA., Hachstadt, T., 2002, The Chlamydial inclusion: escape from the endocytotic pathway, *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 18, 221-245.
- Forbes, BA., Bartholoma, N., Mcmillan, J., Roefaro, M., Weiner, L., Welych, L., 1986, Evaluation of a monoclonal antibody test to detect *Chlamydia* in cervical and urethral specimens, *J Clin Microbiol.*, 23(6), 1136-1137.
- Fukuda, EY., Lad, SP., Mikolon, DP., Lacobelli-Martinez, M., Li, E., 2005, Activation of lipid metabolism contributes to Interleukin-8 production during *Chlamydia trachomatis* infection of cervical epithelial cells, *Infect Immun.*, 73(7), 4017-4024.
- Gann, PH., Herrmann, JE., Candib, L., Hudson, RW., 1990, Accuracy of *Chlamydia trachomatis* antigen detection methods in a low-prevalence population in a primary care setting, *J Clin Microbiol.*, 28(7), 1580-1585.
- Garozzo, G., Lomeo, E., La Greca, M., Catiglione, MG., Caruso, M., Sorrenti, M., Grillo, S., 1993, *Chlamydia trachomatis* diagnosis a correlative study of pap smear and direct immunofluorescence, *Clin Exp Obstet Gynecol.*, 20(4), 259-263.
- Garrity, GM., Bell, JA., Lilburn, TG., May 2004, Taxonomic Outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition. Springer New York pp. 302.
- Geerling, S., Nettum, JA., Lindner, LE., Miller, SI., Dutton, L., Wechter, S., 1985, Sensitivity and specificity of the Papanicolaou-stained cervical smear in the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection, *Acta Cytol.*, 29(5), 671-675.
- Genç, M., Mardh, PA., 1996, A cost effectiveness analysis of screening and treatment for *Chlamydia trachomatis* infection in asymptomatic women, *Ann Intern Med.*, 124(1), 1-7.
- Giampaolo, C., Murphy, J., Benes, S., McCormack, W., 1983, How sensitive is the Papanicolaou smear in the diagnosis of infections with *Chlamydia trachomatis*?, *Am J Clin Pathol.*, 80(6), 844-849.
- Grimwood, J., Stephens, RS., 1999, Computational analysis of the polymorphic membrane protein superfamily of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia pneumoniae*, *Microb Comp Genomics.*, 4(3), 187-201.
- Guaschino, S., De Seta, F., 2000, Update on *Chlamydia trachomatis*, *N Engl J Med.*, 343, 293-300.
- Gupta, PK., Lee, EF., Erozan, YS., Frost, JK., Geddes, ST., Donovan, PA., 1979, Cytologic investigations in *Chlamydia* infection, *Acta Cytol.*, 23, 315-320.

- Hackstadt, T., Fisher, ER., Scidmore, MA., Rockey, DD., Heinzen, RA., 1997, Origins and functions of the chlamydial inclusion, *Trends Microbiol.*; 5(7), 288-293.
- Hackstadt, T., Rockey, DD., Heinzen, RA., Scidmore, MA., 1996, *Chlamydia trachomatis* interrupts an exocytic pathway to acquire endogenously synthesized sphingomyelin intransit from the Golgi apparatus to the plasma membrane, *EMBO J*, 15, 964-977.
- Hakama, M., Luostarinen, T., Hallmans, G., Jellum, E., Koskela, P., Lehtinen, M., Thoresen, S., Youngman, L., Hakulinen, T., 2000, Joint effect of HPV 16 with *Chlamydia trachomatis* and smoking on risk of cervical cancer: Antagonism or misclassification (Nordic countries), *Cancer Causes Control*, 11, 783-790.
- Handsfield, HH., Jasman, LL., Roberts, PL., Hanson, VW., Kothenbeutel, RL., Stamm, WE., 1986, Criteria for selective screening for *Chlamydia trachomatis* infection in women attending family planning clinics, *JAMA*, 255(13), 1730-1734.
- Hanna, NF, Taylor-Robinson, D., Kalodiki-Karamanoli, M., Harris, JR., McFadyen, IR., 1985, The relation between vaginal pH and the microbiological status in vaginitis, *Br J Obstet Gynaecol.*, 92(12), 1267-1271.
- Harindra, V., Underhill, G., Tobin, JM., 2003, Screening for genital chlamydia infection: DNA amplification techniques should be the test of choice, *Int J STD & AIDS.*, 14(11), 723-726.
- Harnekar, AB., Leiman, G., Markowitz, S., 1985, Cytologically detected Chlamydial changes and progression of cervical intraepithelial neoplasias, *Acta Cytol.*, 29(5), 661-664.
- Hatch, TP., Miceli, M., Silverman, JA., 1985, Synthesis of protein in host-free reticulate bodies of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia trachomatis*, *J Bacteriol.*, 162(3), 938-942.
- Henderson, IR., Lam, AC., 2001, Polymorphic proteins of *Chlamydia* spp. – autotransporters beyond the Proteobacteria, *Trends Microbiol.*, 9(12), 573-578.
- Hodinka, RL., Davis, CH., Choong, J., Wyrick, PB., 1988, Ultrastructural study of endocytosis of *Chlamydia trachomatis* by McCoy cells, *Infect Immun.*, 56(6), 1456-1463.
- Holmes, KK., 1981, The *Chlamydia* epidemic, *JAMA*, 245(17), 1718-1723.
- Hosseinzadeh, S., Pacey, AA., Eley, A., 2003, *Chlamydia trachomatis*-induced death of human spermatozoa is caused primarily by lipopolysaccharide, *J Med Microbiol.*, 52, 193-200.

- Hosseinzadeh, S., Brewis, IA., Pacey, AA., Moore, HDM., Eley, A., 2000, Coincubation of human spermatozoa with *Chlamydia trachomatis* in vitro causes increased tyrosine phosphorylation of sperm proteins, *Infect Immun.*, 68(9), 4872-4876.
- Inhorn, SL., Wand, PJ., Wright, TC., Hatch, KD., Hallum, J., Lentricchia, BB., 2001, *Chlamydia trachomatis* and Pap testing from single, fluid-based sample, *J Reprod Med.*, 46(3), 237-242.
- Isakova, LM., 1991, Cytologic and morphologic characteristics of human papilloma virus in cervix uteri pathology, *Arkh Patol.*, 53(1), 75-79.
- Jackson, SL., Soper, DE., 1997, Sexually Transmitted Diseases in Pregnancy, *Obstet Gynecol Clin North Am.*, 24(3), 631-644.
- Johnson, AP., 1985, Pathogenesis and immunology of Chlamydial infections of the genital tract, *Rev Infect Dis.*, 7(6), 741-745.
- Kelly, KA., 2003, Cellular immunity and *Chlamydia* genital infection: induction, recruitment and effector mechanisms, *Int Rev Immunol.*, 22, 3-41.
- Kılıçturgay, K., 2003, İmmünoloji 2003, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, İstanbul, 443s.
- Kiviat, NB., Paavonen, JA., Wolner-Hanssen, P., Critchlow, CW., Stamm, WE., Douglas, J., Eschenbach, DA., Corey, LA., Holmes, KK., 1990, Histopathology of endocervical infection caused by *Chlamydia trachomatis*, Herpes Simplex Virus, *Trichomonas vaginalis* and *Neisseria gonorrhoeae*, *Hum Pathol.*, 21(8), 831-837.
- Koss, GL., 1992, Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases, Volume I, J.B. Lippincott Company, 112, pp. 334-354.
- Kousa, M., Saikku, P., Richmond, S., Lassus, A., 1978, Frequent association of Chlamydial infection with Reiter's syndrome, *Sex Transm Dis.*, 5(2), 57-61.
- Kunimoto, D., Brunham, RC., 1985, Human immune response and *Chlamydia trachomatis* infection, *Rev Infect Dis.*, 7(5), 665-673.
- Lamont, RF., Taylor-Robinson D., Newman, M., Wigglesworth, J., Elder, MG., 1986, Spontaneous early preterm labour associated with abnormal genital bacterial colonization. *BJOG.*, 93, 804-810.
- Lindner, LE., Geerling, S., Nettum, JA., Miller, SL., Altman, KH., 1985, The cytologic features of Chlamydial cervicitis, *Acta Cytol.*, 29(5), 676-682.
- Lipkin, ES., Moncada, JV., Shafer, MA., Wilson, TE., Schachter, J., 1986, Comparison of monoclonal antibody staining and culture in diagnosing cervical Chlamydial infection, *J Clin Microbiol.*, 23(1), 114-117.

- Longbottom, D., Russell, M., Jones, GE., Lainson, FA., Herring, AJ., 1996, Identification of a multigene family coding for the 90 kDa proteins of the bovine abortion subtype of *Chlamydia psittaci*, FEMS Microbiol Lett., 142(2-3), 277-81.
- Loomis, WP., Starnbach, MN, 2002, T cell response to *Chlamydia trachomatis*, Curr Opin Microbiol., 5, 87-91.
- Mabey, DCW., Solomon, AW., Foster, A., 2003, Trachoma, Lancet, 362, 223-229.
- MacDonald, AB., 1985, Antigens of *Chlamydia trachomatis*, Rev Infect Dis., 7(6), 731-736.
- Macleod, J., Salisbury, C., Low, N., McCarthy, A., Sterne, JAC., Holloway, A., Patel, R., Sanford, E., Morcom, A., Horner, P., Smith, GD., Scidmore, S., Herring, A., Caul, O., Hobbs, FDR., Egger, M., 2005, Coverage and uptake of systematic postal screening for genital *Chlamydia trachomatis* and prevalence of infection in the United Kingdom general population: cross sectional study, BMJ., 330(7497), 940.
- Mainkhard, K., Borisov, I., 1995, The direct immunofluorescence test for the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* in gynecology, Akush Ginekol (Sofiiia)., 34(1), 14-16.
- Mardh, PA., Novikova, N., 2001, *Chlamydia trachomatis* infections-a major concern for reproductive health. Where do we stand regarding epidemiology, pathogenesis, diagnosis and therapy?, The Eur J Contracept Reprod Health Care., 6, 115-126.
- Markowska, J., 2002, The role of *Chlamydia trachomatis* infection in CIN and cervical cancer development, Ginekol Pol., 73(5), 472-6.
- Marshall, K., 2003, Cervical dysplasia: early intervention, Altern Med Rev., 8(2), 156-70.
- Matsumoto, A., 1982, Electron microscobic observations of surface projections on *Chlamydia psittaci* reticulate bodies, J Bacteriol., 150(1), 358-364.
- McGregor, JA., French, JI., 1991, *Chlamydia trachomatis* infection during pregnancy, Am J Obstet Gynecol., 164(6), 1782-1789.
- Minkoff, EC., Baker, PJ., 2004, Biology Today An Issues Approach, Garland Science Taylor&Francis Group, New York, 752p.
- Monno, R., Vena G., Cafforio, P., Milone, E., 1991, Polymorphonuclear cell function impairment in patients with *Chlamydia trachomatis* urogenital infections, Acta Microbiol Hung., 38(1), 75-79.
- Morrison, RP., 2003, New insights into a persistent problem- chlamydial infections, J Clin Invest., 111, 1647-1649.

- Morrison, RP., Caldwell, HD., 2002, Immunity to Murine Chlamydial Genital Infection, *Infect Immun.*, 70(6), 2741-2751.
- Moulder, JW., 1991, Interaction of Chlamydiae and host cells in vitro, *Microbiol Rev.*, 55, 143-90.
- Nelson, HD., Helfand, M., 2001, Screening for Chlamydial infection, *Am J Prev Med.*, 20(3S), 95-107.
- Ness, RB., Goodman, MT., Shen, C., Brunham, RC., 2003, Serologic evidence of past infection with *Chlamydia trachomatis* in relation to ovarian cancer, *J Infect Dis.*, 187, 1147-1151.
- Noyan, A., 2000, Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji, Meteksan Anonim Şirketi, Ankara, 729-736.
- Önel, M., 2003, Servikal Kanser ile *Chlamydia trachomatis* Arasındaki İlişkinin Araştırılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul, 55s.
- Özbal, Y., 1999, Klamidyalar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ustaçelebi, Ş., Güneş Kitabevi Yayınları, Ankara. s.705-714.
- Özkuyumcu, C., 1985, Genital İnfeksiyonlarda *Chlamydia trachomatis*'in Sitoloji, İFA, Hücre Kültürü ve Elisa Yöntemleriyle Gösterilmesi, Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D. Ankara, 61 s.
- Pacey, AA., Eley, A., 2004, *Chlamydia trachomatis* and male fertility, *Hum Fertil (Camb).*, 7(4), 271-276.
- Palayekar, W., Joshi, JV., Hazari, KT., Shah, RS., Chitlange, SM., 2000, Comparison of four nonculture diagnostic test for *Chlamydia trachomatis* infection, *J Assoc Physicians India.*, 48(5), 481-483.
- Paler, RJ., Simpson, DR., Kaye, AM., Gunn, S., Felix, JC., 2000, The relationship of inflammation in the Papanicolaou smear to *Chlamydia trachomatis* infection in a high-risk population, *Contraception*, 61, 231-234.
- Panuco, CA., Rodriguez, ID., Guzman, LA., Fierro, DA., Murillo, JM., Maldonado, ER., 2000, Detection of *Chlamydia trachomatis* in pregnant women by the Papanicolaou technique, enzyme immunoassay and polymerase chain reaction, *Acta Cytol.*, 44(2), 114-123.
- Papanicolaou, GN., 1963, Atlas of Exfoliative Cytology.
- Pavlica, L., Pejnovic, N., Draskovic, N., 2003, The cellular immune reaction in synovial fluid lymphocytes to Ureaplasma antigens in patients with Reiter's Syndrome, *Srp Arh Celok Lek.*, 131(7-8), 285-289.
- Perara, E., Yen, TSB., Ganem, D., 1990, Growth of *Chlamydia trachomatis* in enucleated cells, *Infect Immun*, 58(11), 3816-3818.

- Prescott, LM., Harley, JP., Klein, DA., 1999, Bacteria: The Deinococci and Nonproteobacteria Gram Negatives. Microbiology Fourth Edition. Prescott, LM. (eds). The McGraw-Hill Companies, New York 449-450.
- Register, KB., Morgan, PA., Wyrick, PB., 1986, Interaction between *Chlamydia* spp. and human polymorphonuclear leukocytes in vitro, *Infect Immun.*, 52(3): 664-670.
- Rockey, DD., Scidmore, MA, Bannantine, JP., Brown, WJ., 2002, Proteins in the Chlamydial inclusion membrane, *Microbes Infect.*, 4, 333-400.
- Rund, S., Lindner, B., Brade, H., Holst, O., 1999, Structural analysis of the lipopolysaccharide from *Chlamydia trachomatis* serotype L₂, *J Biol Chem.*, 274(24), 16819-16824.
- Sanders, LL., Harrison, HR., Washington, AE., 1986, Treatment of sexually transmitted Chlamydial infections, *JAMA*, 255(3), 1750-1756.
- Schachter, J., 2003, Vaginal swabs are appropriate specimens for diagnosis of genital tract infection with *Chlamydia trachomatis*, *J Clin Microbiol.*, 41(8), 3784-3789.
- Schachter, J., Stephens, RS., Timms, P., Kuo, C., Bavoil, PM., Birkelund, S., Boman, J., Caldwell, H., Campbell, LA., Chernesky, M., Christiansen, G., Clarke, IN., Gaydos, C., Grayston, JT., Hackstadt, T., Hsia, R., Kaltenboeck, B., Leinonen, M., Ocjius, D., McClarty, G., Orfila, J., Peeling, R., Puolakkainen, M., Quinn, TC., Rank, RG., Raulston, J., Ridgeway, GL., Saikku, P., Stamm, WE., Taylor-Robinson, D., Wang, SP., Wyrick, PB., 2001, Letter to the editor: Radical changes to chlamydial taxonomy are not necessary just yet, *Int J Syst Evol Microbiol.*, 51, 249.
- Schachter, J., 1999, Biology of *Chlamydia trachomatis*, Sexually transmitted diseases. Third Edition, Holmes, KK., Sparling, PF., Mardh, PA., Lemon MS. (eds), McGraw-Hill New York. pp. 391-405.
- Schachter, J., 1997, DFA, EIA, PCR, LCR and other technologies: what tests should be used for diagnosis of Chlamydia infections?, *Immunol Invest.*, 26(1&2), 157-161.
- Scholes, D., Stergachis, A., Heidrich, FE., Andrilla, H., Holmes, KK., Stamm, WE., 1996, Prevention of pelvic inflammatory disease by screening for cervical Chlamydial infection, *N Engl J Med.*, 334, 1362-1366.
- Scidmore-Carlson, MA., Shaw, EI., Dooley, CA., Fischer, ER., Hackstadt, T., 1999, Identification and characterization of a *Chlamydia trachomatis* early operon encoding four novel inclusion membrane proteins, *Mol Microbiol.*, 33(4), 753-65.
- Scully, RE., 1981, Definition of precursors in gynecologic cancer, *Cancer*, 48(2. Suppl), 531-7.

- Serter, D., 1997, Virüs Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, İstanbul, 404 s.
- Shiina, Y., 1985, Cytomorphologic and immunocytochemical studies of Chlamydial infections in cervical smears, *Acta Cytol.*, 29(5), 683-691.
- Sieper, J., Kingsley, G., Palacios-Boix, A., Pitzalis, C., Treharne, J., Hughes, R., Keat, A., Panayi, GS., 1991, Synovial T lymphocyte-specific immune response to *Chlamydia trachomatis* in Reiter's disease, *Arthritis Rheum.*, 34(5), 588-598.
- Smith, JS., Munoz, N., Herrero, R., Eluf-Neto, J., Ngelangel, C., Franceschi, S., Bosch, FX., Walboomers, JM., Peeling, RW., 2002, Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papilloma virus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and Philippines, *J Infect Dis.*, 1, 324-331.
- Sozio, J., Ness, RB., 1998, Chlamydial lower genital tract infection and spontaneous abortion, *Infect Dis Obstet Gynaecol*, 6, 8-12.
- Stephens, RS., 2003, The cellular paradigm of chlamydial pathogenesis, *Trends Microbiol.*, 11(1), 44-51.
- Stephens, RS., Lammel, CL., 2001, Chlamydia outer membrane protein discovery using genomics, *Curr Opin Microbiol.*, 4, 16-20.
- Stephens, RS., Kalman, S., Lammel, C., Fan, J., Marathe, R., Aravind, L., Mitchell, W., Olinger, L., Tatusov, RL., Zhao, Q., Koonin, EV., Davis, RW., 1998, Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: *Chlamydia trachomatis*, *Science*, 282(5389), 754-759.
- Stephens, RS., 1994, Molecular mimicry and *Chlamydia trachomatis* infection of eukaryotic cells, *Trends Microbiol.*, 2(3), 99-101.
- Su, H., Raymond, L., Rockey, DD., Fischer, E., Hackstadt, T., 1996, A recombinant *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein binds to heparan sulfate receptors on epithelial cells, *Proc Natl Acad Sci.*, 93, 11143-11148.
- Subtil, A., Dautry-Varsat, A., 2004, Chlamydia: five years A.G. (after genome), *Curr Opin Microbiol.*, 7, 85-92.
- Syrjanen, K., Mantyjarvi, R., Vayrynen, M., Castren, O., Yliskoski, M., Saarikoski, S., 1985, Chlamydial cervicitis in women followed-up for human papillomavirus (HPV) lesions of the cervix uteri, *Acta Gynecol Obstet Scand.*, 64(6), 467-71.
- Tamim, H., Finan, RR., Sharida, HE., Rashid, M., Almawi, WY., 2002, Cervicovaginal coinfections with Human Papilloma Virus and *Chlamydia trachomatis*, *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 43, 277-281.
- Taylor-Robinson, D., Thomas, BJ., 1991, Laboratory techniques for the diagnosis of chlamydial infections, *Genitourin Med.*, 67, 256-266.

- Taylor-Robinson, D., Thomas, B.J., 1980, The role of *Chlamydia trachomatis* in genital-tract and associated diseases, J Clin Pathol., 33, 205-233.
- Tiitinen, A., Surcel, H.M., Halttunen, M., Birkelund, S., Bloigu, A., Christiansen, G., Koskela, P., Morrison, S.G., Morrison, R.P., Paavonen, J., 2006, *Chlamydia trachomatis* and chlamydial heat shock protein 60-specific antibody and cell mediated responses predict tubal factor infertility, Hum Reprod., 131(2), 299-303.
- Tipples, G., McClarty, G., 1993, The obligate intracellular bacterium *Chlamydia trachomatis* is auxotrophic for three of the four ribonucleoside triphosphates, Mol Microbiol., 8(6), 1105-1114.
- Toye, B., Laferriere, C., Claman, P., Jessamine, P., Peeling, R., 1993, Association between antibody to chlamydial heat-shock protein and tubal infertility, J Infect Dis., 168(5), 1236-1240.
- Vandahl, B.S., Birkelund, S., Christiansen, G., 2004, Genome and proteome analysis of Chlamydia, Proteomics, 4, 2831-2842.
- Villegas, H., Pinon, M., Shor, V., Karchmer, S., 1991, Electron microscopy of *Chlamydia trachomatis* infection of the male genital tract, Arch Androl., 27(2), 117-126.
- Vilppula, A.H., Yli-Kerttula, U.I., Selander, K.K., Terho, P.E., 1983, Urogenital involvements in female sexual partners of males with Reiter's syndrome, Clin Rheumatol., 2(4), 339-345.
- Wallin, K.L., Wiklund, F., Luostarinen, T., Angstrom, T., Anttila, T., Bergman, F., Hallmans, G., Ikaheimo, I., Koskela, P., Lettinen, M., Stendahl, U., Paavonen, J., Dillner, J., 2002, A population-based prospective study of *Chlamydia trachomatis* infection and cervical carcinoma, Int J Cancer., 101, 371-374.
- Watson, E.J., Templeton, A., Russell, I., Paavonen J., Mardh, P.E., Stary, A., Pederson, B.S., 2002, The accuracy and efficacy of screening tests for *Chlamydia trachomatis*: a systematic review, J Med Microbiol., 51, 1021-1031.
- Welsh, L.E., Quinn, T.C., Gaydos, C.A., 1997, Influence of endocervical specimen adequacy on PCR and direct fluorescent-antibody staining for detection of *Chlamydia trachomatis* infections, J Clin Microbiol., 35(12), 3078-3081.
- Witkin, S.S., 1999, Immunity to heat shock proteins and pregnancy outcome, Infect Dis Obstet Gynecol., 7, 35-38.
- Witkin, S.S., Ledger, W.J., 1992, Antibodies to *Chlamydia trachomatis* in sera of women with recurrent spontaneous abortions, Am J Obstet Gynecol., 167(1), 135-139.

www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_attach.asp

www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_devcycle.asp

www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_devreg.asp

www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_eb.asp

www.chlamydiae.com/docs/biology/persist_ifng.asp

www.chlamydiae.com/images/gifs6dec00/ctattach2.gif

www.chlamydiae.com/images/gifs6dec00/endeblathrin.gif

www.chlamydiae.com/images/rbinclusion.gif

www.chlamydiae.com/images/rosettesdiagram.gif

www.mamma.com/Mamma_pictures?qtype=48&query=chlamydia+trachomatis+AND+cell+wall

Wyrick, PB., Knight, ST., Paul, TR., Rank, RG., Barbier, CS., 1999, Persistent Chlamydial envelope antigens in antibiotic-exposed infected cells trigger neutrophil chemotaxis, *J Infect Dis.*, 179, 954-966.

Zhang, JP., Stephens, RS., 1992, Mechanism of *C. trachomatis* attachment to eukaryotic host cells, *Cell.*, 69(5), 861-869.

zur Hausen, H., 1987, Papilloma viruses in human cancer, *Appl Pathol.*, 5(1), 19-24.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Dilek Özdağ
Doğum yeri : Solothurn-İsviçre
Doğum yılı : 25.06.1980
Medeni Hali : Bekar
Uyruğu : TC
Yabancı Dil : İngilizce
E-mail : dilekozdag@yahoo.com

EĞİTİM DURUMU

İlkokul

1986-1991 Alparslan İlkokulu, Samsun

Ortaokul

1991-1994 İlkadım İlköğretim Okulu, Samsun

Lise

1994-1998 Tülay Başaran Anadolu Lisesi, Samsun

Lisans

1999-2003 Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Ankara

Yüksek Lisans

2003-2006 Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Genel Biyoloji Sitoloji Bilim Dalı), Ankara

AKADEMİK AKTİVİTELER

1. Yayınlar ve Sunumlar

1.1. Ulusal hakemli dergilerdeki yayınlar:

1. Özdağ D., Demirezen, Ş., Beksaç, M.S., 2005, *Chlamydia trachomatis*'in Genel Özellikleri, Tanı Yöntemleri, Tedavisi ve Rutin PAP Simirlerinin Tanıdaki Önemi, Klinik Bilimler & Doktor, 11(3), 337-342.

1.2. Sözlü Sunumlar

1. Demirezen, Ş., Beksaç, M.S., Hasçelik, G., Mocan, G., Küçükali, T., Kaya, D., Korkmaz, E., Özdağ, D., "Cervical Cancer Screening in Turkey", 47th Annual Meeting of Japanese Society of Clinical Cytology, 9-11 Haziran 2006, Yokohama, Japonya.

1.3. Posterler

1. Demirezen Ş., Beksaç M.S., Safi Z., Kaya D., Korkmaz E., Özdağ D., "Trichomoniasis ve Candidiasis Olgularının Serviko-vajinal Örnekleriyle Sitolojik Olarak Değerlendirilmesi" I. Tıbbi Biyolojik Bilimler Kongresi IV. Tıbbi Biyolojik Bilimler Öğrenci Sempozyumu 4-5 Ocak 2005, İstanbul.
2. Demirezen Ş., Beksaç M.S., Safi Z., Kaya D., Korkmaz E., Özdağ D., "Bakteriyel Vajinoz'un Servikal ve Vajinal Yaymalarla Sitolojik Olarak İncelenmesi" I. Tıbbi Biyolojik Bilimler Kongresi IV. Tıbbi Biyolojik Bilimler Öğrenci Sempozyumu 4-5 Ocak 2005, İstanbul.
3. Demirezen Ş., Özdağ D., Us D., Beksaç M.S., "Erken Dönem Gebelik Kayıpları ve *Chlamydia trachomatis* ilişkisi" Fetal Tıp; Prenatal Tanı 2005 Kongresi 30 Nisan- 2 Mayıs 2005, Antalya.
4. Demirezen Ş., Beksaç M.S., Özdağ D., Kaya D., Korkmaz E., "Rahim İçi Araç Kullanımı ve Kandidiyazis İlişkisi" 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi 3-6 Mayıs 2005, Konya.
5. Demirezen Ş., Kaya D., Korkmaz E., Özdağ D., Beksaç M.S., "Menopoz Hastalarına Ait Serviko-Vajinal Yaymaların Kandida Açısından Değerlendirilmesi" 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi 3-6 Mayıs 2005, Konya.
6. Demirezen Ş., Korkmaz E., Kaya D., Özdağ D., Beksaç M.S., "Kandida Hücre Morfolojileri ve Vajinal Akıntı Arasındaki İlişki" 4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi 3-6 Mayıs 2005, Konya.

7. Özdağ, D., Demirezen, Ş., Beksaç, M.S., “Rutin Servikal ve Vajinal Yaymalarda *Chlamydia trachomatis*'in Araştırılması” 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, Kuşadası.

2. Kongreler, Kurslar

1. Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü tarafından düzenlenen “**17. Ulusal Biyoloji Kongresi**”, 21-24 Haziran 2004, Adana.
2. BIOMED 2004, “**II. International Biomedical Science and Technology Days**”, September 6-10 2004, Ankara
3. GATA Biyokimya ve Klinik Biyokimya AD. İle Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD. Başkanlıkları tarafından düzenlenen “**II. Ulusal HPLC ve Diğer Separasyon Teknikleri Sempozyumu**”, 07-09 Ekim 2004, Ankara.
4. Tıbbi Biyologlar Derneği ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı tarafından düzenlenen “**I. Tıbbi Biyolojik Bilimler Kongresi IV. Tıbbi Biyolojik Bilimler Öğrenci Sempozyumu**”, 4-5 Ocak 2005, İstanbul.
5. Leica Microsystem tarafından düzenlenen “**Basic Imaging and Image Processing Application including; Leica IM 50 Image Manager, DM Operation (LAS Software)**” kursu, 28 Mart 2005, Ankara.
6. Fetal Tıp ve Perinatoloji Derneği'nin Fetal Tıp; Prenatal Tanı Çalışma Grubu tarafından düzenlenen “**Fetal Tıp; Prenatal Tanı 2005 Kongresi**”, 30 Nisan- 2 Mayıs 2005, Antalya.
7. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri kapsamında düzenlenen “**Araştırma ve Yayın Etiği**” kursu, 6 Mayıs 2005, Ankara.
8. GATA Biyokimya ve Klinik Biyokimya AD. tarafından düzenlenen “**Moleküler Yaşlanma Çalıştayı**”, 21-22 Kasım 2005, Ankara.
9. Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü tarafından düzenlenen “**18. Ulusal Biyoloji Kongresi**” 26-30 Haziran 2006, Aydın.