

**İNSAN SERVİKO-VAJİNAL YAYMALARINDA SİTOLOJİK VE
MİKROBİYOLOJİK YÖNTEMLERLE *ACTINOMYCES*'İN
ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF *ACTINOMYCES* IN HUMAN CERVICO-
VAGINAL SMEARS THROUGH CYTOLOGICAL AND
MICROBIOLOGICAL METHODS**

DİLEK KAYA

Hacettepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
BİYOLOJİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

2005

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 Demirezen

Üye :
Prof. Dr. M. Turan Akay

Üye :
Prof. Dr. Cevat Ayvalı

Üye :
Prof. Dr. Emir Cansunar

ONAY

Bu tez/..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

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

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

çok sevdiğim aileme,

İNSAN SERVİKO-VAJİNAL YAYMALARINDA SİTOLOJİK VE MİKROBİYOLOJİK YÖNTEMLERLE *ACTINOMYCES*'İN ARAŞTIRILMASI

Dilek Kaya

ÖZ

Bu çalışmada 200 hastaya ait serviko-vajinal örnek hem sitolojik hem de mikrobiyolojik olarak *Actinomyces* açısından incelenmiştir. İncelenen bu 200 örneğin altısına (% 3) sitolojik, yedisine (% 3.5) mikrobiyolojik ve birine (% 0.5) de hem sitolojik hem de mikrobiyolojik olarak *Actinomyces* tanısı verilmiştir. Yapılan istatistiksel incelemelerde *Actinomyces* tanısı açısından bu iki yöntem arasında anlamlı bir ilişki olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$).

Sitolojik inceleme için alınan serviko-vajinal örnekler Papanicolaou boyama yöntemine göre boyanıp sitolojik bulgular açısından değerlendirilmiştir. *Actinomyces* saptanmış yaymalarda, bazı *Actinomyces*'lerin yüzeysel epitel hücreleri ile bağlantı kurarak onlara tutunduğu, bu tutunma noktalarında epitel hücrelerinin zarında kalınlaşmalar meydana geldiği saptanmıştır. İncelediğimiz yaymalarda *Actinomyces*'in epitel hücreleri yanı sıra eritrosit ve polimorfonükleer lökositlere de tutunduğu gözlenmiştir. Ayrıca *Actinomyces* saptadığımız yaymalarda bol miktarda eozinofil lökosit görülmesi dikkatimizi çekmiştir. Bu bulgu istatistiksel açıdan da anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Yaymalarda *Actinomyces* yanı sıra *Trichomonas vaginalis*, *Candida* ve *Leptothrix* gibi diğer bazı patojen mikroorganizmalar da görülmüştür. Diğer bir bulgu olarak, *Actinomyces* varlığı ile Rahim İçi Araç (RİA) kullanımı arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Mikrobiyolojik inceleme için de anaerobik transport sistemi ile alınan serviko-vajinal örneklerin önce direkt yaymaları yapıp bu yaymalar gram ile boyanarak mikroskopik olarak incelenmiştir. Daha sonra anaerop organizmaların üremesi için kullanılan çeşitli besiyerlerine ekilen kültür örnekleri inkübe edilerek *Actinomyces* varlığı açısından incelenmiştir. Şüpheli görülen örnekler Crystal tanımlama sisteminde incelenerek yedi hasta mikrobiyolojik olarak *Actinomyces* pozitif bulunmuştur. Bunların dördü *Actinomyces viscosus*, ikisi *Actinomyces israelii*, biri ise *Actinomyces naeslundii* olarak tanımlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Actinomyces*, serviko-vajinal yayma, gram boyama, anaerobik kültür, Rahim İçi Araç (RİA)

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

INVESTIGATION OF *ACTINOMYCES* IN HUMAN CERVICO-VAGINAL SMEARS THROUGH CYTOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL METHODS

Dilek Kaya

ABSTRACT

Cervico-vaginal smears of 200 patients were examined whether it includes *Actinomyces* by both cytological and microbiological methods in this study. Among these 200 samples, cytologically six (3 %), microbiologically seven (3.5 %), both cytologically and microbiologically one (0.5 %) of them were diagnosed as having *Actinomyces*. In statistical analyses, it was found that there was not a significant association between these methods in respect of diagnosing *Actinomyces* ($p>0.05$).

Cervico-vaginal smears taken for cytological examination were stained by Papanicolaou method and investigated in terms of cytological findings. In smears with *Actinomyces*, it was detected that some of *Actinomyces* adhere to superficial epithelial cells and membrane thicknesses on the epithelial cells were observed in these attachment regions. In these smears, it was observed that *Actinomyces* adhere to polymorphonuclear leucocytes (PMNL) and erythrocytes besides epithelial cells. Moreover, it was detected abundant eosinophil leucocytes in smears with *Actinomyces* which was considered statistically reasonable ($p<0.05$). In addition to *Actinomyces*, other pathogen microorganisms such as *Trichomonas vaginalis*, *Candida* and *Leptothrix* were observed in the smears. The other finding is that there was a statistically significant correlation between the presence of *Actinomyces* and the usage of intrauterine device (IUD) ($p<0.05$).

For microbiological examination, initially, cervico-vaginal samples taken by anaerobic transport system were spread out, stained by Gram method and examined microscopically. Then samples were inoculated several media and incubated anaerobically in respect of detecting subsistence of *Actinomyces*. Media supposed to be *Actinomyces* were examined with Crystal identification system and seven patients were diagnosed as *Actinomyces*-positive. Among these seven patients, four *A. viscosus*, two *A. israelii* and one *A. naeslundii* were detected in sequence.

Key Words: *Actinomyces*, cervico-vaginal smear, gram stain, anaerobic culture, Intra Uterine Device (IUD).

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

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleőtirilmesinde yardım ve desteğini hiç bir zaman esirgemeyen değerli tez danıőmanım Prof. Dr. Şayeste DEMİREZEN'E içtenlikle teşekkür ederim.

Araştırma kapsamına alınan hastalardan sitolojik ve mikrobiyolojik örneklerin alınmasında yardımlarını esirgemeyen Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. M. Sinan BEKSAÇ'A, Aile Planlama Ünitesi'nde alıőan Gülay Hemőtire Hanım'a, mikrobiyolojik yöntemin gerekleőtmesinde büyük katkısı olan Sayın Prof. Dr. Gülően HASÇELİK ve Sayın Dr. Serpil ERCİŐ'E çok teşekkür ederim.

Bu alıőma süresince, beni her konuda destekleyen ve hiç bir zaman yalnız bırakmayan canım arkadaőtım Emine Korkmaz'a, bana her zaman yardımcı olan Dr. Zehra Safi'ye ve yine çok sevdiğim arkadaşlarım Orkide Dirlik, Dilek Özdağ ve Ayőegül Küçük'e, bilgisayar ile ilgili bütün sorularımı sabırla cevapladıkları için Emre Tamer ve Haydar Metin'e, "abstract'ın düzeltilmesindeki yardımları ve desteği için de Sedat Yıldız'a çok teşekkür ederim.

Ve en önemlisi manevi desteklerini hep üzerimde hissettiğim CANIM AİLEME her zaman yanımda oldukları için sonsuz teőekkürler...

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. <i>Actinomyces</i> 'in Tanımı.....	4
2.2. <i>Actinomyces</i> 'in Tarihçesi.....	4
2.3. <i>Actinomyces</i> 'in Sınıflandırılması.....	5
2.4. <i>Actinomyces</i> Türlerinin Biyolojik Özellikleri.....	6
2.4.1. Morfolojileri.....	6
2.4.2. Hücre yapıları.....	7
2.4.3. Beslenmeleri.....	10
2.4.4. Üremeleri.....	12
2.4.5. Doğal yaşama ortamları.....	12
2.5. İnsanlarda Aktinomikoz Neden Olan Türler.....	13
2.5.1. <i>Actinomyces israelii</i>	13
2.5.2. <i>Actinomyces naeslundii</i>	14
2.5.3. <i>Actinomyces odontolyticus</i>	14
2.5.4. <i>Actinomyces viscosus</i>	16
2.5.5. <i>Actinomyces meyeri</i>	16
2.6. <i>Actinomyces</i> 'in Patojenitesi.....	16
2.7. Aktinomikoz'un Tanımı.....	20
2.7.1. Pelvik aktinomikoz.....	24
2.7.1.1. Pelvik aktinomikozun klinik belirtileri.....	27
2.7.1.2. Pelvik aktinomikozun epidemiyoloji.....	27
2.8. Tanı Yöntemleri.....	28
2.8.1. Sitolojik yöntem.....	28
2.8.1.1. Papanicolaou simirlerinde <i>Actinomyces</i> 'in tanısı.....	29
2.8.2. Histokimyasal yöntem.....	30
2.8.3. Mikrobiyolojik yöntem.....	31
2.8.3.1. Gram boyama yöntemi.....	31
2.8.3.2. Anaerobik kültür yöntemi.....	31
2.8.4. İmmünfloresan boyama yöntemi.....	33
2.8.5. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi.....	34
2.9. Pelvik Aktinomikozun Tedavisi.....	34
3. YÖNTEM ve GEREÇLER.....	37
3.1. Klinik Verilerin Elde Edilmesi.....	37
3.2. Sitolojik İnceleme İçin Örneklerin Alınması ve Hazırlanması.....	37

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (Devam ediyor)

Sayfa No

3.3.	Mikrobiyolojik İnceleme İçin Örneklerin Alınması.....	38
3.3.1.	Anaerobik sistemden besiyerlerine ekim yapılması.....	38
3.3.2.	Direkt yaymaların incelenmesi.....	40
3.3.3.	Kültürlerin değerlendirilmesi.....	41
3.3.4.	Bakterilerin tanımlanması.....	42
3.4.	İstatiksel Analiz.....	46
4.	SONUÇLAR	48
4.1.	Serviko-vajinal Örneklerin Sitolojik Yöntemle İncelenmesi ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	48
4.2.	Serviko-vajinal Örneklerin Mikrobiyolojik Yöntemle İncelenmesi ve İstatistiksel Olarak Değerlendirmesi.....	58
4.3.	Serviko-vajinal Örneklerde pH Ölçümü ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	59
4.4.	<i>Actinomyces</i> Pozitifliği Açısından Sitolojik ve Mikrobiyolojik Yöntemlerin Karşılaştırılması.....	59
4.5.	Klinik Bilgiler ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	60
5.	TARTIŞMA	67
	KAYNAKLAR DİZİNİ	76
	ÖZGEÇMİŞ	86

KISALTMALAR DİZİNİ

PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RİA	Rahim İçi Araç
NAMA	N-asetil muramik asit
NAGA	N-asetil glukoz amin
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
ATP	Adenozin-tri-fosfat
CO ₂	Karbon dioksit
SEM	Scanning Elektron Mikroskobu
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
Gal/GalNAc	Galaktoz/N-asetil galaktozamin
PİH	Pelviğin İltihabi Hastalığı
TAH+BSO	Total Abdominal Histerektomi ve Bilateral Salpingooferektomi
PAS	Peryodik Asit Schiff
BHIA	Brain Heart Infusion Agar
DNA	Deoksiribonükleik asit
rRNA	ribozomal Ribonükleik asit
O ₂	Oksijen
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1.	<i>Actinomyces</i> türlerinin difteroidal (merkez kısım) ve filamentöz (çevrede) formlarının birlikte görünümü.....	7
Şekil 2.2.	<i>Actinomyces odontolyticus</i> kültürlerinde baskın olan kokobasiller yapının görünümü.....	7
Şekil 2.3.	Gram pozitif bakterilerde hücre duvarının yapısı.....	8
Şekil 2.4.	<i>Actinomyces israelii</i> 'ye ait pililerin elektron mikroskopik görünümü.....	9
Şekil 2.5.	Hematoksilen eozin ile boyanmış doku örneklerinde sülfür granüllerinin görünümü.....	22
Şekil 2.6.	Papanicolaou-simirlerinde <i>Actinomyces</i> 'in görünümü.....	29
Şekil 2.7.	Gram boyama yöntemine göre boyanmış bir yaymada <i>Actinomyces israelii</i> 'nin görünümü.....	31
Şekil 2.8.	BHIA denilen besiyerinde üretilen <i>Actinomyces</i> kolonilerinin görünümü.....	32
Şekil 2.9.	<i>Actinomyces israelii</i> 'nin immunfloresan mikroskopik görünümü.....	33
Şekil 4.1.	Merkezde koyu mor renkte filamentlerden oluşmuş detay görülemeyen kısım (ok) ile çevrede ışınal doğrultuda uzanan hiflerden oluşmuş (ok başı) <i>Actinomyces</i> -benzeri organizma (Papanicolaou X 500).....	51
Şekil 4.2.	Hif benzeri yapıları ile epitel hücrelerine (E) tutunmuş (ok) <i>Actinomyces</i> (A) (Papanicolaou X 500).....	51
Şekil 4.3.	<i>Actinomyces</i> -benzeri organizma hifleri (h) ile epitel hücre (E) zarındaki tutunmada (ok) epitel hücre zarındaki kalınlaşmalar (ok başı) görülmektedir (Papanicolaou X 500).....	52
Şekil 4.4.	Bir <i>Actinomyces</i> -benzeri organizma (A) ile eritrosit ve PMNL arasındaki tutunmayı gösteren 28 yaşındaki hastaya ait serviko-vajinal yayma örneği (Papanicolaou X 500).....	52
Şekil 4.5.	Koyu pembe renkte granülleri (g) ve iki loblu çekirdeği (c) olan eozinofil lökosit ve bir kısmı eozinofil lökosit zarına tutunmuş (ok) olan eritrositler (e) görülmektedir (Papanicolaou X 1250).....	53

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam ediyor)

Sayfa No

- Şekil 4.6.** Akt (+) olan 33 yaşındaki hastaya ait serviko-vajinal örnekte çok bol laktobasiller (ok), bir epitel hücresi (E) ve PMNL'ler görülmektedir (Papanicolaou X 500).....53
- Şekil 4.7.** Akt (+) hasta örneğinde alana dağılmış olarak bol miktarda kokobasiller (ok), epitel hücresi (E) ve PMNL'ler görülmektedir (Papanicolaou X 500).....54
- Şekil 4.8.** Dört makrofaj (1,2,3,4) bir araya gelerek adeta bir rozet yapısı oluşturmuş grup halinde makrofajlarla (A) fagosite ettiği bir cisimcik adeta lizize uğramış gibi görülen fagositik bir makrofaj (B) görülmektedir. Her bir makrofajın köpüklü sitoplazması içindeki fagosite edilmiş PMNL'ler (ok) ve diğer farklı cisimciklerin (ok başı) bulunuşu dikkati çekmektedir (Papanicolaou X 500).....54
- Şekil 4.9.** Akt (+) olan 32 yaşındaki hastanın serviko-vajinal örneğinde metaplastik hücre grubu (M) ve PMNL'ler görülmektedir (Papanicolaou X 500).....55
- Şekil 4.10.** Çekirdek etrafında sitoplazması lizize uğramış bir epitel hücresi (ok) (koilostotik hücre) (Papanicolaou X 500).....55
- Şekil 4.11.** Akt (+) olan hasta örneğinde *Trichomonas vaginalis*'ler (ok), alana dağılmış koklar (ok başı), epitel hücreleri (E), PMNL'ler ve iki çekirdekli (binükleasyon, Bn) epitel hücresi görülmektedir (Papanicolaou, X 500).....56
- Şekil 4.12.** Kandidal hif (H) (ok başı) ve blastosporlar (ok) ile PMNL'ler görülmektedir. (Papanicolaou X 1250).....56
- Şekil 4.13.** Epitel hücreleri (E) arasında grup halinde (ok başı) ve tek tek (ok) *Leptothrix*'ler görülmektedir (Papanicolaou, X 500).....57
- Şekil 4.14.** Gram boyama yöntemine göre boyanan direkt yaymalarda gram pozitif, kıvrık basiller formda *Actinomyces*'ler görülmektedir (Gram, X1250).....65
- Şekil 4.15.** Schaedler katı besiyerinde üreyen kuru ve kabarık *Actinomyces* kolonileri (ok) görülmektedir.....66

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. <i>Actinomyces</i> cinsine ait bazı türler.....	15
Çizelge 3.1. Morfolojik olarak <i>Actinomyces</i> 'e benzeyen Gram pozitif basillerle <i>Actinomyces</i> 'in bazı biyokimyasal özellikleri.....	47
Çizelge 4.1. Akt (+) ve Akt (-) hastaların (n=200) sitolojik bulgulara ait istatistiksel verileri.....	50
Çizelge 4.2. Mikrobiyolojik inceleme aşamasında örneklerle uygulanan yöntemler sonucunda elde edilen sonuçlar.....	61
Çizelge 4.3. Crystal tanımlama sistemi sonucunda teşhis edilen mikroorganizmalar.....	62
Çizelge 4.4. Gram boyama yöntemine göre boyanmış direkt yaymalardaki mikroskopik bulgular (n=200).....	62
Çizelge 4.5. Sitolojik ve mikrobiyolojik olarak Akt (+) hastaların pH açısından değerlendirilmesi.....	63
Çizelge 4.6. <i>Actinomyces</i> pozitifliği açısından sitolojik ve mikrobiyolojik yöntemlerin karşılaştırılması.....	63
Çizelge 4.7. 200 hastanın, mikrobiyolojik ve sitolojik olarak Akt (+) hastaların yaş aralıkları ve yaş ortalamaları.....	63
Çizelge 4.8. Hastaların jinekolojik şikayetlere göre değerlendirilmeleri.....	64
Çizelge 4.9. Hastaların klinik bilgilere göre değerlendirilmeleri.....	65

1. GİRİŞ

Actinomyces türleri gram pozitif, filamentöz büyüme ve dallanma gösteren bakterilerdir (Sandin et al., 1993; Evans, 1993; Fiorino, 1996). Geçmişte bu organizmalar, dallanmış morfolojileri ve miçelyal görünüşleri nedeniyle fungal organizmalar olarak sınıflandırılmalarına rağmen, ökaryotik organizmalarda bulunan mitokondri ve çekirdek zarının bu organizmalarda bulunmaması nedeniyle prokaryotik bakteriler olarak sınıflandırılmışlardır (Petronne et al., 1999).

Actinomyces türlerinin en belirgin özellikleri pleomorfik olmalarıdır. Bu nedenle, filament, çubuk, kok ve hatta spiral gibi çeşitli mikroskobik görünümlere sahiptirler. Bununla birlikte, çubuk şeklindeki yapılar diğer mikroskobik görünümlere göre daha baskındır. Hareketsiz ve aside dirençli olup spor oluşturmazlar. Oksijen toleransları farklılık göstermekle birlikte, bütün türler karbondioksit ihtiyacı duyarlar (Wilson and Miles, 1964a).

Orofarinks ve gastrointestinal sistemin normal flora elemanı olan *Actinomyces* türlerinin, son yıllardaki yayımlarda kadın genital sisteminin de normal flora elemanı olduğu bildirilmektedir. *Actinomyces israelii*, insanlardan alınan örneklerden ilk izole edilen türdür ve aktinomikozdan sorumlu olan en yaygın tür olarak kabul edilmektedir (Chaudhry and Greenspan, 2000). Aktinomikozu neden olan diğer *Actinomyces* türleri ise *A. odontolyticus*, *A. meyeri*, *A. naeslundii* ve *A. viscosus* 'tur (Gorisek et al., 1999; Chaudhry and Greenspan, 2000). Bu türlerin de ağızda, gastrointestinal sistemde ve abdominal duvarda aktinomikoz oluşturdukları bildirilmektedir (Feiter and Soeters, 2001).

Actinomyces türlerinin neden olduğu enfeksiyona aktinomikoz denir (Wilson and Miles, 1964a). Aktinomikoz, insanlarda ilk kez 1878 yılında Israel tarafından tanımlanmış olup (Lippes, 1999; Feiter and Soeters, 2001), *Actinomycetacea* familyasında yer alan anaerobik bakterilerin neden olduğu kronik, cerahatli ve fistül oluşumuna neden olabilen ve yayılabilen bir hastalıktır (Gorisek et al., 1999; Petronne et al., 1999; Koshiyama et al., 1999; Scribner et al., 2000; Chaudhry and Greenspan, 2000; Feiter and Soeters, 2001). Aktinomikozun yaş, cinsiyet, mevsim

veya sosyo-ekonomik durumdan etkilenmeyen bir hastalık olduğu belirtilmektedir (Jacobs ve Schutze, 2000). Aktinomikozun başlıca üç klinik şekli vardır. Bunlar oral-servikofasiyal aktinomikoz, torasik aktinomikoz ve abdominal aktinomikozdur (Karaarslan, 1999). Bununla birlikte, özellikle Rahim İçi Araç (RIA) kullanan kadınlarda ve daha az sıklıkta RIA kullanmayan kadınlarda da pelvik aktinomikoza rastlanmaktadır (Nayar et al., 1985; Sukcharoen and Witoonpanich, 1992; Evans, 1993; Fiorino, 1996). Serebral, kutanöz ve yayılmış aktinomikoz ise oldukça seyrek görülmektedir (Chaudhry and Greenspan, 2000).

Actinomyces türlerinin patojenite ve virulans faktörleri tam olarak anlaşılammış olmasına rağmen, bu türlerin patojenik etkilerini vajinal epitelyal hücrelere tutunarak ve/veya bazı toksinleri salarak gösterdikleri rapor edilmiştir (Sukcharoen and Witoonpanich, 1992; Evans, 1993; Fiorino, 1996). Bakterilerin konakçı hücrelere yapışması, patojenite için ilk ve en önemli basamaktır. Bu yapışmada hücre duvarında bulunan yüzey fibrillerinin önemli rol oynadığı bildirilse de, bu olayın biyolojik mekanizması tam olarak anlaşılammıştır (Figdor et al., 1997). Toksinlerin ise bakterileri, konakçı immün sisteminden koruduğuna inanılmaktadır. Bazı toksinlerin bakteriyi fagositozdan korumak için konakçı makrofaj ve nötrofillerine zarar verdiği, bazılarının da nötrofil ve monositlerin bakteriosidal (bakteriyi öldürücü etkisini) aktivitesini inhibe ettiği düşünülmektedir (Jost et al., 2002). Düşük redoks potansiyeli ve oksijen azlığı da anaerobik olan *Actinomyces* türlerinin patojenitesinde önemli rol oynamaktadır (Williams et al., 1990).

Aktinomikoza genellikle tanı zamanında konamamakta ya da yanlış tanı verilmektedir. Bir çok vakada doğru tanı cerrahi işlemde sonra verilebilmektedir. Doğru tanı ve dolayısıyla doğru tedavi ile hastalığın oldukça iyi bir prognoz gösterdiği belirtilmektedir (Beier and Rusnak, 1997). Aktinomikozun tanısında, genellikle lezyonlardan alınan irin, balgam, vajinal akıntı, fistül içeriği ya da doku biyopsi örnekleri incelenmektedir (Karaarslan, 1999). Alınan bu örnekler sitolojik, mikrobiyolojik ve moleküler biyolojik pek çok yöntem kullanılarak aktinomikoz tanısı verilmektedir. Mikrobiyolojik olarak tanı verilirken genellikle hem gram boyama yöntemine göre boyanan preparatlar mikroskopik olarak incelenmekte hem de alınan örnekler çeşitli besiyerlerine ekilerek anaerobik olarak inkübe edilmekte ve varsa *Actinomyces* türleri saptanabilmektedir. Bununla birlikte,

Actinomyces türleri bakteriyel kontaminasyon, yetersiz kültür teknikleri ve antibiyotik kullanımı gibi çeşitli nedenlerle aktinomikoz vakalarının ancak yaklaşık yarısında görülebilmektedir (Chaudhry and Greenspan, 2000; Scribner et al., 2000). Sitolojik yöntemde ise alınan örnek Papanicolaou boyama yöntemine göre boyanıp ışık mikroskopik olarak incelenmektedir. *Actinomyces* türlerinin mikroskopik inceleme ile saptanması, kültürde üretilmesi zor ve bazen imkansız olduğu için, son yıllarda bu bakterilerin erken, duyarlı ve özgül tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) önem kazanmıştır. Bu amaçla enfeksiyon etkeninin herhangi bir gen bölgesi klinik bir örnekten çoğaltılarak hastalık tanısı konabilmektedir. Böylece doğru yapılacak tür tayini ile etkin antibiyotik kullanımı ve etkin bir tedavi sağlanmış olacaktır (Öner, 2002).

Aktinomikozun etkili bir şekilde tedavi edilmesi diğer hastalıklarda olduğu gibi erken ve doğru bir şekilde teşhis edilmesine bağlıdır. Antibiyotik, tedavinin ilk aşaması olarak kabul edilmektedir ve bunun için genellikle penisilin kullanılmaktadır. Klindamisin, eritromisin, tetrasiklin ve kloramfenikol kullanılan diğer antibiyotiklerdir. Antibiyotik tedavisinin süresi hastalık bölgesine ve hastalığın şiddetine göre farklılık göstermektedir. Cerrahi operasyonda ise genellikle apseler boşaltılmakta, nekrotik doku alınmakta ve sinüsler çıkarılmaktadır (Chaudhry and Greenspan, 2000). Bir çok vakada cerrahi operasyon ile ilaç tedavisi birlikte uygulanmaktadır (Feiter and Soiters, 2001).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda genellikle RİA kullanımı ile *Actinomyces* görülmesi arasındaki ilişki araştırılmış ve bu amaçla çoğunlukla immünfloresan ve kültür yöntemleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada ise, *Actinomyces* hem sitolojik hem de mikrobiyolojik olarak araştırılmış , *Actinomyces* varlığında görülen klinik şikayetler ve hücresel değişiklikler tespit edilmiş ve mikrobiyolojik aşamada da tür tayinine gidilmiştir. Ayrıca *Actinomyces* tanısında sitolojik ve mikrobiyolojik yöntemler karşılaştırılmıştır. *Actinomyces* gibi tanısı zor olan ve rutin olarak test edilmeyen organizmaların teşhisinde bir kaç yöntemin birlikte yürütülmesinin yararlı olacağı sonucuna gidilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Actinomyces*' in Tanımı

Actinomyces türleri gram pozitif, filamentöz büyüme ve dallanma gösteren anaerobik veya mikroaerofilik bakterilerdir (Sandin et al., 1993; Evans, 1993; Fiorino, 1996). Ayrıca aside-dirençli değildirler, hareketsizdirler ve spor oluşturmazlar (Schaal, 1974; Slack, 1984).

2.2. *Actinomyces*'in Tarihçesi

Aktinomikoz terimi ilk kez 1877 yılında Bollinger tarafından sığırlarda, odun gibi sert ve şişkin bir dil veya çenenin iç (fusiform) şeklinde büyümesi ile karakterize bir hastalık için kullanılmıştır. Bu hastalığın çok sayıda granüler veya duta benzeyen opak, sarımsı cisimlerden oluşan lezyonlarının fungus içerdiği görülmüştür. Botanikçi Harz bu organizmaların gerçek birer küf olduğuna karar vermiş ve ışınsal fungus veya *Actinomyces bovis* olarak adlandırmıştır. Benzer bir mikotik hastalık insanlarda 1878 yılında Israel tarafından tanımlanmıştır. 1891 yılında Bostroem sığırlarda 7 aktinomikoz vakasında aerobik, pigmentli ve dallanma gösteren filamentöz bir organizma izole etmiştir. Aynı yıl Wolf ve Israel insanlardaki 2 vakadan aldıkları örnekte benzer şekilde dallanmış bir organizma bulmuşlardır, fakat bu organizmanın anaerobik ve pigmentsiz olduğunu tespit etmişler ve *Actinomyces israelii* olarak adlandırmışlardır (Wilson and Miles, 1964a).

Sonraki yıllarda, *Actinomyces*-benzeri organizmalar insanlarda ve hayvanlarda çeşitli hastalıklardan izole edilmiştir. Bu hastalıkların bir kısmında organizmalar ışınsal yapıda koloniler oluştururken, diğer kısımlardakiler ışınsal yapıda olmayan ve granüllerin oluşmadığı miçelyumlar oluştururlar. Klinik olarak bu hastalıkların hepsi aktinomikoz terimi altında gruplandırılır. Fakat bazı yazarlar sadece ışınsal yapıda koloni oluşturan organizmaların neden olduğu hastalıkları aktinomikoz olarak sınıflandırmayı tercih etmişlerdir (Wilson and Miles, 1964a; Karaarslan, 1999).

2.3. *Actinomyces*'in Sınıflandırılması

Latince de aktino ışın, mykes ise fungus veya mantar anlamına gelmektedir. *Actinomyces*'ler filamentöz gelişimleri nedeniyle miçelyal koloniler meydana getirdiklerinden ve fungusların neden olduğu kronik, subkutanöz, granülamatöz apselere neden olduklarından uzun süre fungi olarak kabul edilmişlerdir. (Gupta, 1982; Kobayashi, 1990; Petrone et al., 1999; Najjar, 2002; Feiter ve Soeters, 2001). Bununla birlikte, bu mikroorganizmaların temel biyolojik özellikleri belirlendikçe bakteri olarak sınıflandırılmaları konusunda görüş birliğine varılmış ve literatürde bakteri olarak yer almaya başlamışlardır.

Actinomyces'lerin bakteri olarak kabul edilmelerinin nedenleri şöyle sıralanabilir (Gupta, 1982; Kobayashi, 1990; Karaarslan, 1999):

- 1- Prokaryotiktirler (Çekirdek zarları yoktur).
- 2- Filamentlerin uzunluğu 1 µm veya daha azdır. Fakat küflerin hif denilen karakteristik yapıları daha büyüktür.
- 3- Filamentler ince veya kalın basiller şeklinde segmentler halindedir.
- 4- Hücre duvarlarında küf ve mayalar için karakteristik olan kitin ve glukanlar yoktur.
- 5- Antifungal ilaçlardan etkilenmeyip, antibakteriyel ilaçlara duyarlıdırlar.
- 6- Hücre zarlarında steroller yoktur ve bu yüzden fungusidal antibiyotiklere karşı dirençlidirler.
- 7- Genetik rekombinasyon zigotlardan ziyade merozigotlar yoluyla gerçekleşir.
- 8- Anaerobik ve kemoorganotrofik formları bulunur.

Bu özellikleri düşünülerek, *Actinomyces*'lerin sınıflandırılması aşağıdaki gibidir (Cavalier-Smith, 2002; faculty.plattsburgh.edu):

Alem : Bacteria

Şube : Actinobacteria

Sınıf : Actinobacteria

Takım : Actinomycetales

Aile : Actinomycetaceae

Cins : Actinomyces

Tür : *Actinomyces israelii*

Actinomyces bovis

Actinomyces viscosus

Actinomyces pyogenes

Actinomyces naeslundii

Actinomyces denticolens

Actinomyces odontolyticus

Actinomyces howellii

Actinomyces meyeri

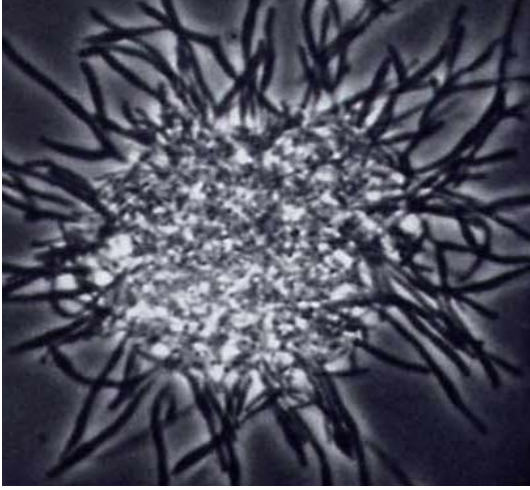
Actinomyces hordeovulneris

2.4. Actinomyces Türlerinin Biyolojik Özellikleri

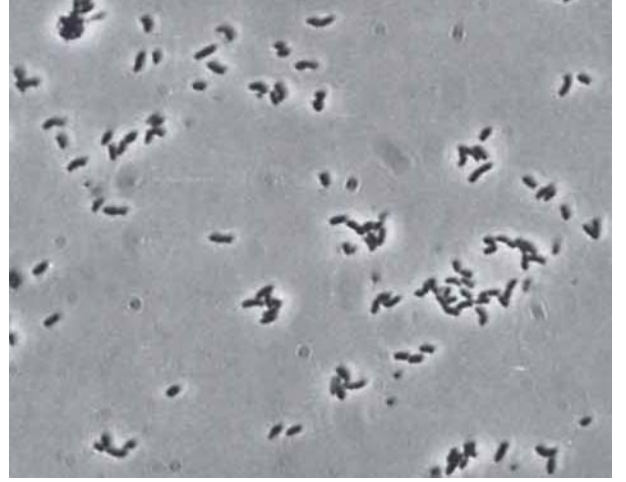
Actinomyces türlerinin biyolojik özellikleri morfolojileri, hücre yapıları, beslenmeleri, üremeleri ve doğal yaşama ortamları başlıkları altında incelenecektir.

2.4.1. Morfolojileri

Actinomyces türlerinin hücresel morfolojileri genellikle hem difteroidal hem de filamentöz olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.1). Filamentöz olanlarda, filamentler düz veya kıvrıktır ve farklı yönlerde dallanma gösterir. Bu filamentler, 1 µm kadar genişlikte ve 10-50 µm kadar uzunluktadır. Filamentöz olmayanların elektron mikroskopik görünümünün, bazılarının uç kısımları şişkin olmakla birlikte (difteroidal), çeşitli uzunluklarda olan basiller formdaki çubuklardan ibaret olduğu bildirilmiştir. Bu çubuklardan kısa olanlar 1.5-5.0 µm uzunluğundadır ve genellikle tek tek görülür. Daha uzun olan çubuklar ise 5.0-10.0 µm uzunluğundadır. *Actinomyces*'lerde filament ve çubuk oluşumunun, farklı *Actinomyces* türlerinde ve aynı türün farklı suşlarında farklılık gösterebileceği bildirilmektedir. Diğer bir form olan kokobasiller yapı ise *Actinomyces* türleri arasında yaygın olmamakla birlikte *Actinomyces odontolyticus* kültürlerinde baskın olan formdur (Şekil 2.2). Bu üç hücresel morfolojinin büyüme ortamına, kültür koşullarına veya kültür süresine göre değişebileceği bildirilmiştir (Overman and Pine, 1963; Duda and Slack, 1972; Lai and Listgarten, 1980). Çeşitli morfolojideki *Actinomyces* türleri Şekil 2.1 ve Şekil 2.2'de görülmektedir.



Şekil 2.1. *Actinomyces* türlerinin difteroidal (merkez kısmı) ve filamentöz (çevrede) formlarının birlikte görünümü (Schaal, 1974).



Şekil 2.2. *Actinomyces odontolyticus* kültürlerinde baskın olan kokobasiller yapının görünümü (Schaal, 1974).

2.4.2. Hücre yapıları

Hücre yapısı, iç ve dış olmak üzere iki bölümde incelenebilir.

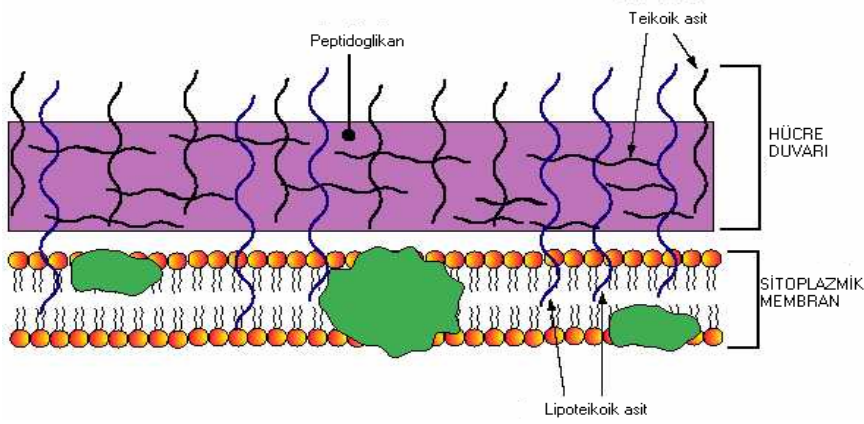
Dış Hücre Yapısı

Actinomyces'in dış kısmının, elektron mikroskopik görünümde, hücre duvarı ve hücre zarı olmak üzere iki tabakadan meydana geldiği görülmüştür (Schaal, 1974).

Hücre Duvarı: *Actinomyces*'lerde hücre zarının etrafını çeviren hücre duvarı, bakteriye şekil veren, selüloz içermeyen oldukça sert bir yapıdır. Yarı-geçirgen bir özelliğe sahiptir ve büyüklüğü 1 nm kadar olan molekülleri geçirebilir. Bu özellik sayesinde bakteri içinde sentezlenen ekzo-enzimler ve metabolizma artıkları dışarı verilebilmektedir. Elektron mikroskopla yapılan çalışmalarda, hücre duvarı ile hücre zarı arasında periplazmik bir boşluğun bulunmadığı tespit edilmiştir (Şekil 2.3) (Arda, 1985; Jawetz et al., 1974; Akman, 1977).

Actinomyces gibi Gram-pozitif bakterilerde, hücre duvarının % 50-90'ını peptidoglikan (murein) tabakası oluşturur ve bu madde hücre duvarının sağlamlık ve sertliğini sağlar. Peptidoglikan, N-asetil muramik asit (NAMA) ile N-asetil glukoz amin (NAGA) moleküllerinin birbirlerini takip eden sıralar halinde, beta-1,4 glikozid

bağları ile birleşmesinden oluşan bir heteropolimerdir. NAMA molekülüne ayrıca kısa bir peptit yan zinciri bağlanmıştır (Arda, 1985). Bu yan zincir; alanin, glutamik asit ve lizinden meydana gelmiştir ve 2,6-diaminopimelik asit içermez. Alanin ve glutamik asidin önemli bir miktarı, bunların D izomerleri halindedir (Jawetz et al., 1974; Akman, 1977). Bir NAMA molekülünde bulunan tetra peptidin 3 pozisyonundaki L-lizin ile, diğer NAMA molekülünün 4 pozisyonundaki D-alanin arasında pentapeptid bağı kurulmasıyla iki NAMA molekülü birbiriyile çapraz birleşmiştir (Arda, 1985).



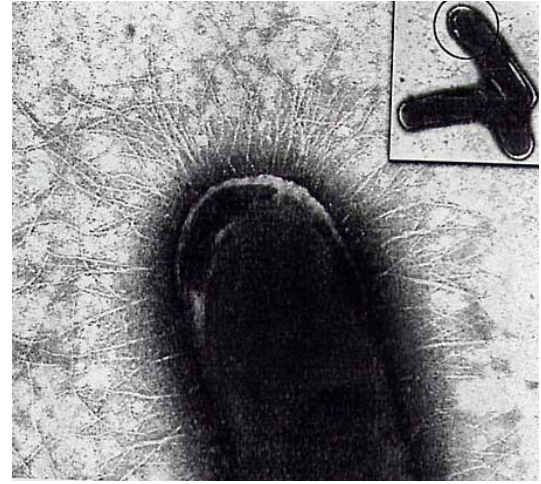
Şekil 2.3. Gram pozitif bakterilerde hücre duvarının yapısı (www.arches.uga.edu/~dlg/gm-ve.gif)

Gram-pozitif mikroorganizmalarda hücre duvarının kuru ağırlığının % 40-50'sini teikoik asit oluşturur ve peptidoglikan omurgasındaki NAMA molekülüne fosfodiester bağı ile bağlanır. Bu madde, hücre duvarının yüzeyinde bulunduğundan yüzey antijenini meydana getirir. Teikoik asit, Gram-negatif bakterilerde yoktur (Arda, 1985).

Actinomyces türlerinin hücre duvarları şekerler, amino şekerler ve bir kaç amino asitten oluşur. Hücre duvarı şekerleri glukoz, galaktoz, ramnoz, 6-deoksitaloz, fukoz ve mannozdur. *Actinomyces israelii*'nin hücre duvarında bulunan galaktoz ve *Actinomyces denticolens*'in hücre duvarında bulunan ramnoz bu organizmalar için tanımlayıcı bir özelliktir (Schaal, 1974).

Hücre zarı: Hücre zarı ise, sitoplazmayı sarar ve sitoplazma ile hücre duvarı arasında yer alır. Hücre zarının en önemli özelliği yarı-geçirgen olmasıdır. Sitokromlar da dahil olmak üzere, bakterilerin enzim sistemlerinin birçoğu bu zara yerleşmiştir. Hücre zarı, sıkı bir şekilde paketlenmiş bir lipoprotein tabakası halindedir. Çok az sayıda por içeren bu zarın suya ilgisi azdır. *Actinomyces* türlerinde hücre zarı elektron mikroskopik olarak trilaminar yapıdadır (Schaal, 1974; Arda, 1985). En dışta, proteinden yapılmış ve 2-3 nm kalınlığında olan elektron yoğun bir dış tabaka bulunur. Ortada lipid karakterinde şeffaf bir ara tabaka yer alır. En içte ise dış tabaka ile aynı yapıda bir iç tabaka bulunur (Arda, 1985).

Bazı *Actinomyces* türlerinin hücre duvarında yer alan diğer bir yapı piluslardır (yüzey fibrilleri). Sadece Gram-negatif mikroorganizmalarda bulunduğu düşünülen bu yapılar, son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı *Actinomyces* türlerinde, özellikle *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces israelii* de tespit edilmiştir (Figdor et al., 1997) (Şekil 2.4) . Piluslar, hareketli veya hareketsiz mikroorganizmalarda bulunur. Flagelladan farklı olarak daha kısa ve düzdürler. Ortası boş ve



Şekil 2.4. *Actinomyces israelii* 'ye ait pilusların elektron mikroskopik görünümü x 40.000 (Figdor et al., 1997)

İnce filamentöz yapıdaki bu oluşumlar hücreden dışarı doğru uzanırlar. Pilus proteini, birbirlerine sarmal şekilde birleşmiş protein alt birimlerinden oluşmuştur (Arda, 1985). Bu yüzey fibrilleri, organizmaların epitelyal hücrelere, polimorfonükleer lökositlere (PMNL), ağızda diş yüzeyine ve diğer bakterilere yapışmasında, birbirleriyle kümelenmelerinde ve eritrositleri aglütine etmelerinde önemli bir rol oynarlar (Schaal, 1974; Arda, 1985; Figdor et al., 1997). Yapılan çalışmalarda, bu yapışma ve kümelenme olaylarında piluslardan başka mekanizmaların da olduğu görülmüştür. *A. viscosus* ve *A. naeslundii* 'nin ürettiği

dekstran ve levan denilen polisakkaritlerin yapışma ile ilgili olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, düşük pH ile kümelenmenin arttığı ve kümelenme sırasında hücre yüzeyinde bir takım değişikliklerin olduğu tespit edilmiştir. *A. viscosus* T14V suşuna ait yapışma ve kümelenmeden sorumlu fibrillerinin yüksek moleküler ağırlıkta proteinlerle bazı karbonhidratlar ve % 14.3 oranında azottan oluştuğu bulunmuştur (Schaal, 1974).

Sitoplazma

Sitoplazma sıvı karakterde olup organik ve inorganik maddelerden oluşmuştur. Sitoplazma içinde çeşitli iyonlar, amino asit, protein, peptit, pürin, pirimidin, glukoz, riboz, vitamin, koenzim ve disakkaritler bulunur. Bunların bazıları öncül moleküller ve protein sentezinde kullanılacak yapıtaşları, bir kısmı enerji ve karbon kaynakları ve bir kısmı da metabolizma artıklarıdır (Arda, 1985). Ayrıca sitoplazmada etrafı zarla kaplı olmayan nükleoid denilen DNA içeriği de bulunmaktadır (Schaal, 1974).

Bütün *Actinomyces* türlerinin sitoplazmasında mezozom bulunur (Schaal, 1974). Mezozomlar, sitoplazmik zardan köken alarak sitoplazma içine doğru uzamış yapılardır ve çeşitli görevleri vardır. Bunlardan kromozomal replikasyon ve hücre bölünmesi başlıcalarıdır (Arda, 1985).

Büyüyen hücrelerin sitoplazmalarında yoğun bir şekilde paketlenmiş ribozomlar da bulunur. Ribozomların sayısı ve büyüklüğü türlere göre değişebilir (Arda, 1985).

2.4.3. Beslenmeleri

Actinomyces türlerinin büyümeleri için minimal beslenme gereksinimleri detaylı olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, iyi bir gelişme ya zengin bir biyolojik içeriğe sahip ya da çeşitli organik ve inorganik bileşikleri içeren karışık bir besiyerinde gerçekleşmektedir (Schaal, 1974).

Actinomyces türlerinin anabolik kapasiteleri sınırlıdır. Bu nedenle bu organizmalar, organik azota (peptitler ve/veya amino asitler), fermente edilebilen karbonhidrata,

vitaminlere ve diğere üreme faktörlerine (inositol) gereksinim duyarlar. Serum ilave edilen besiyeri bu organizmaların gelişimini arttırmaktadır. Pürinler, pirimidinler ve diğere büyüme faktörleri türlere göre ya stimülatör ya da inhibitör olarak davranabilmektedir. Örneğın, *A. israelii* 'nin bir suşu adenin ve timine gereksinim duyarken, diğere bir suşunun üremesi guanin, ksantin ve urasil bazlarından biri tarafından inhibe edilebilmektedir (Schaal, 1974).

Bakterilerin ihtiyaç duyduğu inorganik maddelerden biri de oksijendir ve oksijene olan gereksinimlerine göre aerobik, fakültatif, mikroaerofilik ve anaerobik olmak üzere dört bölüme ayrılırlar. *Actinomyces* türlerinin oksijen ihtiyaçları farklılık göstermektedir. *A. viscosus*, *A. naeslundii* ve *A. odontolyticus* fakültatif anaerop iken, *A. israelii* ve *A. bovis* anaerop şartlarda iyi ürerler. *A. meyeri* ise zorunlu anaeroptur. Oksijen toleranslarındaki bu farklılığa rağmen, bütün türlerin maksimum üreme için karbondioksit ihtiyacı duydukları bildirilmiştir. Optimum büyüme sıcaklığı ise 35-37 °C'dir (Schaal, 1974).

Actinomyces türleri fermentatif metabolizmaya sahip kemoorganotrofiklerdir (Schaal, 1974). Yani biyosentez olayları için gereksinim duydukları enerjiyi, organik maddeleri anaerobik şartlarda ayrıştırarak elde ederler. Fermentasyon genellikle çok yavaştır (Wilson and Miles, 1964a). Karbonhidratların fermentasyonu sonucu asit oluşmasına rağmen gaz oluşmaz. Glukoz fermentasyonunun son ürünleri formik asit, asetik asit, laktik asit ve süksinik asittir. Ayrıca, *Actinomyces*'in bazı türleri fruktoz, dekstrin, galaktoz, laktoz, maltoz ve nişasta gibi molekülleri de fermente edilebilmektedir. Fermentasyon sonucu üretilen ATP miktarı kültür koşullarına bağlıdır. Buchanan ve Pine yaptıkları çalışmada, CO₂ ilave ettikleri aerobik koşullarda *A. israelii* 'nin 1 mol glukozdan 4 mol ATP ürettiğini, buna karşın CO₂ 'siz anaerobik koşullarda sadece 2 mol ATP ürettiğini göstermişlerdir (Schaal, 1974).

Dışardan alınan karbonhidratların fermentasyonunda ve enerji elde edilen glikolitik yolda çeşitli enzimler rol oynamaktadır. *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. denticolens*'de glikolitik yolda görev alan α-galaktozidaz aktivitesi bulunmuştur. β-galaktozidaz

aktivitesinin tespit edildiği organizmalar ise *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. denticolens*, *A. pyogenes* ve *A. viscosus*' dur (Schaal, 1974).

Actinomyces türlerinin büyük bir kısmının proteolitik aktivite gösteremediği ve bu nedenle de *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus* türlerinin jelatini eritemediği ve keratini hidrolize edemediği saptanmıştır (Schaal, 1974).

2.4.4. Üremeleri

Scanning-elektron mikroskobu (SEM) ve immünfloresan tekniğine göre yapılan çalışmalarda, *Actinomyces* türlerinin üremeleri sırasında, yeni hücre duvarı materyalinin sadece hücrenin uç kısımlarında sentezlendiği ve zarın merkez kısmının değişmeden kaldığı tespit edilmiştir. Yeni duvar materyalinin bu şekildeki apikal sentezi ile hücreler veya filamentler, bir uçtan (unipolar) veya her iki uçtan (bipolar) büyüme gösterirler. Uzayan filamentler de daha sonra septum oluşumu ile ayrılır. Bu tip hücre bölünmesi için "ikiye bölünerek çoğalma" ifadesi yerine "tomurcuklanma" teriminin daha uygun olduğu düşünülmektedir. Çünkü, ikiye bölünerek çoğalan mikroorganizmalar *Actinomyces* türlerinden farklı olarak, yeni hücre duvar materyalinin ya tüm hücre duvarı boyunca ya da hücrenin merkez kısmında sentezlerler (Schaal, 1974).

2.4.5. Doğal yaşama ortamları

Actinomyces türleri insanlarda en çok ağız boşluğunda, gastrointestinal sistemde ve seyrek olarak kadın genital sisteminde saptanmışlardır (Hansen, 1989; Sandin et al., 1993; Cleghorn ve Wilkinson, 1989). Ancak ağız boşluğunun *Actinomyces* cinsi üyelerinin başlıca doğal yaşama ortamı olduğu bildirilmiştir (Persson et al., 1983). Yapılan çalışmalarda bağırsak florasında *Actinomyces* türlerine normal flora elemanı olarak rastlanmamıştır. Fakat, abdominal aktinomikoz vakaları ve *Actinomyces israelii* 'nin apandisitli hastalardan büyük oranda izole edilmesi, bu organizmaların doğal ortamlarının dışında geçici olarak intestinal mukozada da gelişebileceğini (geçici epifit) düşündürmüştür (Persson ve Holberg, 1984b). *Actinomyces* türlerinin, genital sistemin normal flora elemanı olup olmadığı konusunda da literatürde farklı görüşler tespit edilmiştir. Persson ve arkadaşları

yaptıkları bir çalışmanın sonucunda bu organizmaların kadın genital sisteminde bulunan komensal bir organizma olduğuna karar vermişlerdir (Persson et al., 1983). Anaerobik tanı yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda ise *Actinomyces*'in sağlıklı kadınların genital florasının bir elemanı olduğuna karar verilmiştir (Persson ve Holmberg, 1984b; Lippes, 1999; Gorisek et al., 1999). Ayrıca *Actinomyces* türleri prostat, böbrek ve karaciğer gibi organlardan da izole edilmişlerdir (Kumar et al., 1990).

2.5. İnsanlarda Aktinomikoza Neden Olan Türler

Actinomyces cinsine ait tanımlanan 10 tür vardır (Schaal, 1974; Hillier and Mancló, 1991). Bu türlerin yaşadıkları yerler ve neden oldukları hastalıklar Çizelge 2.1'de gösterilmiştir. Bu tezde ise insanlarda hastalık meydana getiren 5 tür hakkında detaylı bilgi verilecektir.

2.5.1. *Actinomyces israelii*

Actinomyces israelii 'yi ilk tanımlayan Prof. James Israel'dir ve israelii tür ismi de buradan gelmektedir (Schaal, 1974). *Actinomyces israelii* 'nin normal yaşama ortamı tonsiller kriptler ve dental plağı da içeren ağız boşluğudur. Ayrıca, bu tür insan gastrointestinal ve kadın genital sistemindeki mukozal yüzeylerden de izole edilmiştir (Schaal, 1974).

Actinomyces israelii; insan serviko-fasiyal, torasik, ve abdominal aktinomikozlarının başlıca etkenidir. Ayrıca, konjuktivit ve dakrosistit gibi göz enfeksiyonlarına ve RİA veya vajinal tampon kullanan kadınlarda servisit ve endometrit gelişimine neden olabilir. Sülfür granüllerinin oluşumu bu mikroorganizmanın neden olduğu enfeksiyonların tanısı için çok tipiktir (Schaal, 1974).

2.5.2. *Actinomyces naeslundii*

Bu organizmayı ilk tanımlayan bilim adamı Carl Naeslund olduğu için bu türe *Actinomyces naeslundii* denmiştir. İnsanlarda ağız boşluğunun normal flora elemanıdır ve RIA kullanan veya kullanmayan kadınların serviko-vajinal salgılarında da bulunabilir (Schaal, 1974).

İnsanlarda genellikle servikofasiyal, torasik ve abdominal aktinomikotik lezyonlara neden olur ve klinik olarak *A. israelii* 'nin neden olduğu lezyonlardan ayırt edilemez. Göz enfeksiyonları ve kadın genital sistem enfeksiyonlarından izole edildikleri de rapor edilmiştir. Diş çürükleri ve periodontal hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynarlar (Schaal, 1974).

Serumlu, kanlı ve zenginleştirilmiş besiyerlerinde ürerler. Fakültatif anaerob bir bakteri olup diğer *Actinomyces* türlerinden farklı olarak üreaz aktivitesine sahiptirler (Schaal, 1974).

2.5.3. *Actinomyces odontolyticus*

Actinomyces odontolyticus insan ağız boşluğunun başlıca flora elemanıdır. Bu organizma nedeniyle insanlarda aktinomikotik enfeksiyonlar nadir olarak görülmektedir. Ancak periodontit denilen diş eti iltihaplarına ve göz enfeksiyonlarına neden olurlar (Schaal, 1974).

Actinomyces odontolyticus kolonileri opak ve gri-beyaz renktedir. Diğer türlerden farklı olarak kanlı agarda 5-10 günlük anaerobik inkübasyon sonunda koloniler genellikle koyu kırmızı görülür (Schaal, 1974).

Çizelge 2.1. *Actinomyces* cinsine ait bazı türler

Tür	Yaşadığı yer	Neden olduğu hastalıklar
<i>Actinomyces israelii</i>	İnsan ağız boşluğu, tonsiller kriptler, dental plak, gastrointestinal ve kadın genital sistemi	Serviko-fasiyal, torasik, abdominal aktinomikoz; göz enfeksiyonları; servisit, endometrit
<i>Actinomyces naeslundii</i>	İnsanlarda ağız boşluğu; serviko-vajinal salgı	serviko-fasiyal, torasik, abdominal aktinomikoz; göz enfeksiyonları; genital sistem enf.
<i>Actinomyces viscosus</i>	İnsan ağız boşluğu; konjuktiva, kornea; serviko-vajinal salgı	Periodontal hastalık; göz enfeksiyonları; servisit, endometrit
<i>Actinomyces meyeri</i>	İnsan periodontal sulcus	Beyin ve diğer bazı vücut bölgelerinde apse oluşumu
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	İnsan ağız boşluğu	Aktinomikoz (nadir); göz enfeksiyonları
<i>Actinomyces bovis</i>	Sığır ve diğer hayvanların ağız boşluğu	Sığırlarda aktinomikoz
<i>Actinomyces pyogenes</i>	Sıcak kanlı hayvanlar	Piyojenik hastalık
<i>Actinomyces denticolens</i>	Sığır ağız boşluğu	Hastalık oluşturmaz.
<i>Actinomyces howellii</i>	Sığır ağız boşluğu	Hastalık oluşturmaz.
<i>Actinomyces hordeovulneris</i>	Bilinmiyor.	Köpeklerde peritonit.
<i>Actinomyces meyeri</i>	İnsan periodontal sulcus	Beyin ve diğer bazı vücut bölgelerinde apse oluşumu

2.5.4. *Actinomyces viscosus*

Latincede viscosus yapışkan anlamındadır. Bu türün tanı açısından önemli bir özelliği diğer *Actinomyces* türlerinden farklı olarak katalaz pozitif olmasıdır (Schaal, 1974). İnsanlarda ağız boşluğu bu türün başlıca doğal yaşama ortamıdır. Dental plak ve diş taşlarından izole edilebilmektedirler. Bu tür, RİA kullanan ya da kullanmayan kadınların serviko-vajinal salgılarından ve gözde konjunktiva ve korneadan da izole edilmiştir. Bu nedenle RİA kullanan kadınlarda servisit ve endometrit ile bazı göz enfeksiyonlarının etkenidirler. Bu türün seyrek de olsa servikofasiyal ve abdominal vakalardan da izole edildiği bildirilmiştir (Schaal, 1974).

2.5.5. *Actinomyces meyeri*

Bu organizmayı ilk kez Kurt Meyer yeni bir anaerobik Streptothrix olarak keşfetmiştir ve meyeri tür ismi buradan gelmektedir (Schaal, 1974). *Actinomyces meyeri*, *Actinomyces* cinsine ait özelliklerin tümünü içermez ve diğer *Actinomyces* türlerinden farklı bazı özellikleri vardır. Diğer türlerde görülen dallanmış yapıyı bu organizmalarda görmek zordur. Hücreler genellikle daha kısadır. Fakat, büyüme için gerekli bazı maddeler eksikse uzun zincirler veya dallanma göstermeyen kıvrık filamentöz formlar saptanabilir (Schaal, 1974).

İnsanda periodontal sulkusta bulunurlar. Beyin apseleri ve pleural sıvıdan ve daha az sıklıkta serviko-fasiyal bölge apselerinden, kalça, el ve ayaktan izole edilirler (Schaal, 1974).

2.6. *Actinomyces*'in Patojenitesi

İnsan ve diğer homiootermik hayvanların mukozal yüzeylerinin normal flora elemanı olan *Actinomyces* türlerinin nasıl hastalık oluşturdukları tam olarak aydınlatılamamıştır (Karaarslan, 1999). Bazı yazarlar, *Actinomyces* türlerini konakçıya zarar vermedikleri için gerçek parazit olarak kabul etmemişlerdir. Buna karşın bazı yazarlar da, iltihabi doku cevabı ile enfeksiyona neden oldukları için bu organizmaları parazit olarak tanımlamışlardır. Konakçı hücreler tarafından fagosite

edilebilmelerine rağmen hayatta kaldıklarından, *Actinomyces* türlerini fakültatif intraselüler parazit olarak karakterize eden yazarlara da rastlanmıştır (Najjar, 2002). Ayrıca, literatürde aktinomikoz fırsatçı bir enfeksiyon olarak tanımlanmasına rağmen (Beier and Rusnak, 1997), son yıllarda AIDS'li hastalar arasında yaygın olmadığı için aktinomikozun fırsatçı bir enfeksiyon olmadığını bildiren makaleler de bulunmuştur (Najjar, 2002).

Actinomyces türleri, normal koşullarda hasar görmemiş mukozal bariyerleri geçemezler. Fakat, yabancı cisim, neoplazi ve diabetes mellitus gibi herhangi bir nedenle doku tahribatı oluştursa veya doku oksijen potansiyeli azalırsa fırsatçı enfeksiyonlar gelişebilir (Williams et al., 1990; Fiorino, 1996; Beier and Rusnak, 1997; Petrone et al., 1999; Scribner et al, 2000; Feiter ve Soeters, 2001; Najjar, 2002). Bakteriler üremeye başladıktan sonra dokuyu kolaylıkla tutabilirler. Böylece enfeksiyon doku yüzeyine yayılır ve sonuçta doku fibrosisine, abdominal bölgede ve diğer organlarda apselere neden olur (Sandin et al., 1993).

Son yıllarda *Actinomycetacea* familyasında yer alan anaerobik bakterilerle yapılan çalışmalarda bu organizmaların yapışma özelliklerinin patojenitede önemli ölçüde rol oynadığı bildirilmektedir (Guzman et al., 1990; Jost et al., 2002). *Actinomyces*'ler taşıdıkları adeziv proteinlerle epitel hücrelerine, nötrofil lökositlere ve diğer mikroorganizmalara yapışabilmekte ve bunun yanı sıra nötrofil lökositlerin fagositik etkilerinden korunmak için de birbirlerine yapışabilmektedirler. Bu yapışmanın ilk aşamasının van der Waals ve elektrostatik kuvvetlerle gerçekleştiği rapor edilmiştir. Bu bağlanmaların da *Actinomyces*-konakçı hücre yüzeylerinin fizikokimyasal özellikleri nedeniyle özgül olmadığı ve geri dönüşümlü olduğu saptanmıştır. *Actinomyces* türleri negatif yüklüdür. Bu nedenle organik veya inorganik yüzeylere yaklaştıklarında itici elektrostatik güç gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu enerji bariyeri aşıldıktan sonra daha ileri ve geri dönüşümsüz bağlanmaların gerçekleştiği görülmüştür. Literatürde bu tür bağlanmaya, yüzey fibrilleri ile gerçekleşen lektin-reseptör bağlanması örnek olarak verilmiştir (Tang et al., 2004).

Epitel hücrelerine tutunmanın, epitel hücreleri ile bakterilerin yüzeyinde bulunan proteinler (adezinler) arasındaki etkileşim sonucu olduğu da rapor edilmiştir. Bakterilerin yüzeyinde bulunan proteinlerden bazılarının enfeksiyonda önemli rolleri

olduğu bilinmekle birlikte nöraminidaz gibi diğer proteinlerin ise önemli virülans faktörlerinden olduğu bildirilmiştir (Jost et al., 2002). Nöraminidazların hücre zarından sialik asidi uzaklaştırarak konakçı epitel hücrelerine tutunmayı arttırdığı saptanmıştır (Sandberg et al., 1986; Guzman et al., 1990; Taylor, 1996; Abrashev and Dulguerova, 2000). Yapılan bir çalışmada, *Actinomyces naeslundii* türünün piluslar aracılığı ile epitel hücrelerine tutunmasının nöraminidaz ile önemli derecede arttığı görülmüştür (Brennan et al., 1984; Jost et al., 2002). Benzer şekilde, insan yanak epitel hücreleri nöraminidaz ile muamele edildiğinde, *Actinomyces israelii* 'nin bu hücrelere tutunmasının arttığı saptanmıştır. Nöraminidazların mukus viskozitesini azaltabileceği ve böylece alt dokularda bakteriyel kolonizasyon şansının arttığı düşünülmüştür (Jost et al., 2002). Ayrıca, nöraminidazların hücre zar yapısını ve yüzey yükünü değiştirdiği, böylece hücre fizyolojisinde ve aktif kation transportunda değişikliğe neden olduğu ve bu değişikliklerin de patojenik süreci hızlandığı bildirilmiştir (Abrashev and Dulguerova, 2000). Çeşitli bakteriyel yüzey lektinlerinin de bakterilerin epitel hücrelerine tutunmasında görev aldığı bildirilmektedir (Sharon, 1987). Yapılan çalışmalarda epitel hücreleri ile bakteriler arasındaki bu etkileşimin laktoz, metil-beta-D-galaktosit ve N-asetil-D-galaktozamin tarafından engellendiği, fakat metil-alfa-D-galaktosit, sellobioz, N-asetil-D-glukozamin, L-fukoz veya D-mannoz ile inhibe edilemediği tespit edilmiştir (Brennan et al., 1984).

Actinomyces türlerinin epitel hücrelerine tutunmasında yüzey proteinleri dışında hücre duvarında bulunan pilusların da (hücre yüzey fibrilleri) önemli rol oynadığı saptanmıştır. Figdor ve Davies yaptıkları çalışmada, *Actinomyces naeslundii* ve *Actinomyces viscosus* türlerinin yüzeyinde bulunan pilusları yapışma özelliklerine ve moleküler yapılarına göre iki gruba ayırmışlardır. Tip 1 piluslarının görevinin ağızda diş yüzeyine bağlanmayı, Tip 2 piluslarının ise epitel hücrelerine, PMNL'lere ve diğer organizmalara yapışmayı sağladığını bildirmişlerdir (Figdor et al, 1997; Tang et al., 2004). Aynı çalışmada benzer yüzey fibrillerini *Actinomyces israelii* türünde de tespit etmişlerdir (Figdor et al., 1997). Bu hücre yüzey fibrillerinin sentezinde ve fonksiyonunda fim P ve fim A gibi çok sayıda genin de rol aldığı rapor edilmiştir (Cisar and Vatter, 1979; Yeung and Ragsdale, 1997; Halleberg et al., 1998; Li et al., 2001).

Actinomyces adezin proteinlerinin tanıdığı konakçı reseptörlerinin, sadece epitel hücrelerin yüzeylerinde olmadığı aynı zamanda PMNL gibi diğer hücre tiplerinin de üzerinde bulunabileceği bildirilmiştir (Ruhl et al., 2000) ve bir çok yayımda *Actinomyces* türlerinin PMNL'lere yapışabildikleri belirtilmiştir (Sandberg et al., 1988; Guzman et al., 1990; Sandberg et al., 1995; Ruhl et al., 2000; Jost et al., 2002). Bu yapışmanın, PMNL'ler üzerindeki reseptörlerin bazı *Actinomyces* türlerinin tip 2 fibrilleri ile bağlantılı galaktoz/N-asetil galaktozamin (Gal/GalNAc) gibi reaktif adezinleri (lektini) tanıması ile gerçekleştiği bildirilmiştir (Kurashima et al., 1991). Bu tanıma sonucunda PMNL'lerin aktive edilerek fagositozu ve bakteri ölümünü başlattıkları rapor edilmiştir (Mergenhagen et al., 1987; Sandberg et al., 1995; Ruhl et al., 2000). *Actinomyces* tarafından salgılanan nöraminidaz enziminin PMNL-*Actinomyces* bağlanması için de gerekli olduğu saptanmıştır (Sandberg et al., 1986; Ruhl et al., 2000). Bu enzimin fagositik hücreler üzerindeki fibriller lektin reseptörlerini açığa çıkararak etki gösterdiği tahmin edilmektedir. *Actinomyces* fibriller lektinlerinin PMNL'ler üzerindeki komplementer reseptörlerini tanımasının sadece bakterilerin ölümü ile sonuçlanmadığı aynı zamanda konakçı dokuları için zararlı reaktif oksijen aracı moleküllerinin ve bazı enzimlerin salınmasına da neden olduğu bildirilmiştir (Sandberg et al., 1986). Yapılan çalışmalarda, *Actinomyces*'lerin in vitro süspaniyonlarının PMNL'ler tarafından kolaylıkla fagosite edilebildiği ve etkili bir şekilde öldürüldüğü saptanmış olsa da bu organizmaların birbirleriyle yapışması sonucu oluşturdukları büyük kümeler sayesinde konakçı fagositik hücrelerinden kaçabildikleri bildirilmiştir. Figdor ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *Actinomyces israelii* türünü kobayların doku boşluklarına enjekte etmiş, ışık ve elektron mikroskobunda tipik aktinomikotik kolonilerin oluşumunu gözlemişlerdir. Bu çalışma ile, *Actinomyces israelii* 'nin ekstraselüler matriksi ağ gibi saran karakteristik yapışkan koloniler oluşturduğu ve böylece konakçı savunma sisteminden kaçabildiği sonucuna varmışlardır (Figdor et al., 1992).

Actinomyces türlerinin epitel hücrelerine, PMNL'lere ve birbirlerine tutunabildikleri gibi diğer bazı organizmalara da yapışabildikleri gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda *Actinomyces* türlerinin galaktoz spesifik yüzey lektinleri aracılığı ile bazı streptokoklara bağlanabildiği ve böylece mukozal yüzeyler üzerinde karışık koloniler oluşturabileceği saptanmıştır (Sharon, 1987). Bu karışık kolonilerde bulunan ve "kokontaminant" bakteriler olarak adlandırılan mikroorganizmalara

örnek olarak, *Fusobacterium* türleri, *Eikenella corrodens*, siyah pigmentli *Bacteroides* türleri, *Haemophilus* türleri ve çeşitli gram-negatif basiller verilebilir (Hillier and Moncla, 1991; Gorisek et al., 1999; Chaudhry and Greenspan, 2000). Bu mikroorganizmaların *Actinomyces* türlerinin konakçı hücrede enfeksiyon oluşturabilmesinde çeşitli rolleri olduğu bilinmektedir. Bunlardan biri, konakçı savunma mekanizmalarını inhibe ederek ve doku redoks potansiyelini ve oksijen miktarını azaltarak *Actinomyces* türlerinin daha kolay bir şekilde üremelerini sağlamak, bir diğeri de kollajen-eriten enzimleri (hyaluronidaz) salarak, *Actinomyces* türlerinin dokuları istila etmelerini (invazyonlarını) kolaylaştırmaktır (Wilson and Miles, 1964b; Gupta, 1982; Hillier and Moncla, 1991; Scribner et al, 2000; Yegüez et al., 2000; Najjar, 2002). *Actinomyces* türleri ve diğeri mikroorganizmalar arasındaki etkileşimlerin sinerjik olduğu da bildirilmektedir (Najjar, 2002). Bu sinerjik etkileşimde, farklı türlerin besin gereksinimleri ve metabolik son ürünlerinin aynı olmadığı ve hatta bir türün metabolik son ürününün diğeri türün besin maddesi olabileceği düşünülmektedir (Larsen, 1993).

Sonuç olarak, aktinomikotik enfeksiyonların patogeneğinde önemli olan faktörler şunlardır:

1. Dokuda meydana gelebilecek bir hasar, cerrahi travma ve diabet,
2. Konak savunmasında bozulma,
3. Oksidasyon-redüksiyon potansiyelinde azalma,
4. Diğeri mikroorganizmaların varlığı,
5. *Actinomyces* türlerine ait virulans faktörler,
 - a. Yapışma (Adherence),
 - b. Toksinler,
 - c. İnvazyon.

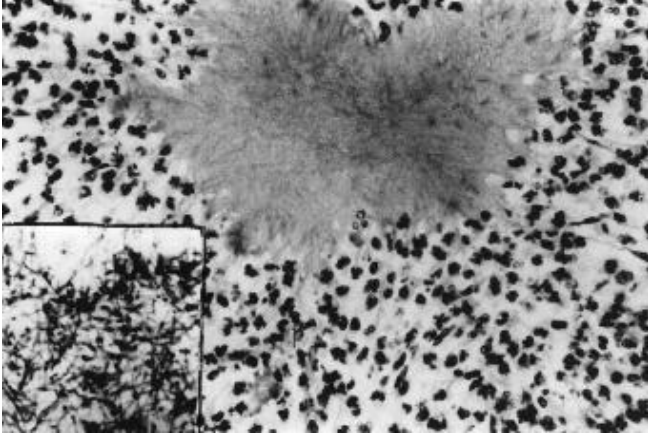
2.7. Aktinomikoz'un Tanımı

Actinomyces türlerinin canlılarda meydana getirdiği hastalığa aktinomikoz denilmektedir ve etken organizma çoğunlukla *Actinomyces israelii* 'dir. Bununla birlikte, diğeri *Actinomyces* türleri de tipik insan aktinomikotik lezyonlarından izole edilmiştir (Fiorino, 1996). Aktinomikoz endojen kaynaklıdır ve organizmanın normal florasındaki *Actinomyces*'ler çeşitli nedenlerle patojen hale geçerek kronik,

süpüratif ve granülamatöz bir hastalık oluşturabilirler (Persson et al., 1983; Sukcharoen ve Witoonpanich, 1992; Scribner et al, 2000; Wee et al., 2000; Chaudhry and Greenspan, 2000; Feiter ve Soeters, 2001).

Herhangi bir aktinomikotik lezyondan elde edilen pürülan akıntı içinde filamentöz yapıdaki *Actinomyces* kümelerinden ibaret sarımsı veya kahverengimsi renkte “sülfür granülleri” denilen partiküllerde (< 1 mm çapında), diğer çeşitli bakteriler ve bu mikrobiyal merkezi sarmış olan doku reaksiyon materyali de, özellikle PMNL, bulunur (Şekil 2.5) . Sülfür granülleri sülfür içermez ancak sarı renkte olduğu için bu isim verilmiştir. Bu sülfür granüllerinin, enfeksiyonun ileri aşamalarında, etken organizmalar tarafından salgılanan proteinin *Actinomyces* filamentlerine bağlanması ile oluştuğu bildirilmiştir. (Schaal, 1974; Sandin et al., 1993; Karaarslan, 1999; Scribner et al., 2000). Sülfür granülleri, aynı zamanda *Actinomyces* dışında *Nocardia*, *Streptomyces* ve bazı *Staphylococci*’ler tarafından da oluşturulmaktadır. Bu nedenle, sülfür granülleri aktinomikozun teşhisini sağlayan bir özellik olarak kabul edilmemektedir (Monif, 1982; Lee et al., 2001; Feiter ve Soeters, 2001). Bununla birlikte, sülfür granülü oluşturan diğer organizmaların morfolojik olarak ayırt edilebileceği de bildirilmiştir. Aktinomikozda granüllerin Gram-pozitif, aside dirençli olmayan organizmalar içerdiği tespit edilmiştir (Beier and Rusnak, 1997).

Aktinomikotik bir lezyondan yapılan yayma, boyanıp mikroskopta incelendiğinde sülfür granüllerinin dağınık bir filament kümesinden ibaret orta kısımdan çevreye doğru ışınsal biçimde uzanan filamentler ve bunların uçlarında topuz benzeri şişlikler görülür. Bu şişlikler hücre duvarında polisakkarit-protein kompleksi ve kalsiyum fosfat birikimi nedeniyle genişlemiş filamentlerden oluşur (Sandin et al., 1993; Karaarslan, 1999) ve konakçı-bakteri etkileşimine cevap olarak oluştuğu ve immünolojik bir savunma mekanizması olarak ortaya çıktığı düşünülür (Gupta, 1982; Beier and Rusnak, 1997).



Şekil 2.5. Hematoksilen eozin ile boyanmış doku örneklerinde sülfür granüllerinin görünümü (Chan et al., 1999).

Aktinomikoz, vücuttaki yerleşimine göre dört grup altında toplanır:

Oral ve servikofasiyal aktinomikoz, aktinomikozun en yaygın tipidir (Groves and Saltz, 1996; Nagler et al., 1997; Karaarslan, 1999; Scribner et al, 2000; Chaudhry and Greenspan, 2000; Najjar, 2002). Genellikle, diş çürüğü, diş çekilmesi, diğer oral cerrahi operasyonlar, çene kırılması veya diğer cerrahi olmayan travmalar sonucunda florada bulunan bakterilerin doku içine girmesi ile ortaya çıkar (Groves and Saltz, 1996; Karaarslan, 1999; Chaudhry and Greenspan, 2000; Feiter ve Soeters, 2001). Enfeksiyon sonucunda hastalarda mavimsi mor renkte yumuşak doku şişliklerinin, apse veya lezyonların oluştuğu bildirilmiştir (Karaarslan, 1999). Piyojenik apselerin oluşumu ile apseler arasında sinüsler oluşabilir ve olgularda hafif bir ağrı görülebilir. Çene kaslarının tutulması ile kasılma meydana gelebilir (Karaarslan, 1999). Aktinomikoz için en yaygın bölge perimandibular bölgedir. Bakterilerin kemiğe yayılması ile osteomyelit oluşabilir (Groves and Saltz, 1996) . Tanı erken konursa prognoz genellikle iyidir, fakat akciğer ve plevraya kadar yayılma görülebilir (Beier and Rusnak, 1997; Karaarslan, 1999).

Aktinomikoz vakalarının yaklaşık % 15'i de torakslarda meydana gelir (Groves and Saltz, 1996; Karaarslan, 1999; Najjar, 2002). Enfeksiyon etkeninin aspirasyonu veya serviko-fasiyal aktinomikozun genişlemesi pulmonar enfeksiyona neden olabilir. Belirtiler şiddetli ateş, göğüs ağrısı, kilo kaybı ve daha az sıklıkta

hemoptizidir (Groves and Saltz, 1996;Scribner et al, 2000). Göğüs duvarına bir fistülizasyon oluşmadıkça tanı vermek zordur (Karaarslan, 1999). Öksürük olabilir, eğer olursa pürülan bir tükürük oluşur. Klinik tablo ağrısız, yavaş ilerleyen bir süreçtir. Enfektif bölge tipik olarak, pulmonar parankima ve pleural boşluktur. Genel radyolojik görünüm ya kitle lezyonu ya da pneumonitistir. Enfeksiyon ilerledikçe, akciğer dokusu zedelenir, sinüsler oluşur ve enfeksiyon kaburga kemiğine veya omurgaya kadar yayılır. Sinüs yolları göğüs kafesine kadar genişleyebilir ve yumuşak doku kitleleri oluşabilir (Groves and Saltz, 1996). Torasik aktinomikoz; malignant hastalıklarla, tüberkülozla, nokardiyozla, histoplazmozla, blastomikozla, karışık anaerobik enfeksiyonlarla ve lenfoma ile karıştırılabilir (Groves and Saltz, 1996; Beier and Rusnak, 1997; Feiter ve Soeters, 2001).

Abdominal aktinomikoz ise herhangi bir akut apandisit, kolon divertikülü, balık kılçığı gibi bir yabancı cisim, peptik ülser veya midenin alınması sonucu meydana gelen perforasyonlar sonucunda ortaya çıkabilir. Abdominal aktinomikozda apandisit en yaygın tetikleyici olaydır ve çoğunlukla abdominal aktinomikoz vakalarının % 65'inden sorumludur (Groves and Saltz, 1996). Abdominal aktinomikoz genital bölgedeki aktinomikozun vajinadan serviks yoluyla yukarı çıkması sonucu, kan yoluyla yayılma sonucu ve torakstan yayılma sonucu da meydana gelebilir (Groves and Saltz, 1996; Muntinghe et al., 1999). Belirtiler; ateş, kilo kaybı, bağırsak habitatında değişiklik ve abdominal ağrıdır. Abdominal aktinomikoz, apseler veya doku altında oluşan lezyon şeklindeki kitleler ile karakterizedir. Perirektal ve perianal bölgelerde de tek veya çok sayıda apseler ve sinüs yapıları içeren aktinomikoz görülebilir. Enfeksiyon karaciğer, safra kesesi ve böbreği de sarabilir. Yapılan bir çalışmada hepatik enfeksiyon 122 abdominal aktinomikoz olgusunun 19'unda rapor edilmiştir. Bu olgularda tek veya çok sayıda apseler veya neoplaziyi anımsatan tipik lezyonlar görülmesine karşın karaciğer enzimlerinin normal bulunabileceği rapor edilmiştir (Groves and Saltz, 1996).

2.7.1. Pelvik aktinomikoz

Aktinomikozun yukarıda anlatılan üç çeşidine, 1980'li yıllarda giderek artan sayıda yapılan yayımlardan dolayı pelvik aktinomikoz denilen bir aktinomikoz çeşidi daha ilave edilmiştir (Gorisek et al, 1999; Cobellis et al., 2001). Pelvik aktinomikoz çoğunlukla RİA kullanan kadınlarda görülen enfeksiyon tipidir. Az da olsa abdominal aktinomikozun yayılmasıyla meydana gelebilir. Ayrıca kan yoluyla da yayılma sonucu görülebilir.

Pelvik aktinomikozun, histerektomi ve salpingo-ooforektomi gerektirebilecek kadar ciddi bir hastalık olduğu bildirilmiştir (Merki-Field et al.,2000). Çünkü, pelvik aktinomikozda oluşan lezyonların genellikle sağ ve sol uterin adnekslerde daha az oranda parametriumda ve çok nadir olarak da uterin korpus ve servikte görüldüğü rapor edilmiştir (Sukchaoren ve Witoonpanich, 1992). Uzun süre teşhis edilemeyen pelvik aktinomikozun, genellikle endometrit, salpingo-ooforit ve tubo-ovarian apselere neden olduğu saptanmıştır (Petronne et al., 1999). Normalde ağız ve bağırsak florasında bulunan *Actinomyces*'in genital florada bulunmasının Pelviğin İltihabi Hastalığının (PİH) oluşması için önemli bir risk faktörü olduğu rapor edilmiştir. Burkman ve ark. Papanicolaou-simirlerinde *Actinomyces* bulunan kadınlarda PİH görülme riskinin 3.6 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Tubo-ovarian apse oluşma yüzdesi ise *Actinomyces* ile enfekte kadınlarda % 87 iken, enfekte olmayan kadınlarda sadece % 28.9 olarak bildirilmiştir (Sukchaoren ve Witoonpanich, 1992). Tubo-ovarian apselerin büyük bir kısmının tek taraflı (unilateral) olduğu saptanmıştır. Apselerin tek taraflı oluş nedenini, enfektif organizmaların ovulasyonda patlamış korpus luteum üzerinde kolonize olmaları olarak açıklamışlardır (Gupta, 1982).

Pelvik aktinomikoz olgularında pek sık olmamakla birlikte servikal kitle oluşabileceği ve bu kitlenin klinik olarak servikal karsinoma ile karıştırılabileceği bildirilmiştir (Lo et al., 1997; Benkiran et al., 2002; Fox and Wells, 2003). Literatürde de pelvik aktinomikozun malignansiyi taklit ettiği ile ilgili raporlara rastlanmıştır (Trevino et al., 2003). Hoffman ve ark. aktinomikotik PİH'in ilerlemiş ovarian karsinoma ve servikal karsinomayı taklit ettiği iki vaka rapor etmiştir. Mikroskopik incelemede ise malignant hücrelerin saptanamadığı, sadece

retroperitoneal fibrosise rastlandığı bildirilmiştir (Hoffman et al., 1991). Perlow ve ark. ise büyük bir tubo-ovarian kitle, akciğer ve karaciğer nodülleri, ince ve kalın bağırsak invaziv kitleleri içeren yayılmış bir pelvik aktinomikoz olgusu rapor etmişlerdir (Perlow et al., 1991). Kirova ve ark. da sağ adneksinde büyük bir kitle tespit ettikleri hastalarına ovarian kanser tanısı verdiklerini, hastaya Total Abdominal Histerektomi ve Bilateral Salpingooferektomi (TAH+BSO) ameliyatı yaptıklarını, patolojik inceleme sonucu ise aktinomikoz tanısının verildiğini bildirmişlerdir (Kirova et al., 1997). *Actinomyces* türlerinin teşhisi zor olduğu için cerrahi bir işlemde önce aktinomikotik kitleleri malignan tümörden ayırt etmenin zor olduğu da bildirilmektedir (Koshiyama et al., 1999).

Bazı yazarlara göre, pelvik aktinomikoz, yayılmış veya ilerlemiş abdominal aktinomikozun az rastlanan farklı bir çeşididir (Monif, 1982; Williams et al., 1990; Sandin et al., 1993; Fiorino, 1996; Benkiran et al., 2002). Pelvik aktinomikoz, genital sisteme yakın bir bölgedeki sistemik bir hastalığın sekonder gelişmesi sonucu fallop tüplerini de tutarak başlayabilir. Bununla birlikte, 1980 yılında yapılmış bir çalışmada, RİA kullanan bir kadının Papanicolaou smearlerinde *Actinomyces*' e ek olarak normalde orofarinkste bulunan *Entamoeba gingivalis*'in de gözlenmesi, pelvik aktinomikoz gelişiminde orogenital geçişin de önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmüştür (Grice ve Hafız, 1983; Persson ve Holmberg, 1984a; Nayar et al, 1985; Fiorino, 1996). Yapılan bir çalışmada, orogenital temas hikayesinin 4 hastadan 3'ünde görülmesi oral boşluğun genital *Actinomyces* enfeksiyonunda muhtemel bir rezervuar olabileceğini düşündürmüştür (Gupta, 1982).

Pelvik aktinomikoz, seyrek olarak abdominal aktinomikozun sekonder yayılması sonucu oluşabileceği gibi, çoğunlukla RİA kullanımına bağlı olarak meydana gelmektedir (Gupta, 1982; Persson et al., 1983; Grice ve Hafız, 1983; Persson ve Holmberg, 1984b; Cleghorn ve Wilkinson, 1989; Sandin et al., 1993; Merki-Field et al., 2000; Scribner et al, 2000; Najjar, 2002). RİA kullanımında; RİA'nın iplik kısmının steril endometriyuma enfeksiyon taşımada aracı olması ve servikal mukus tıkacını bozması nedenleri ile enfeksiyon vajinadan endoserviks, endometriyuma, tüplere ve overlere geçmektedir (Gupta, 1982; Elhak, 1988; Scribner et al, 2000; Tsanadis, et al., 2002). RİA kullanımı ile *Actinomyces*

oluşumu konusu ile ilgili olarak farklı görüşler bulunmaktadır. Bunlardan birine göre RİA'nın takılması sırasında uterus delinir ve bu nedenle meydana gelen doku tahribatı *Actinomyces* patogeneğinde önemli bir yer tutar. Bir başka görüşe göre RİA takılmasını takiben vajinal pH artmakta ve vajinal florada bulunan anaerobik organizmalar sayıca artış göstermektedir (Kandil et al., 1983). Ayrıca, Valicenti RİA'nın endometriyumda fokal bir nekrozla birlikte hafif iltihabi bir cevap oluşturduğunu ve bu durumun *Actinomyces israelii* ve diğer anaerobik organizmaların gelişmesi için anaerobik ortam oluşturabileceğini ileri sürmüştür (Evans, 1993) .

RİA'nın takılması ile birlikte RİA ipliği nedeniyle uterus bakteriler ile yüz yüze gelmektedir (Fox and Wells, 2003). Bakteriler vajinadan servikse oradan da uterusa geçmektedir. Bu durum RİA'nın pelvik enfeksiyona neden olduğu hipotezini desteklemektedir.

RİA kullanan bayanlar arasında, *Actinomyces* görülme sıklığının, RİA'nın kullanım süresi ve tipi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Petitti et al., 1983; Lippes, 1999; Merki-Field et al., 2000). Pelvik aktinomikozlu hastaların % 85'nin üç yıldan fazla bir süredir RİA kullandıkları tespit edilmiştir (Gorisek et al., 1999; Robboy et al., 2002). Bazı araştırmacılar, farklı tip RİA'lar arasında, kolonizasyon oranında bir farklılık bulamamışken, bazıları plastik RİA'ların bakır RİA'lara kıyasla *Actinomyces* kolonizasyonuna daha fazla neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun da bakırın bakteriostatik etkisi nedeni ile olabileceğini belirtmişlerdir (Nayar et al., 1985; Evans, 1993; Chatwani and Amin-Hanjani, 1994). Zamanla RİA yüzeyinde büyük ve düzensiz kalsiyum, demir ve daha az oranda magnezyum depozitlerinin birikmesiyle yüzey bütünlüğünün bozulduğu belirtilmiştir (Kosonen, 1980; Gupta, 1982). Bazı çalışmalarda bu duruma bağlı olarak zamanla salınan bakırda yetersizlik ve dolayısıyla koruyucu etkide azalma oluşabileceği ileri sürülmüştür (El-Badrawi and Hafez, 1980). Buna karşın, bazı çalışmalarda RİA'nın üç yıl gibi normal süreler içinde kullanıldığı takdirde bakır salınımının yeterli düzeyde kaldığı gösterilmiştir (Kosonen, 1980) .

Pelvik aktinomikozun RİA kullanan bayanların yanı sıra kullanmayanlarda da görülmüş olması bu konunun önemini daha da arttırmıştır (Grice ve Hafız, 1983;

Petitti et al., 1983; Persson ve Holmberg, 1984b; Sukcharoen ve Witoonpanich, 1992; Evans, 1993).

2.7.1.1. Pelvik aktinomikozun klinik belirtileri

Kadınlarda pelvik organları tutan pelvik aktinomikoz genellikle asemptomatiktir. Petitti ve arkadaşlarının (1983) yaptıkları bir çalışmada, Papanicolaou simirlerinde *Actinomyces* tespit edilen kadınların % 90.5'inde hiçbir klinik belirtiyeye rastlanmamıştır (Petitti et. al., 1983).

Semptomatik kadınlarda en sık görülen klinik şikayetler ise abdominal ve pelvik ağrı, ateş, anemi, kusma, zaman zaman anormal vajinal kanama ile kilo kaybıdır (Stadel and Schlesselman., 1984; Sandin et al., 1993; Gorisek et el., 1999; Phupong et al., 2000). Kahverengi ve kötü kokulu vajinal akıntı da pelvik aktinomikoz vakaları için karakteristiktir (Nayar et al., 1985; Abadi and Abadi, 1996). Bununla birlikte, semptomatik kadınlarda görülen bu klinik şikayetlerin RİA nedeni ile olabileceği düşünülmektedir (Sandin et al., 1993). Ayrıca, literatürde pelvik aktinomikozun klinik belirtilerinin non-spesifik olduğu ve diğer iltihabi hastalıklarla karıştırılabileceği bildirilmektedir (Chaudhry and Greenspan , 2000).

2.7.1.2. Pelvik aktinomikozun epidemiyolojisi

Actinomyces türleri ağız ve bağırsak mukozasının normal flora elemanı oldukları için insan ve hayvan vücudunu içerden kuşatırlar ve insandan insana bulaşmazlar (Schaal, 1974). İnsana toprak ya da sudan geçmezler (Karaarslan, 1999). Aktinomikoz vakalarının büyük bir kısmı 15-35 yaş grubunda gözlenmiştir. Erkeklerde oral travmanın daha yoğun olması ve dental hijyenin zayıf olması nedeniyle kadınlardan 2-3 kat, kırsal kesimlerde ise şehir merkezlerinden 10 kat daha fazla sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir (Wilson and Miles, 1964b; Hillier and Moncla, 1991; Groves and Saltz, 1996; Beier and Rusnak, 1997; Feiter ve Soeters, 2001; Najjar, 2002).

Endojen kaynaklı olan bu enfeksiyondan korunmanın zor olduğu bildirilmektedir. Korunmada ağız temizliğinin sağlanması, ağız ve gastrointestinal cerrahi

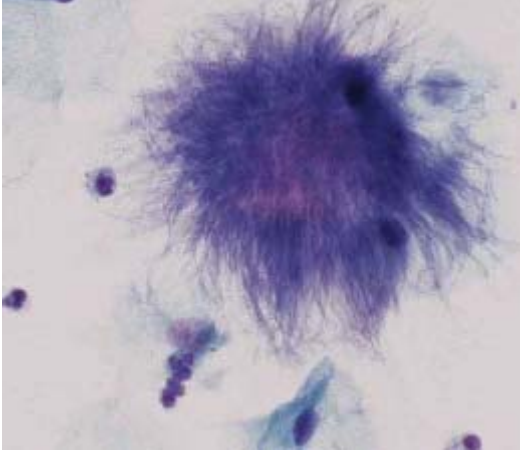
girişimlerinde ya da yaralanmalarında uygun bir antibiyotikle profilaksi yapılması tavsiye edilmektedir (Karaarslan, 1999).

2.8. Tanı Yöntemleri

Actinomyces türlerini tanımlamak, vajinada bulunan diğer filamentöz ve anaerobik bakteriler nedeniyle oldukça zordur (Persson ve Holmberg, 1984). Ayrıca bir çok fungal organizma klinik olarak aktinomikoza benzemekte, yanlış tanı konmakta ve buna bağlı olarak da yanlış tedavi uygulanmaktadır (Gupta, 1982). Bu nedenle, günümüze kadar bu organizmaları teşhis etmek için çeşitli teknikler kullanılmıştır. Tanı eğer mümkünse immersiyon mikroskobu, özel boyalar kullanılarak ve kültür yapılarak verilmelidir (Sandin et al., 1993).

2.8.1. Sitolojik yöntem

Actinomyces'i teşhis etmek için kullanılan tekniklerden biri, Papanicolaou boyama yöntemine göre boyanan serviko-vajinal yaymaların ışık mikroskopik olarak incelenmesidir. Papanicolaou ile boyanmış serviko-vajinal simirler, *Actinomyces* varlığının saptanması için elverişli ve hızlı bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Gupta, bu yöntemin % 98 oranında özgüllüğe ve % 94 oranında da hassasiyete sahip olduğunu bildirmiştir. Papanicolaou simirlerinin taranması, pelvik enfeksiyon riski olan hastaların erken dönemde fark edilmesini sağlamaktadır (Chatwani ve Amin-Hanjani, 1994). Literatürde, Papanicolaou simirleri ile ancak "*Actinomyces*-benzeri organizmaların" saptanabileceği ve bunların da deneyimsiz sitologlar tarafından *Lactobacillus*, *Nocardia*, *Leptothrix*, *Candida*, *Aspergillus* gibi organizmalarla karıştırılabileceği rapor edilmiştir (Sandin et al., 1993; Fiorino, 1996; Lippes, 1999; Gorisek et al., 1999; Petrone et al., 1999; Koshiyama et al., 1999; Scribner et al., 2000; Merki-Field et al., 2000; Feiter and Soeters, 2001). Papanicolaou-simirlerinde *Actinomyces*, çoğunlukla merkezde filament ağından oluşmuş koyu mor renkte kısım ile çevrede ışınsal doğrultuda uzanan filament benzeri yapılar şeklinde görülür (Şekil 2.6) (Gupta, 1982; Dybdahl et al., 1991; Bonacho et al., 2001).



Şekil 2.6. Papanicolaou-simirlerinde *Actinomyces*'in görünümü.
(www.slh.wisc.edu/cytology/lab/education/images/actinomyces-large.jpg)

2.8.1.1. Papanicolaou simirlerinde *Actinomyces*'in tanısı

Actinomyces araştırması için yapılan yaymalar % 95'lik alkolde veya saç spreyi ile tespit edilip Papanicolaou ile boyanırlar. Bu yaymalarda *Actinomyces*'in mikroskopik görünümüleri çeşitlidir. Bu görünümlerden en yaygın olanı, düzensiz, yoğun, örümcek benzeri, değişik boyutlarda koyu kahverengimsi siyah cisimler şeklinde olanıdır. *Actinomyces*'in bu mikroskopik yapısı bir çok araştırmacı tarafından görülmüş ve iyi tanımlanmıştır. Küçük büyütmede bu yapı koyu , tüy ve hav döküntüsü gibi yığınlar halinde görülür, bu nedenle yaymanın titiz bir şekilde değerlendirilmesi gereklidir. Daha büyük büyütmede yapılan dikkatli incelemede, bu *Actinomyces* kümeleri dallanan filamentöz organizmalar olarak görünür. Filamentler, koyu merkez kısmından dışarıya doğru uzanır ve genellikle uçları yuvarlak şekilde görülür. Bu morfolojik detaylar, gram boyamayla da görülebilir (Gupta, 1982).

Actinomyces'lerin yaymalarda görülen diğer bir mikroskopik görünümü de çomak şeklindeki yapılardır. Bu yapılar, kahverengi, kırmızımsı veya sarımsı yapılar olup 20-40 µm uzunluğundadır ve rozet şeklinde ışınal olarak düzenlenmişlerdir. Bu çomak şeklindeki yapıların, konakçı-bakteri etkileşimine cevap olarak oluştuğuna ve immünolojik savunma mekanizması gösterdiğine inanılmaktadır (Gupta, 1982).

Actinomyces'in yaymalarda seyrek olarak "sıçan kuyruğu" şeklinde de görüldüğü tespit edilmiştir. Bu tür görünümde *Actinomyces*'lerin diğer görünümlere oranla

daha dağınık bir yapıda olduğu bildirilmiştir. Bu yapıda, organizmaların basiller formda olduğu ve genellikle asidofilik boyandığı tespit edilmiştir. Bu görünümü içeren yaymalarda *Actinomyces*'lerin merkezi bir kor etrafında paralel filamentler halinde düzenlendiği ve dikkatli bir şekilde incelenirse aynı yaymada *Actinomyces*'in tipik dallanmış formlarının da görülebileceği bildirilmiştir.

Papanicolaou ile boyanmış yaymalarda *Actinomyces* difteroidal yapılar şeklinde de görülebilir. Erickson'un aksine Gupta bu difteroidal yapıların mekanik olarak filamentöz yapıya dnşmediğine inanmaktadır. Gupta yaptığı çalışmada, sadece 5 vakanın yaymasında difteroidal yapıların tespit edildiğini, fakat bu vakalara *Actinomyces* tanısı verilmediğini bildirmektedir.

2.8.2. Histokimyasal yöntem

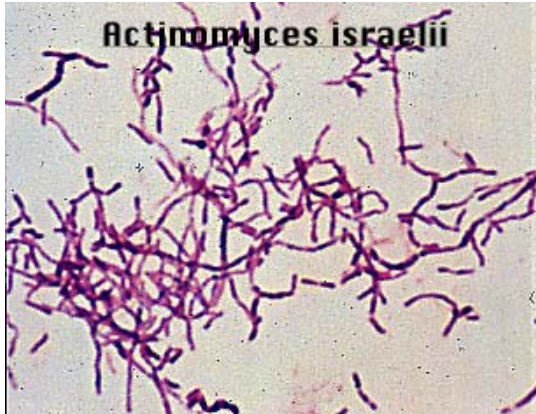
Aktinomikoz olgularından alınan örneklerde sülfür granüllerinin aranması oldukça tanımlayıcı olmasına rağmen, O'Brien yaptığı bir çalışmada histolojik olarak tanı vermede bazı aksaklıkların olabileceğini saptamıştır. Bu çalışmanın ilk aşamasında hematoksilen–eozin ile boyanmış 235 doku örneğinden 16'sında sülfür granülleri görülmüş ve aktinomikoz tanısı verilmiştir. Fakat aynı örnekler gram boyası ile boyandığında 16 granülden 15'inin yalancı granül olduğu ve sadece birinin gerçek aktinomikotik sülfür granülü olduğu görülmüştür (Lippes, 1999). Bu nedenle, Gram boyamanın *Actinomyces* tanımlamasında uygun bir boyama yöntemi olduğu belirtilmiştir (Overman ve Pine, 1963). Ayrıca, Gupta (1982), hematoksilen-ve-eozin ile boyanmış preparatlarda, Pap simirlerinde görülebilen morfolojik detayın grlemediğini bildirmiştir. Metenamin gümüş boyasının kullanışlı olduğu ve *Actinomyces*'in çeşitli mikroskobik görünümlerinin bu boyama yöntemi ile görülebileceği rapor edilmiştir. PAS (Peryodik Asit Schiff) boyasının farklı sonuçlar verdiği saptanmış, bunun nedeninin lezyonların süresi ve diğer organizmaların varlığı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Gupta, 1982).

2.8.3. Mikrobiyolojik yöntem

Mikrobiyolojik olarak tanı verilirken hem gram boyama yöntemine göre boyanan preparatlar mikroskopik olarak incelenmeli hem de anaerobik olarak *Actinomyces*'ler üretilmelidir .

2.8.3.1. Gram boyama yöntemi

Enfektif olduğu düşünülen bölgeden alınan örnek, Gram boyama yöntemine göre boyanıp mikroskopik olarak incelenmelidir (Wilson and Miles, 1964a). Gramla boyanmış yaymalarda gram-pozitif, dallanmış filamentler gruplar halinde görülür (Overman and Pine, 1963). Gramla boyanan *Actinomyces*'in kendine özgü tipik bir görünümü vardır. Hafif kıvrılmış, birbirleriyle bitişmiş çubuk şeklindeki yapıların görülmesi *Propionibacterium* gibi diğer çubuk şeklindeki bakterilerden ayırt edilmesi için karakteristik bir özelliktir (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Gram boyama yöntemine göre boyanmış bir yaymada *Actinomyces israelii*'nin görünümü (www.medschool.lsuhs.edu/microbiology/DMIP/aisrgs.jpg)

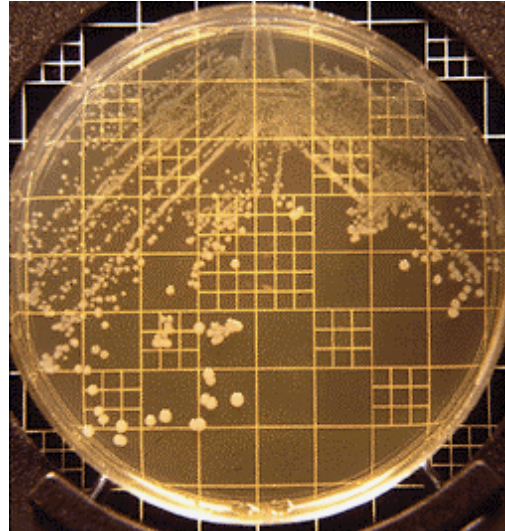
2.8.3.2. Anaerobik kültür yöntemi

Actinomyces'lerin başka mikroorganizmaları da içeren materyalden saf kültür olarak izole edilmeleri oldukça zordur. Hücrelerin üreme kapasiteleri zayıf olduğu için canlı organizma bulunduran taze örnekler anaerobik kültür yöntemleriyle üretilmelidir (Persson et al., 1983; Persson ve Holmberg, 1984a; Evans, 1993; Feiter ve Soeters, 2001). Anaerobik kültür yöntemi uygulanacak olan bu örneklerin, havada fazla bekletilmeksizin, derhal anaerobik koşullara konulması

gereklidir. Çünkü, herhangi bir gecikme olduğu zaman oksijenli ortama maruz kalan organizmaların ölebileceği bildirilmektedir (Scribner et al, 2000). Ayrıca, hastaların muayeneden önce antibiyotik içmeleri *Actinomyces* türlerinin anaerobik kültür tekniğinde başarılı bir şekilde üretilme şansını da azaltmaktadır (Persson et el., 1983; Williams et al., 1990).

Actinomyces'lerin izolasyonu ve kültürü için genellikle hemin ve K vitamini ile zenginleştirilmiş kanlı agarlar (% 5 koyun kanı veya tavşan kanı) tavsiye edilmektedir. Bu agarlara örnek olarak; Brain-Heart-Infusion-Agar (BHIA), Brucella Agar, Schaedler Agar, Feniletanol Kanlı Agar ve Heart-Infusion Agar verilebilir. Vankomisin içeren besiyerleri kullanılmaması gerekmektedir. Zenginleştirilmiş tiyoglikolat besiyeri ve kıyılmış et-glukoz besiyerinin bu organizmaların gelişimini arttırdığı bildirilmektedir (Hillier and Moncla, 1991). Bütün *Actinomyces* türleri

anaerobik koşullarda (% 95 N₂ ve % 5 CO₂) 37 °C'de daha iyi üreme gösterirler. Yavaş üreme gösterdikleri için besiyerleri uygun koşullarda 2-4 hafta kadar tutulmalıdır (Karaarslan, 1999). Olgun *Actinomyces* kolonileri 0.5-5.0 mm çapındadır ve çoğu grimsi-beyaz renktedir (Şekil 2.8) (Schaal, 1974).



Şekil 2.8. BHIA denilen besiyerinde üretilen *Actinomyces* kolonilerinin görünümü (education.med.nyu.edu/courses/microbiology/courseware/infect.disease/16-18a.ACTINO.V.gif)

Actinomyces mikrokolonilerinin farklı karakteristik tipleri vardır. *A. israelii* ve *A. hordeovulneris* filamentöz koloniler oluşturur, fakat oluşturdukları filamentlerin miktarı ve uzunluğu farklıdır. "Örümcek koloni" olarak tanımlanan bu tip filamentöz kolonilerde, filamentler tek bir merkezi noktadan dallanır. Filamentöz mikrokoloni üreten bu suşlar genellikle kabarık koloniler oluşturur. Filamentöz mikrokoloni üreten diğer türler *A. naeslundii* ve *A. viscosus*'tur. Bu türler 8-14 saatlik üreme

sonunda, *A. israelii* 'nin örümcek kolonilerine benzer koloniler oluştururlar. Fakat, 18-24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan koloniler genellikle *A. israelii* kolonilerinden büyük olur ve difteroidal hücrelerden oluşan yoğun bir merkez ve bu merkezin etrafında uzun dallanmış filamentler bulunur (Schaal, 1974).

2.8.4. İmmünfloresan boyama yöntemi

Aktinomikozu teşhis etmek için kullanılan diğer bir tanı yöntemi immünfloresan boyama yöntemidir. Bu yöntem, kültürde *Actinomyces* üretilmediği zaman ve aktinomikozdan şüphelenildiğinde uygulanabilecek doğrulayıcı bir tanı yöntemidir (Sandin etal., 1993). İmmünfloresan boyama yöntemi, tanımlanacak türlerin hem morfolojisinden hem de antijenitesinden yararlandığı için yüksek özgüllüğe sahiptir (Persson, 1983; Persson ve Holmberg, 1984b; Cleghorn ve Wilkinson, 1989; Evans, 1993).



Şekil 2.9. *Actinomyces israelii*'nin immünfloresan mikroskopik görünümü (www.visualsunlimimed.com/images/watermarked/250/25028.jpg).

Ayrıca literatürde bu yöntem için geliştirilen antiserumların da oldukça hassas ve özgül olduğu bildirilmiştir. Spesifik antiserumların farklı yöntemlerle hazırlanabileceği de rapor edilmiştir. Nayar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada immünfloresan yöntemi, Papanicolaou-simirlerinde *Actinomyces*-benzeri organizmaların bulunduğu 12 hastadan 10'unda *Actinomyces* varlığını doğrulamıştır. Diğer iki olgunun da *Actinomycetaceae* familyasında yer alan diğer

türlere özgü antiserum kullanılmadığı için negatif çıktığı kabul edilmiştir (Persson ve Holberg, 1984b). İmmünfloresan boyama yöntemine göre boyanmış örneklerde hücre zarlarının yeşilimsi-sarı görüldüğü bildirilmiştir (Şekil 2.9). Cleghorn ve Wilkinson, immünfloresan tekniği kullanılarak *Actinomyces*'e % 85 doğrulukla pozitif sonuç verilebileceğini vurgulamıştır (Sandin et al., 1993). Leslie ve arkadaşları, preparatta ikiden fazla filamentöz ağdan oluşan *Actinomyces* görüntüsü bulunduğunda, bu preparatın pozitif olarak kabul edilebileceğini ve bu tür preparatlarda çok fazla sayıda lökosit bulunduğunu belirtmişlerdir (Leslie ve Garland, 1991).

2.8.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi

Son yıllarda geliştirilen moleküler yöntemlerden Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi ile az miktarlardaki örneklerden bile DNA çoğaltılabilmekte ve *Actinomyces* tanısı doğru ve güvenilir olarak verilebilmektedir (Yeung, 1999; Woo et al., 2002). PCR, 10 yıl kadar önce geliştirilmiş olmasına rağmen en fazla kullanılan tekniklerden biri olmuştur. Kültür gibi bazı tekniklerin sonuçlanması haftalar alırken PCR ile yapılan tanımlama birkaç saat içinde tamamlanabilmektedir. PCR uygulamaları, organizmaya ait DNA moleküllerindeki istenilen hedef DNA dizilerinin doğrudan çoğaltılması esasına dayanır. Bu nedenle, PCR enfeksiyon hastalıklarında virüs veya bakterilerin tanımlanmasında tercih edilen tekniklerden biri haline gelmiştir (Klug and Cummings, 2002). Bakterilerde 16S rRNA geni aynı cinse ait türler arasında oldukça korunmuş olduğu için, PCR uygulamasında bu genin bakterilerin tanımlanmasında kullanılabilen bir gen olduğu bildirilmiştir (Sato et al., 1998; Gorisek et al., 1999; Woo et al., 2002). Böyle bir yöntemin klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında geleneksel fenotipik testlerin yerini alabileceği ve rutinde kullanılabileceği bildirilmektedir (Woo et al., 2002). Böylece doğru yapılacak tür tayini ile etkin antibiyotik kullanımı ve etkin bir tedavi sağlanmış olacaktır.

2.9. Pelvik Aktinomikozun Tedavisi

Aktinomikoz tedavisinde, apselerin boşaltılması veya sinüslerin cerrahi olarak çıkarılması gibi girişimler temel ilkelerdir (Monif, 1982; Sukcharoen ve Witoonpanich, 1992; Karaarslan, 1999; Najjar, 2002).

Aktinomikoz tedavisinde, genellikle cerrahi operasyon tek başına etkili olmadığı için, tıbbi ilaç tedavisi ile birlikte uygulanmaktadır (Feiter and Soeters, 2001). *Actinomyces* türleri bir çok antibakteriyel ilaca yüksek hassasiyet göstermektedir. Test edilen *Actinomyces* türlerinin, β -laktam antibiyotiklerinin tümüne oldukça hassas olduğu ancak metronidazol ve aminoglikosidlere hassas olmadığı tespit edilmiştir (Schaal, 1974; Sukcharoen ve Witoonpanich, 1992; Najjar, 2002). İlaç tedavisi olarak, penisilin bulunmadan önce potasyum iodidin ve sülfonamidin kullanıldığı literatürde yer almıştır (Yegüez et al., 2000; Feiter and Soeters, 2001). Aktinomikozisin penisilinle tedavisinin ilk kez 1940'lı yıllarda yapıldığı bildirilmiştir. Günümüzde de penisilin hala tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır (Feiter and Soeters, 2001). Penisilin, bakterilerin gelişimi için gerekli olan "peptidoglikan transpeptidaz" enzimini inaktive ederek bakteri hücrelerine etkili olur. Bu enzim bakterilerin hücre duvarını oluşturan peptidoglikan tabakasının çapraz bağlanmasını katalizler ve bu enzim yokluğunda bakteriler yeni hücre duvarı oluşturamadıklarından çoğalamazlar. Ayrıca, insan vücut hücrelerinde peptidoglikan hücre duvarı olmadığı için penisilin insan vücut hücrelerine zarar vermeden bakterilerin çoğalmasını engeller. Penisilin G ve Penisilin V sadece *Actinomyces* gibi gram pozitif bakteri hücrelerine karşı aktiftir. Çünkü, hücre duvarının dış tarafının etrafında korunmasız peptidoglikan tabakası vardır. Derin yerleşimli enfeksiyonların çoğunda, intravenöz olarak 4-6 haftalık periyot için, 10-20 milyon ünite penisilin G ve bunu takiben günde 4-6 g oral fenoksimetil penisilin tavsiye edilmektedir (Feiter and Soeters, 2001; Najjar, 2002). Oral tedavinin, hastanın durumuna göre 6-18 ay veya lezyonlar tamamen kayboluncaya kadar devam etmesi gerektiği de bildirilmektedir. Penisiline alerjisi olan hastalar için tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin ve imipenem kullanılabilir diğer ilaçlar olarak bildirilmektedir (Chaudhry and Greenspan, 2000; Feiter and Soeters, 2001). Tubo-ovarian apseler için ise intravenöz ampisilin, gentamisin ve klindamisinin kullanılacağı literatürde yer almaktadır (Nayar et al., 1985).

Serviko-vajinal yaymalarında pseudomiselyal bakteri kümeleri saptanmış olsa da tedavi hastanın klinik şikayetlerine göre yapılmalıdır. Pseudomiselyal bakteri kümelerinin tespit edildiği hasta asemptomatik ise, muayenede servikal hassasiyet veya adnekslerde bir kitle görülmez. Bu nedenle, hastanın durumuna göre antibiyotik kullanmaksızın RİA çıkarılması da tedavinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. RİA üç yıldan fazla süreli ise ya da hastada adet düzensizliği varsa RİA çıkarılmadan önce antibiyotik tedavisi uygulanmalıdır (Monif, 1982). RİA'nın çıkarılmasını takip eden 4-6. haftada alınan simirler genellikle *Actinomyces* açısından negatif sonuç vermektedir. Bu nedenle, bu bekleme süresinden sonra RİA yeniden takılabilir (Merki-Field, 2000). Fakat bundan sonra hasta enfeksiyonun tekrarlama riskine karşı takibe alınmalıdır. Eğer hasta gözlem altına alınamıyorsa, başka korunma yollarını kullanmaya teşvik edilmelidir (Gupta, 1982). RİA'nın çıkarılıp yeniden takılması, kadınlarda PİH ve hamilelik riskini arttırmaktadır. Bu nedenle, RİA çıkarılması bazı doktorlar tarafından gereksiz görülmektedir. Fakat, hasta sağlığını ön planda tutan bir çok doktor RİA'nın çıkarılmasının daha uygun olduğunu düşünmektedir (Merki-Field, 2000).

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na çeşitli jinekolojik şikayetlerle başvuran ve gebe olmayan hastalar ile Aile Planlama Ünitesi'ne RİA çıkarılması amacıyla başvuran 200 hastayı kapsamaktadır.

3.1. Klinik Verilerin Elde Edilmesi

Hastalardan sitolojik ve mikrobiyolojik incelemeler için, serviko-vajinal ve mikrobiyolojik örnekler alınmadan önce; jinekolog tarafından hastanın yaşı, son adet tarihi, doğum yapıp yapmadığı, yaşayan çocuk sayısı, hormon tedavisi alıp almadığı, jinekolojik bir ameliyat geçirip geçirmediği, menstruasyon düzeni, RİA kullanıp kullanmadığı, kullanılan RİA'nın tipi ve süresi, kasık ağrısı, idrar yaparken yanma-sızı, kaşıntı ve akıntı şikayeti olup olmadığı, akıntının rengi ve kokulu olup olmadığı gibi jinekolojik şikayetlere ait klinik bilgiler bir taraftan hasta dosyasına diğer taraftan araştırma amacıyla başka bir dosyaya kaydedilmiştir. Ayrıca, serviksin dış görüntüsü incelenerek, mukoza yüzeyinde herhangi bir kistik yapının, hemorojik bir alanın veya içi sıvı dolu veziküllerin olup olmadığı klinik bilgilere eklenerek tüm veriler bilgisayara yüklenmek üzere toplanmıştır.

3.2. Sitolojik İnceleme İçin Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Her hastaya ait serviko-vajinal örnekler, jinekolog tarafından spekülüm takıldıktan sonra servikal fırça (Cytobrush) yardımı ile alınarak önceden temizlenmiş olan lamlara tek yönlü olarak yayılmıştır. Örnekler bekletilmeksizin saf alkol içeren şalelere konularak tespit edilmiş ve rutin Papanicolaou boyama yöntemine göre boyanmıştır (Papanicolaou, 1963). Boyanan yaymalar mikroskopik inceleme için entellan kullanılarak lamel ile kapatılmış ve mikroskopik inceleme için her preparattaki lamel alanı, görülen alanın 1/4'ü tekrar görülecek şekilde titizlikle ve dikkatle *Actinomyces* açısından taranmıştır. Mikroskopik incelemede Prior marka binoküler mikroskop kullanılmış ve ilk tarama x10'luk objektifte, detaylı inceleme ise x40'lık ve immersiyon objektifleri ile yapılmıştır. Ayrıca *Actinomyces* saptanan

alanların fotoğrafları çekilerek bulgulara kaydedilmiştir.

3.3. Mikrobiyolojik İnceleme İçin Örneklerin Alınması

Mikrobiyolojik inceleme için her hastadan, Anaerobik Sistem (Anaerobic Culturette Collection and Transport System; Becton Dickinson Microbiology Company) kullanılarak örnek alınmıştır. Bu sistem anaerobik inceleme için alınan örnekleri bozulmadan laboratuvara ulaştırmak amacıyla kullanılan bir sistemdir. Bu sistem içinde ucu pamuk sarılı bir eküvyon, mikroorganizmaların beslenmelerini dolayısıyla üremelerini sağlayan Cary-Blair taşıma besiyerinden modifiye edilerek hazırlanmış besiyerini içeren bir ampül, gaz üreten tablet, anaerob ortam oluşmasını sağlayan aktive edici solusyon ampülü, katalizör taneciği, metal paketlenme çubuğu ve hasta etiketi bulunmaktadır.

Eküvyonla alınan örnekler transport sistemdeki plastik tüp içine yerleştirilerek sistem ters çevrilip besiyerini içeren ampül kırılmıştır. Böylece örneğin nemli ve besleyici olmayan besiyeri ile temas etmesi sağlanmıştır. Sistem tekrar ters çevrilerek bu kez aktive edici solusyonu içeren ampülün kırılma işlemi gerçekleştirilmiştir. Böylece anaerobik ortam oluşturulmuş olur. Besiyeri ve anaerobik ortam kombinasyonu, taşıma ve kültürasyonda gecikmeler göz önüne alındığında mikroorganizmaların yaşamalarına olanak sağlayan bir avantaj oluşturmaktadır. Bundan sonra, örnekler mümkün olduğunca hızlı bir şekilde laboratuvara götürülerek çeşitli besiyerlerine ekimleri yapılmıştır (Mangels, 1998).

3.3.1. Anaerobik sistemden besiyerlerine ekim yapılması

Anaerobik sistemde bulunan eküvyondaki örneklerin her biri, laboratuvarında aseptik koşullarda, katı ve sıvı besiyerlerine ekim yapıldıktan sonra direkt inceleme için lama yayılmıştır. Kullanılan besiyerleri aşağıdadır:

Schaedler Agar: Bu besiyeri, anaerobik bakterilerin izolasyonu ve üretilmesi için kullanılan genel besiyeridir. Bu besiyeri içindeki bitkisel ve hayvansal peptonlar, dekstroz ve maya özütü mikroorganizmaların beslenmeleri için gereklidir. Koyun

kanı, K vitamini ve hemin gibi diğer maddeler ise, zor ve yavaş üreyen anaeroplara üremelerini sağlayan diğer katkı maddeleridir. Bu besiyerinin fazla karbohidrat içerdiğinden dolayı, zor üreyen anaerobik organizmaların üretilmesinde diğer seçici olmayan anaerobik besiyerlerinden daha iyi olduğu düşünülmektedir (Hillier and Moncla, 1991). Besiyerini oluşturan maddeler aşağıda verilmiştir.

Schaedler Agar (g/l):

Tryptone soya broth	10.0
Special peptone	5.0
Yeast extract	5.0
Glucose	5.0
Cysteine HCl	0.4
Hemin	0.01
Tris Buffer	0.75
Agar	13.5

Zenginleştirilmiş Tiyoglikolat Besiyeri: K Vitamini ve hemin ilavesi ile zenginleştirilmiş olan bu sıvı besiyeri, zor üreyen mikroaerofilik ve anaerobik organizmaların üremesini arttırmak için kullanılmaktadır. Bu besiyeri içindeki peptonlar besiyerinin temel besleyici maddeleridir, sodyum tiyoglikolat ve L-sistein ise diğer organizmaların üremesini engelleyen ajan olarak kullanılmaktadır (Hillier and Moncla, 1991). Besiyerini oluşturan tüm maddeler aşağıda verilmiştir.

Tiyoglikolat Besiyeri (g/l)

Peptone	25 g
Glukoz	6 g
Sodyum klorid	2.5 g
Sodyum tiyoglikolat	0.5 g
L-sistein	0.5 g
Resazurin	0.001 g
Agar	0.5 g

Eküvyondaki örnekler Schaedler ve Tiyoglikolat sıvı besiyerine ekim yapıldıktan sonra, petriyer Genbox kavanozuna (bioMerieux sa) yerleştirilmiştir. Daha sonra Genbox anaer paketi (bioMerieux sa) makas kullanılmadan elle yırtılarak içindeki kağıt torba çıkarılıp Genbox kavanozuna yerleştirilmiş ve kavanozun kapakları karşılıklı taraflar aynı anda olacak şekilde kapatılmıştır. Genbox anaer paketi, su ya da bir katalizör ilave edilmeden işlev görür ve aktive kömür, sodyum askorbat ve diğer organik ve inorganik bileşiklerden oluşur. Alüminyum paketin açılması, kağıt torbanın kavanoza yerleştirilmesi ve kavanozun kapatılması arasındaki sürenin 1 dakikayı geçmemesine dikkat edilmiştir. Çünkü, kağıt torba hava ile uzun süre temas ederse kavanoz içinde oluşan anaerobik atmosfer mikroorganizmaların üremesi için yetersiz olacaktır. Kapağı kapatılan kavanoz, 37 °C'lik etüvde (Heraeus) üç hafta inkübe edilmiştir. Inkübasyon sırasında kavanoz içindeki Genbox anaer paketi O₂ 'ni absorbe edip CO₂'i kavanoz içine vererek CO₂'in birikmesini dolayısıyla anaerob ortamın oluşmasını sağlar (Mangels, 1998).

3.3.2. Direkt Yaymaların İncelenmesi

Direkt inceleme için lama yayılan örnekler ise Gram boyama yöntemine göre boyanmıştır. Bakterilerin Gram boyasına verdikleri reaksiyon, bunların önemli taksonomik özelliklerinden birisidir. Gram boyama işlemi bazik bir boya olan Kristal viyole ile başlar. Bundan sonra Lugol denilen bir iyot çözeltisi uygulanır. Boyamanın bu aşamasında bütün bakteriler mavi renge boyanır. Daha sonra, hücreler alkol ile muamele edilir. Gram-pozitif hücreler kristal viyole-lugol bileşimini tutarak mavi renkte kalırken, Gram-negatif hücreler alkol ile muamelede renklerini tamamen kaybederler. Son olarak sulu fuksin gibi kırmızı renkli bir boya ile karşıt boyama yapılır ve rengini kaybetmiş olan Gram-negatif hücreler bu zıt boyayı tutarak kırmızı-pembe renge boyanırlar (Hillier and Moncla, 1991). Gram boyama yönteminin uygulanış biçimi maddeler halinde aşağıda verilmiştir.

Gram Boyama Yönteminin Uygulanış Şekli:

1. Preparatlar ısı ile tespit edilir.
2. Kristal Viyole ile örtülüp 1 dakika bekletilir.
3. Su ile yıkanır.

4. Lugol ile örtölüp 1 dakika bekletilir.
5. Su ile yıkanır.
6. 15 saniye alkol ile örtölür.
7. Su ile yıkanır.
8. 30 saniye sulu fuksin ile örtölür.
9. Su ile yıkanıp kurutulur.

Gram boyama yöntemine göre boyanmış örnekler lamel kapatılmadan Nikon marka binoküler mikroskobun immersiyon objektifinde incelenmiştir. Gram-pozitif filamentöz ve dallanmış basillerin *Actinomyces* olabileceği düşünülmüştür. Bu gram pozitif olgular kültür sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Kültürde de kuru kabarık koloniler görüldüğü takdirde, Crystal sistemde ileri incelemeye gidilerek *Actinomyces* veya diğer anaerobik organizmaların varlığı belirlenmiştir. Deney sırasında elde edilen gram, indol ve katalaz özellikleri ile ilgili sonuçlar bilgisayara girilerek *Actinomyces* tiplendirilmesi yapılmıştır. Ayrıca gramla boyanmış direkt yaymalarda epitel hücreleri, PMNL, laktobasil ve diğer organizmaların görülüp görülmediği kaydedilmiştir.

3.3.3. Kültürlerin Değerlendirilmesi

Üç haftalık inkübasyon sonunda kültürlerin bulunduğu kavanozun kapakları yine karşılıklı olacak şekilde ve aynı anda açılmıştır. Hem Schaedler Agar hem de zenginleştirilmiş Tiyoglikolat besiyerinde üreyen koloniler *Actinomyces* açısından değerlendirilmiştir.

Schaedler Agar'da üreyen ve *Actinomyces* kolonileri ile uyum gösteren kuru ve kabarık kolonilerden öze ile alınan bir miktar materyal lama yayılarak Gram ile boyanıp mikroskopta incelenmiştir. Gram pozitif dallanmış basillerden oluştuğu tespit edilen tüm kolonilerin saf kültürlerini elde etmek için tekrar Schaedler Agar'a pasajları yapılmış ve plaklar anaerob ortamda iki gün inkübasyona bırakılmıştır.

Kavanozdan çıkarılan diğer besiyeri zenginleştirilmiş Tiyoglikolat besiyeridir. Bu besiyerinde üreyen yüzeye yakın pürtüklü, loblu ya da girintili çıkıntılı ekmek

kırıntısı şeklindeki koloniler steril bir pipet ile alınmış ve lama yayılıp Gram boyama yöntemine göre boyanmıştır. Bu preparatlar mikroskopla incelenmiş ve Gram pozitif basillerin olup olmadığı saptanmıştır. Bu işlemi takiben Tiyoglikolat içinde gram incelemesi için aldığımız koloniden tekrar steril bir pipet yardımı ile örnek alınarak saf kültür elde etmek için Schaedler Agar'a pasaj yapılmış ve bu pasajlar anaerobik olarak 48 saat inkübe edilmiştir.

3.3.4. Bakterilerin Tanımlanması

48 saatlik inkübasyon sonunda Schaedler Agar'da üreyen saf, anaerobik, gram pozitif basiller tiplendirme amacı ile ileri incelemeye alınmıştır. Bu amaçla aşağıdaki testler uygulanmıştır.

Oksijen Toleransı: Anaerob ortamda üreyen gram pozitif basillerin aerob organizmaların üreyebildiği Columbia Agar'a pasajı yapılmış ve % 5-10 karbondioksit içeren kavanozda 48 saat bekletilmiştir. Columbia Agar'da üreme varsa bu koloniler değerlendirmeye alınmamıştır (Mangels, 1998).

Katalaz testi: Kolonilerin katalaz pozitif olup olmadığını belirlemek amacıyla, temiz bir lam üzerine % 15'lik H₂O₂ damlatılmış ve katı besiyeri üzerindeki koloniden öze ile küçük bir parça alınarak lam üzerine damlatılan H₂O₂ içinde hafifçe ezilmiştir. Bakterilerin H₂O₂'yi parçalayıp su ve oksijen açığa çıkarmasına bağlı olarak hava kabarcıklarının oluşması katalaz-pozitif olarak kabul edilirken hava kabarcıklarının oluşmaması katalaz-negatif olarak değerlendirilmiştir (Mangels, 1998).

İndol testi: Bu test için temiz bir lam üzerine indol testinde kullanılan disk yerleştirilmiş ve bu diskin üzerine bir damla indol damlatılmıştır. Katı besiyeri üzerindeki koloniden öze ile küçük bir parça alınarak diskin üzerinde ezilmiş ve renk oluşumu indol-pozitif, renk oluşmaması da indol negatif olarak kabul edilmiştir (Mangels, 1998).

Eskulin Hidrolizi: Bu test, eskulin glikozitinin mikroorganizmalar tarafından

parçalanarak eskuletine dönüşmesi ve eskuletinin de ferrik iyonlarla birleşip siyah bir çözelti meydana getirmesi esasına dayanan bir testtir. Bu amaçla hazırlanan eskulin agar tüplere konarak yatık bir şekilde konularak bekletilip agarın oda sıcaklığında katılaşması sağlanır. Hazırlanan bu yatık besiyerlerine katı besiyeri üzerinden öze ile alınan kolonilerin ekimleri yapıldıktan 7 gün sonra besiyerinin siyah renge dönüşümü eskulin-pozitif olarak kabul edilmiştir (Mangels, 1998).

Eskulin Agar (g/l)

Eskulin Agar	1 gr
Ferrik asit	0.5 gr
Kalp infüzyon agar	40 gr

Karbohidrat Fermentasyon Testleri: Bu amaçla kullanılan besiyeri, 26 gr CHO medium base ve 900 ml su olacak şekilde hazırlanmıştır. CHO medium base'in yapılışı aşağıda verilmiştir.

CHO medium base:

Bacto tripton	15 gr
Bacto maya özütü	7 gr
Bacto L-sistin	0.25 gr
Sodyum Klorür	2.5 gr
Askorbik Asit	0.1 gr
Sodyum tiyoglikolat	0.5 gr
Brom timol mavisi	0.01 gr
Bacto agar	0.75 gr
Distile su	1000 cc

Bu karışım otoklava alındıktan sonra 100 ml filtre sterilizasyonu uygulanmış ve % 6'lık maltoz ve sükroz solüsyonları ile karıştırılmıştır. Hazırlanan CHO fermentasyon besiyerinde son konsentrasyon % 0.6 olarak belirlenmiştir. Bu besiyerinden 7'şer ml tüplere dağıtılarak ağzı pamukla kapatılmıştır. Hem *Actinomyces* açısından şüpheli kolonilerden hem de pozitif ve negatif kontrol kolonilerinden ekim yapılarak 7 gün anaerob kavanozda 37 °C'de inkübe edilmiştir.

Pozitif ve negatif kontrol kolonilerinin oluşturdukları renklere göre şüpheli koloninin pozitif ya da negatif olduğu belirlenmiştir (Mangels, 1998).

Nitrat Redüksiyonu: Schaedler Agar plağının bakteri bakımından yoğun olduğu bir bölgesine nitrat diski yerleştirilmiştir. Bu durumda 48 saatlik anaerobik inkübasyon sonunda disk temiz bir petri kutusuna alınarak üzerine Nitrat A ve Nitrat B solüsyonlarından birer damla damlatılmıştır. Beş dakika bekleme sonrasında kırmızı renk oluşumu nitrat (+) olarak değerlendirilmiştir. Fakat 5 dakika sonra renk değişimi gözlenmemişse disk üzerine bir miktar çinko tozu dökülüp 5 dakika daha beklenmiştir. Çinko tozu eklendikten sonra kırmızı rengin oluşması ise nitrat (-) olarak değerlendirilmiştir (Mangels, 1998).

Nitrat A Solüsyonu

Sülfanilik asit	0.5 gr
Glasiyal asetik asit	30 ml
Distile su	120 ml

Nitrat B Solüsyonu

5-amino 2-naftalen sülfonik asit	0.2 gr
Glasiyal asetik asit	30 ml
Distile su	120ml

Yukarıda anlatılan testlerden eskulin hidrolizi, karbohidrat fermentasyon testi ve nitrat redüksiyon testi *Actinomyces* cinsini *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* ve *Eubacterium* cinslerinden ayırt etmek için yapılmıştır. Bu amaçla Çizelge 3.1'deki bilgilerden yararlanılmıştır.

Crystal™ Tanımlama Sistemi

Genel olarak Crystal™ tanımlama sisteminde (Becton Dickinson Company) kullanılan testlerin bir çoğu fermentasyon, oksidasyon, degradasyon ve çeşitli substratların hidrolizi gibi klasik biyokimyasal testlerin modifikasyonlarıdır. Ayrıca bu sistemde, mikroorganizmaların substratları metabolize etmek için kullandıkları enzimleri belirlemek amacıyla kullanılan kromogen ve florogen bağlı substratlar da yer almaktadır.

Bu sistemde direkt olarak klinik örnek kullanılmadığından, Schaedler Agar gibi seçici olmayan bir besiyerinden izole edilen koloniler kullanılmaktadır. Bu

kolonilerin saf olması ve 24-48 saatten fazla inkübe edilmemiş olması gereklidir. Bu nedenle saf olarak elde edilen koloniler pamuk uçlu eküvyon yardımı ile katı besiyerinin yüzeyinden toplanmış ve "inoculum sıvısını" içeren tüp içinde süspansiyon edilerek 10-15 saniye vortekslenmiştir. Elde edilen sıvının bulanıklık derecesi McFarland No:4 tüpündeki sıvının bulanıklık derecesi ile aynı olmalıdır. Hazırlanan bakteriyel süspansiyon 30 reaksiyon kuyucuğundan oluşan plağa dökülmüş ve dökülen örneğin bütün kuyucuklara dağılması için plak aşağı yukarı hareket ettirilmiştir. Kuyucukların üzerinde kabarcık olmamasına dikkat edilmiştir. Daha sonra her kuyucuk içindeki sıvının rengini gözlemek amacıyla yapılmış pencere şeklinde şeffaf yuvarlak alanların bulunduğu kapak kapatılmış ve nemli bir ortam oluşturmak için ıslak bez konulan torbanın içine yerleştirilmiştir. Bu düzenek 37 °C'lik etüvde 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında, kuyucuklarda bulunan mikroorganizmaların metabolik aktivitelerinin sonucu renk değişimi ve floresan oluşumu gerçekleşmektedir.

İnkübasyon tamamlanınca, oluşan renklerin değerlendirilmesi (okunması), BBL Crystal Panel Viewer'da (Becton Dickinson Company) gerçekleştirilmiştir. Bu cihazda A-F arasındaki renkler UV ışığı kullanılarak G-J arasındaki renkler ise normal ışık kullanılarak değerlendirilmiştir. A-F arasındaki kısım okunurken A4 karşısındaki kontrol kuyucuğunun (*) floresan rengi baz alınarak F'ye kadar olan diğer kuyucukların rengi incelenmiş ve kontrol kuyucuğundan daha fazla floresan veren ışıklar (+) olarak kabul edilmiştir. G-J arası okunurken ise kit içinde bulunan renk reaksiyon kartı kullanılmış ve karttaki renklerle aynı ise (+) değilse (-) olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar aşağıda gösterildiği gibi örnek karta yazılmış ve bulunan değerler toplanarak profil numarası hesaplanmıştır. Daha sonra mikroorganizmaların türünü tespit etmek amacıyla, elde edilen profil numarası, gram boyama sonuçları, katalaz ve indol test sonuçları bilgisayara önceden yüklenmiş olan BBL CRYSTAL ID System Electronic Codebook denilen programa girilmiş ve mikroorganizmaların türü saptanmıştır.

Örnek kart	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	*	+	-	-	+	+	+	-	+	-
2	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-
1	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
Profil No	1	6	3	2	5	6	4	3	7	0

3.4. İstatiksel Analiz

İstatiksel değerlendirmeler Ki-kare (Chi-Square) ve Fişer kesinlik (Fisher's Exact) testleri kullanılarak SPSS version 11.5 paket programında yapılmıştır. Anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ değeri alınmıştır.

Çizelge 3.1. Morfolojik olarak *Actinomyces*'e benzeyen Gram pozitif basillerle *Actinomyces*'in bazı biyokimyasal özellikleri

Biyokimyasal Özellikler	<i>Actinomyces</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Eubacterium</i>
İndol	-	⁺ -	-	-
Katalaz	⁺ -	⁻ +	-	-
Nitrat Redüksiyonu	+	+	-	+/-
Maltoz	+	-	+	+
Sukroz	+	-	+	+
Eskulin	+	-	⁻ +	⁻ +

Üstte görülen işaretler nadir suşlarda gözlenen reaksiyonlardır.

4. SONUÇLAR

Araştırma kapsamına alınan 200 hasta hem sitolojik hem de mikrobiyolojik olarak *Actinomyces* açısından değerlendirilmiş ve her iki yöntemle elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirmeleri ayrı ayrı yapılmıştır. Ayrıca her hastadan alınan serviko-vajinal sıvı örneğinin pH'sı da ölçülerek kaydedilmiştir.

4.1. Serviko-vajinal Örneklerin Sitolojik Yöntemle İncelenmesi ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Hastaların serviko-vajinal örneklerinin sitolojik olarak incelenmesi sırasında, merkezde koyu mor renkte filamentlerden oluşmuş detay görülmeyen kısım ile çevrede ışınsal doğrultuda uzanan kısa hifler *Actinomyces*-benzeri organizmalar olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.1). Bu değerlendirmelere göre, araştırma kapsamına alınan 200 hastanın altısı (%3) *Actinomyces*-benzeri organizmalar açısından pozitif [Akt (+)] olarak saptanmış ve çalışma grubu olarak kabul edilmiştir. *Actinomyces* saptanmayan 194 hasta ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir.

Önemli bir bulgu olarak, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de görüldüğü gibi *Actinomyces*'in yüzeysel hücrelere hifleri ile tutunduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi, *Actinomyces* -benzeri organizma ile epitel hücreler arasındaki mesafe fazla olmasına rağmen tutunmanın gerçekleştiği saptanmıştır. Şekil 4.3'de ise, epitel hücresi ile *Actinomyces*-benzeri organizma arasındaki mesafenin daha kısa olduğu ve tutunmanın epitel hücre zarındaki kalınlaşmalarla birlikte daha belirgin olduğu görülmüştür. Epitel hücre zarındaki bu kalınlaşma Şekil 4.2'deki uzak mesafedeki tutunmada görülmemiştir. Diğer önemli bir bulgu olarak da, *Actinomyces*'in sadece epitel hücrelerine değil PMNL ve eritrositlere de tutunduğu saptanmıştır (Şekil 4.4). Ayrıca, Akt (+) 6 hastanın tümünün serviko-vajinal yaymalarında bol miktarda PMNL saptanmıştır. Eritrositler ise altı *Actinomyces* vakasından üçünün serviko-vajinal yaymalarında görülmüştür (Çizelge 4.1).

Ayrıca, *Actinomyces*-benzeri organizmaların bulunduğu serviko-vajinal örneklerde her mikroskop alanında bir veya birden fazla olmak üzere eozinofil lökositlerin varlığı dikkati çekmiştir. Papanicolaou boyası ile eozinofil lökositlerin granüllerinin koyu

pembe renkte görülmesi ve genellikle iki loblu çekirdeğinin olması ayırt edici tanı olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.5). Bu eozinofil lökositler, *Actinomyces* saptanan altı yaymanın dördünde (% 66.7) görülmüş ve *Actinomyces* varlığı ile eozinofil lökosit bulunması arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0.05$).

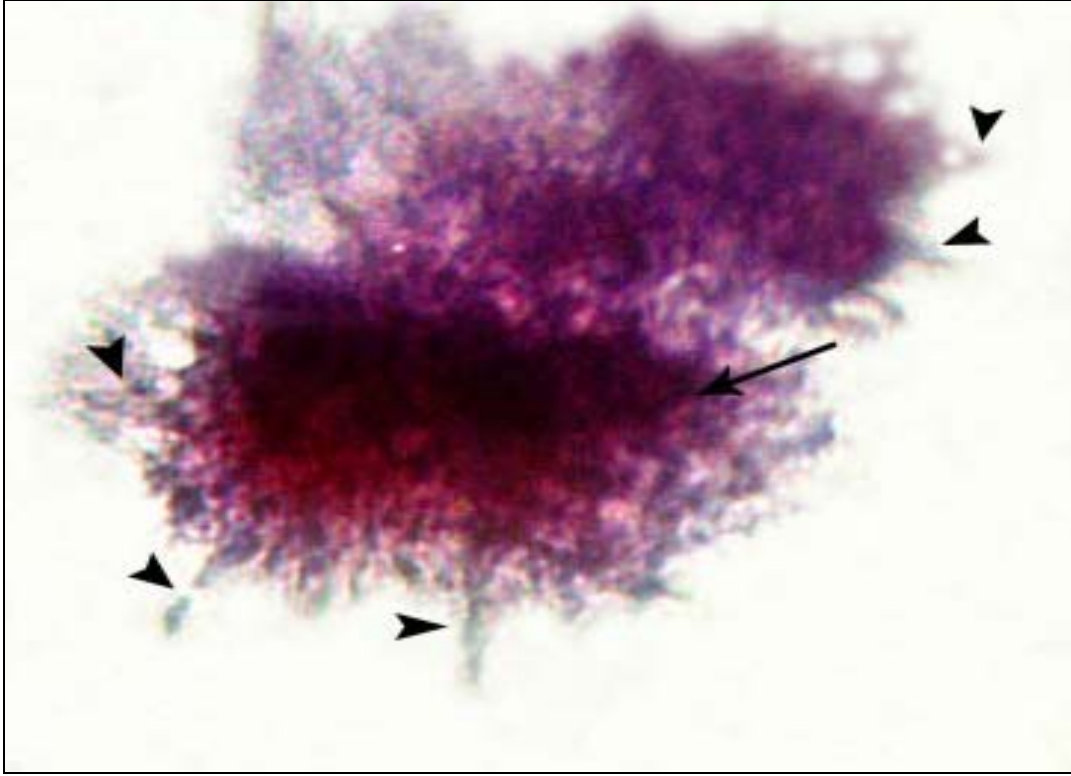
Diğer sitolojik bulgular olarak, Akt (+) olan altı hastanın sadece birinde (% 16.7) laktobasiller (Şekil 4.6), dördünde (% 66.7) bol miktarda kokobasiller (Şekil 4.7) görülmüştür. Akt (+) altı hastanın tümünün örneklerinde makrofajlar (Şekil 4.8) görülürken, metaplazik hücresel değişiklikler (Şekil 4.9) ve koilostotik hücreler (Şekil 4.10) sadece birer hasta örneğinde görülmüştür. Ayrıca, makrofajlar içinde fagosite edilmiş PMNL ve diğer bazı cisimciklere rastlanmıştır. Bu cisimciklerden bir kısmının silüet şeklinde görünüşü bize bu cisimciklerin adeta sindirilmiş olabileceğini düşündürmüştür (Şekil 4.8). Laktobasillerin, kokobasillerin, makrofajların, metaplazinin ve koilostotik hücrelerin bulunuşu ile *Actinomyces* pozitifliği arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık görülmemiş olmasına rağmen ($p>0.05$), Akt (+) hastalarda bu sitolojik bulgulardan kokobasillerin, metaplazinin ve koilostotik hücrelerin görülme yüzdesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu önemli bulgu olarak kaydedilmiştir. Akt (+) hastalarla kontrol grubu hastalarında saptanan hücresel değişikliklerin karşılaştırmalı istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Enfeksiyon etkenleri olarak Akt (+) altı yaymanın birinde *Trichomonas vaginalis* (Şekil 4.11), birinde Kandidal hif ve blastosporlar (Şekil 4.12) ve birinde de *Leptothrix* (Şekil 4.13) bulunduğu görülmüştür.

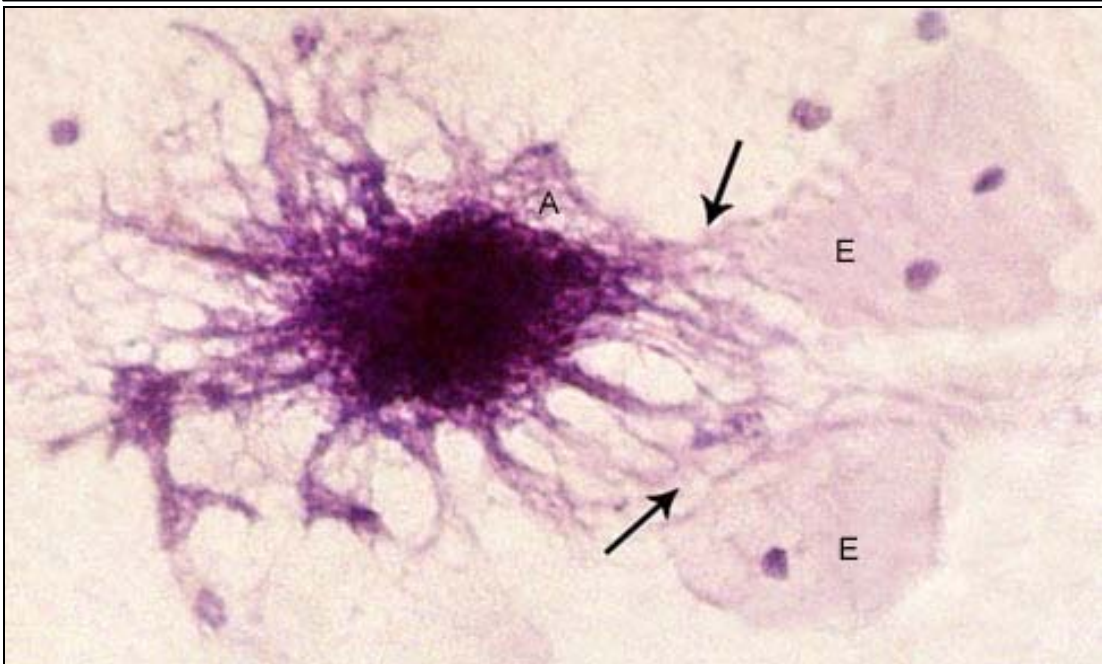
Çizelge 4.1. Akt (+) ve Akt (-) hastaların (n=200) sitolojik bulgulara ait istatistiksel verileri.

Sitolojik Bulgular	A (+) hastalar (n = 6)	A (-) hastalar (n = 194)
İntermediyet hücreler		
p>0.05		
VAR	5 (% 83.3)	163 (% 84.0)
YOK	1 (% 16.7)	31(% 16.0)
PMNL		
p>0.05		
VAR	6 (% 100)	163 (% 84.0)
YOK	0 (% 0)	31 (% 16.0)
Eritrosit		
p>0.05		
VAR	3 (% 50)	67 (%34.5)
YOK	3 (% 50)	127 (% 65.4)
Eozinofil Lökosit		
*p<0.05		
VAR	4 (% 66.7)	42 (% 21.6)
YOK	2 (% 33.3)	152 (% 78.3)
Koilostotik hücre		
p>0.05		
VAR	1 (% 16.7)	3 (% 1.55)
YOK	5 (% 83.3)	191 (% 98.4)
Laktobasil		
p>0.05		
VAR	1 (% 16.7)	54 (% 27.8)
YOK	5 (% 83.3)	140 (% 72.2)
Kokobasil		
p>0.05		
VAR	4 (% 66.7)	76 (% 39.2)
YOK	2 (% 33.3)	118 (% 60.8)
Metaplazi		
p>0.05		
VAR	1 (% 16.7)	28 (% 14.4)
YOK	5 (% 83.3)	166 (% 85.6)
Makrofaj		
*p>0.05		
VAR	6 (% 100)	66 (% 34.0)
YOK	0 (% 0)	128 (% 66.0)

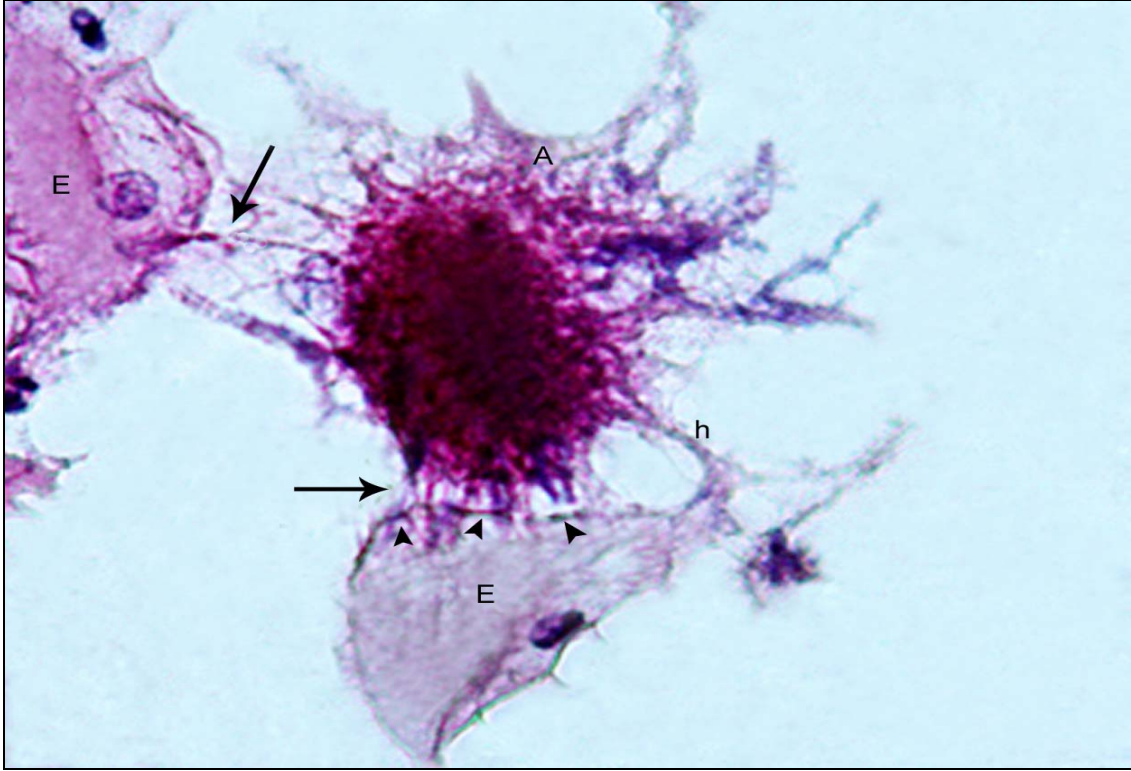
* İstatistiksel olarak anlamlı bulunan sonuçlar.



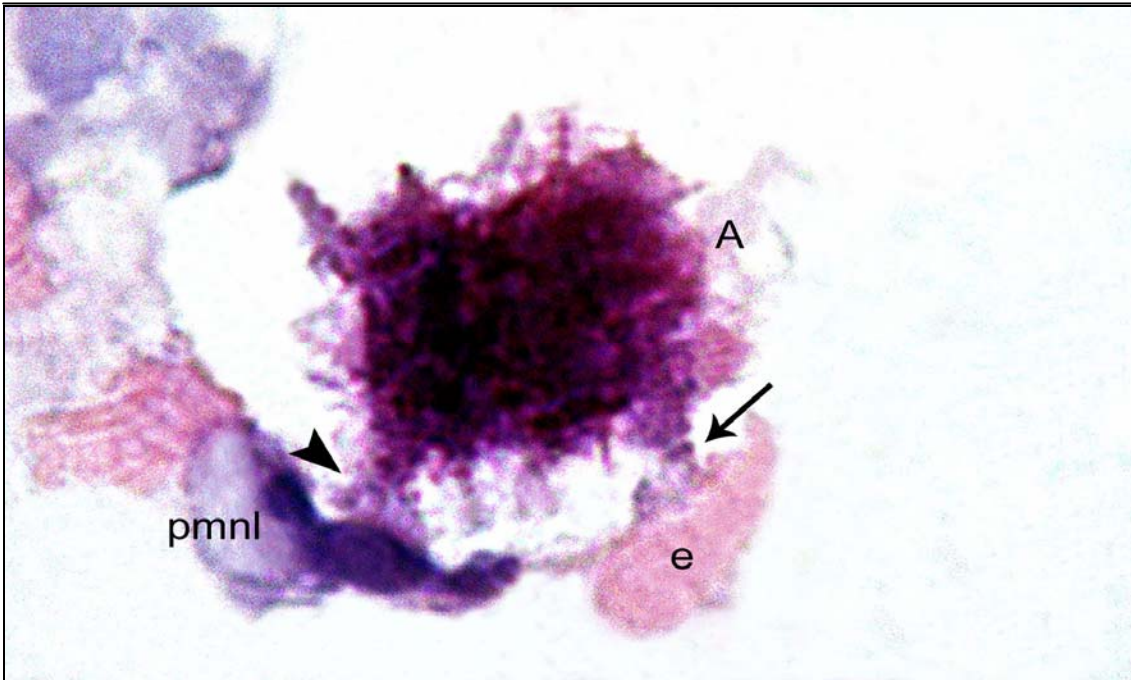
Şekil 4.1. Merkezde koyu mor renkte filamentlerden oluşmuş detay görülemeyen kısım (ok) ile çevrede ışınsal doğrultuda uzanan hiflerden oluşmuş (ok başı) *Actinomyces*-benzeri organizma (Papanicolaou X 500).



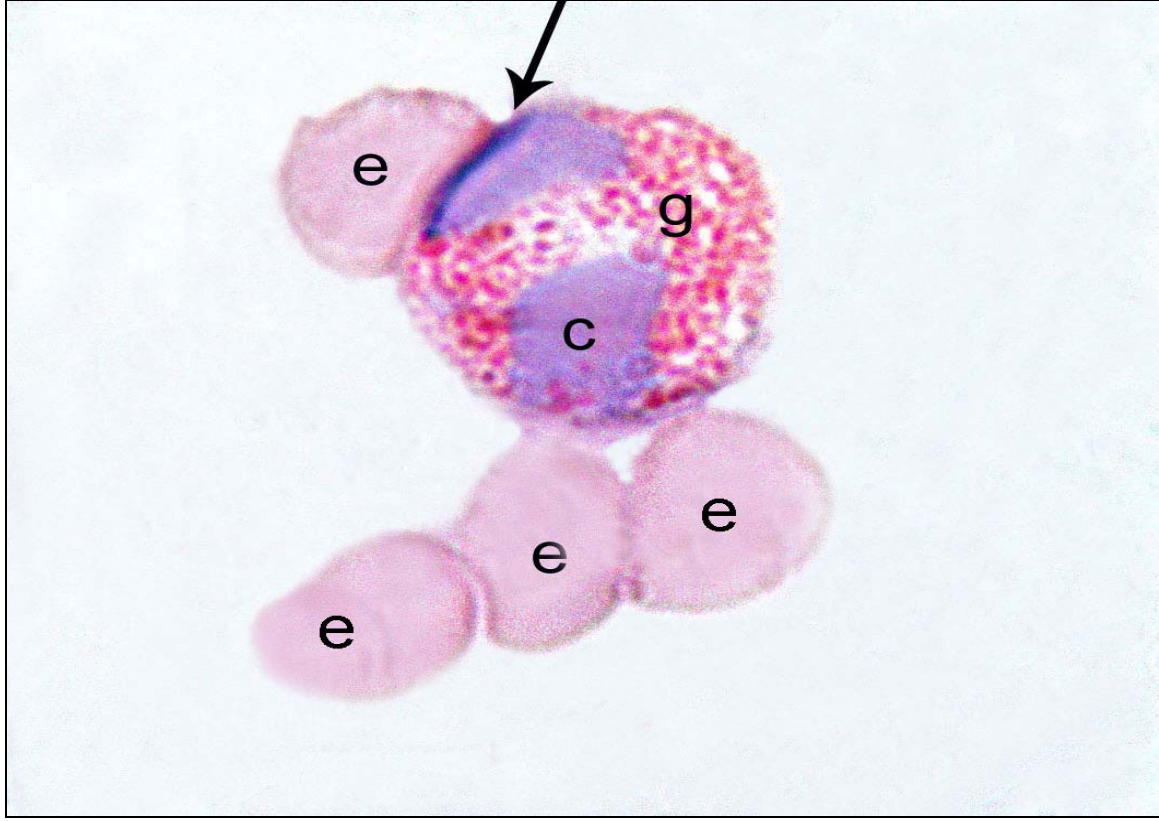
Şekil 4.2. Hif benzeri yapıları ile epitel hücrelerine (E) tutunmuş (ok) *Actinomyces* (A) (Papanicolaou X 500)



Şekil 4.3. *Actinomyces* -benzeri organizma hifleri (h) ile epitel hücre (E) zarındaki tutunmada (ok) epitel hücre zarındaki kalınlaşmalar (ok başı) görülmektedir (Papanicolaou X 500).



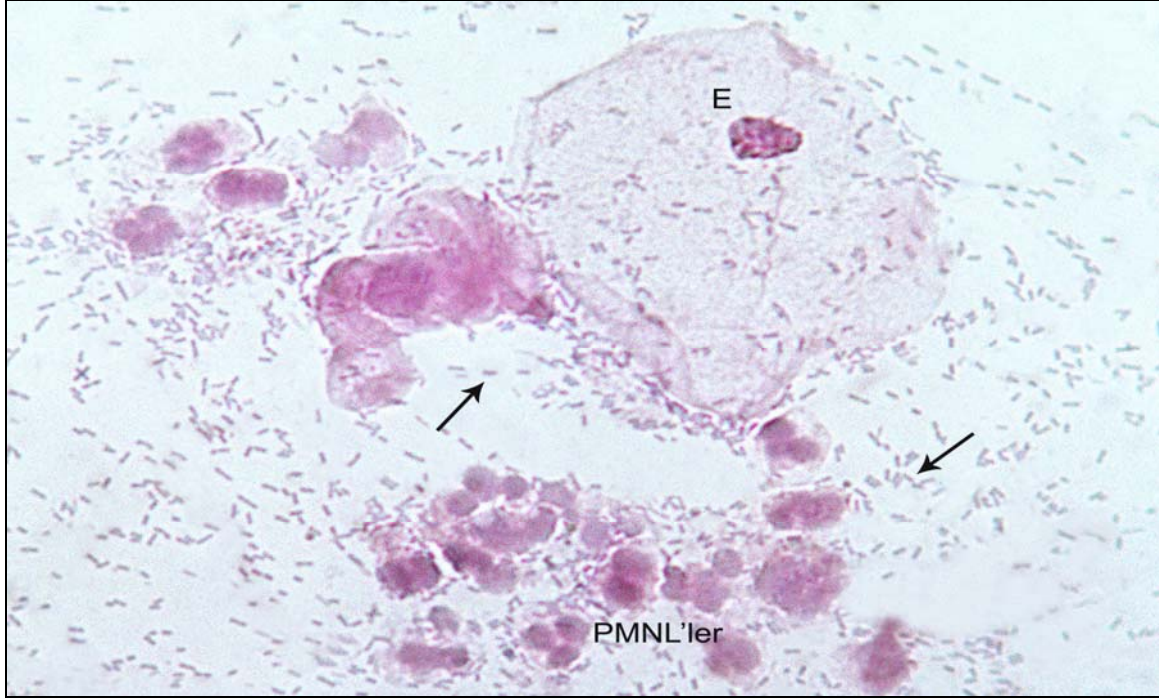
Şekil 4.4. Bir *Actinomyces* -benzeri organizma (A) ile eritrosit (e) ve PMNL arasındaki tutunmayı gösteren 28 yaşındaki hastaya ait serviko-vajinal yayma örneği (Papanicolaou X 500).



Şekil 4.5. Koyu pembe renkte granülleri (g) ve iki loblu çekirdeği (c) olan eozinofil lökosit ve bir kısmı eozinofil lökosit zarına tutunmuş (ok) olan eritrositler (e) görülmektedir (Papanicolaou X 1250)



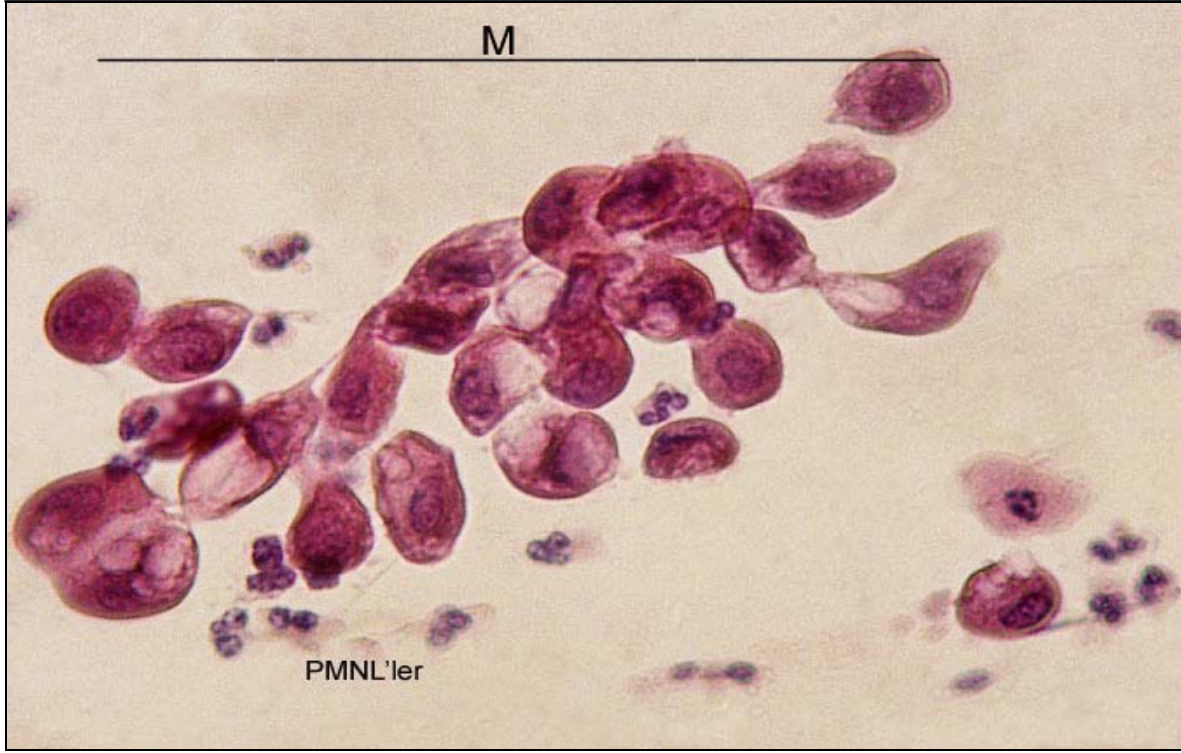
Şekil 4.6. Akt (+) olan 33 yaşındaki hastaya ait serviko-vajinal örnekte çok bol laktobasiller (ok), bir epitel hücresi (E) ve PMNL'ler görülmektedir (Papanicolaou X 500).



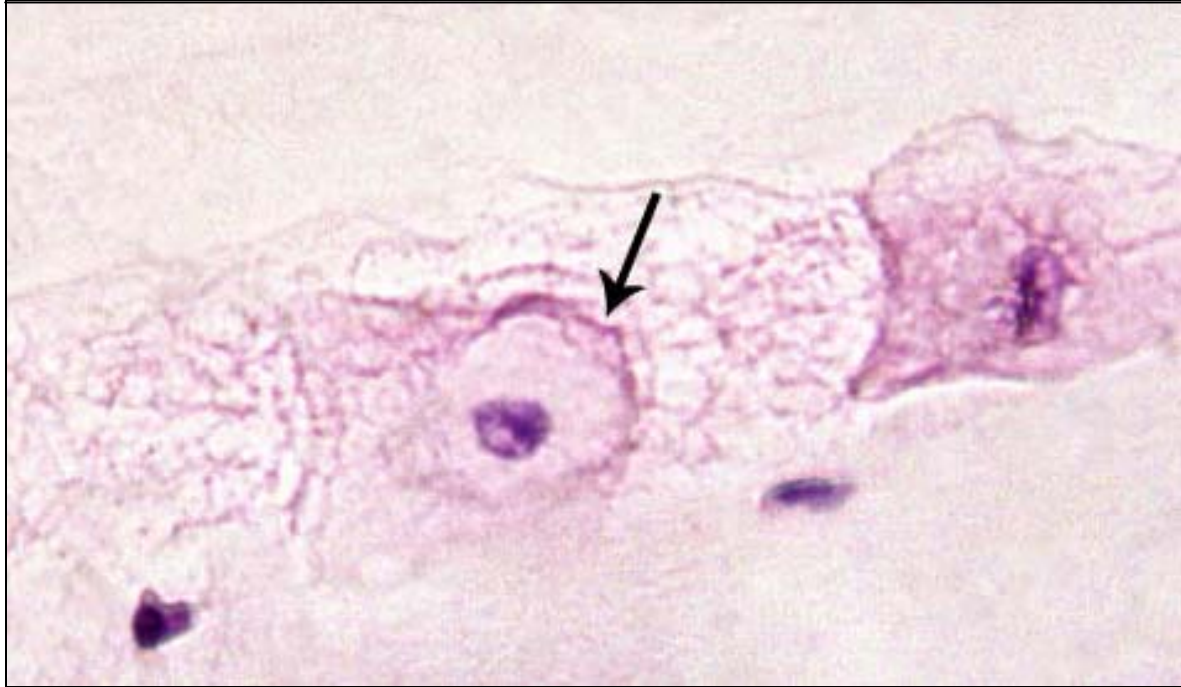
Şekil 4.7. Akt (+) hasta örneğinde alana dağılmış olarak bol miktarda kokobasiller (ok), epitel hücresi (E) ve PMNL'ler görülmektedir (Papanicolaou X 500).



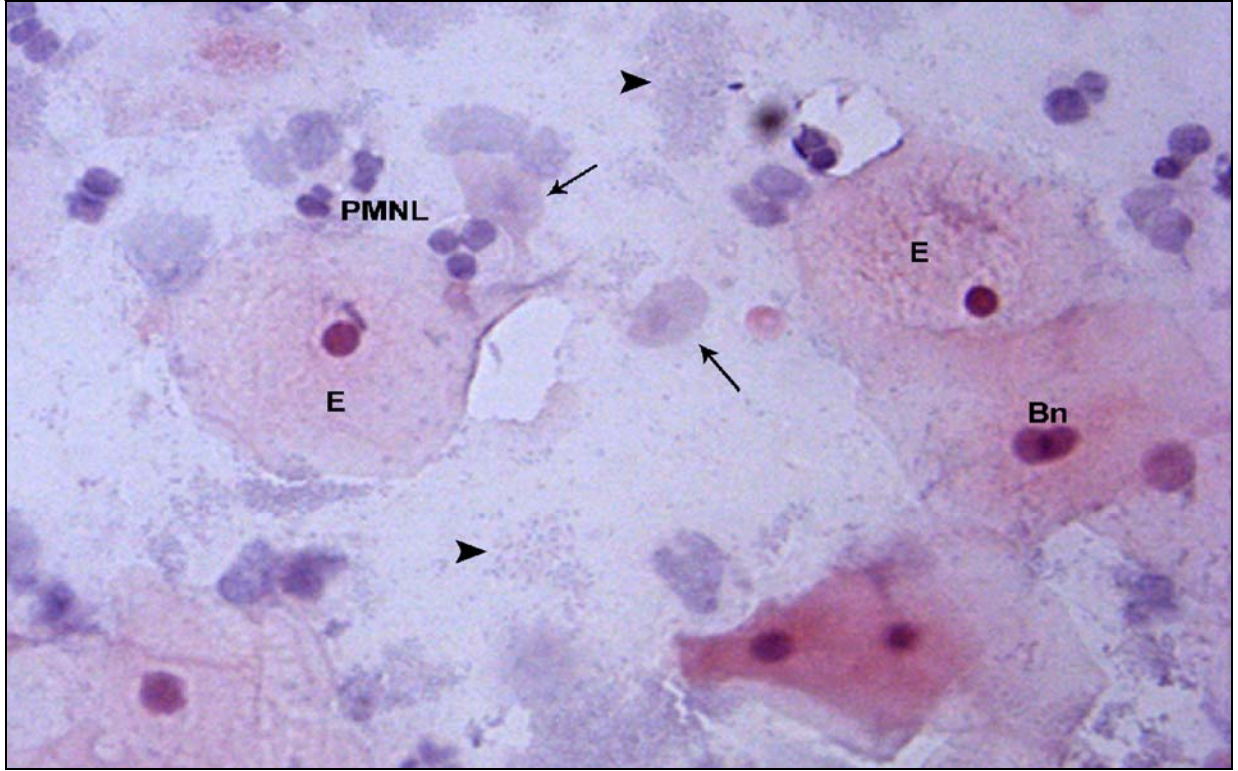
Şekil 4.8. Dört makrofaj (1,2,3,4) bir araya gelerek adeta bir rozet yapısı oluşturmuş grup halinde makrofajlarla (A) fagosite ettiği bir cisimcik adeta lizise uğramış gibi görülen fagositik bir makrofaj (B) görülmektedir. Her bir makrofajın köpüklü sitoplazması içindeki fagosite edilmiş PMNL'ler (ok) ve diğer farklı cisimciklerin (ok başı) bulunuşu dikkati çekmektedir (Papanicolaou X 500).



Şekil 4.9. Akt (+) olan 32 yaşındaki hastanın serviko-vajinal örneğinde metaplastik hücre grubu (M) ve PMNL'ler görülmektedir (Papanicolaou X 500).



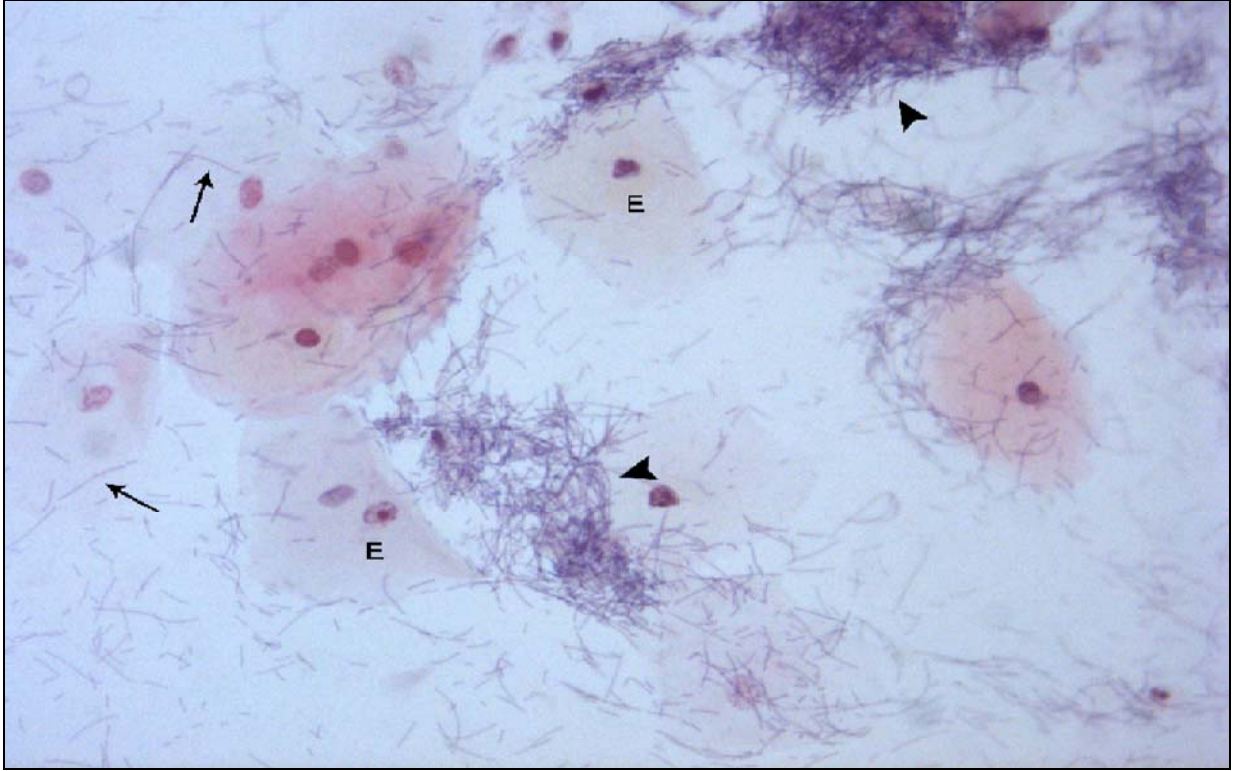
Şekil 4.10. Çekirdek etrafında sitoplazması lizise uğramış bir epitel hücresi (ok) (koilostotik hücre) görülmektedir (Papanicolaou X 500).



Şekil 4.11. Akt (+) olan hasta örneğinde *Trichomonas vaginalis*'ler (ok), alana dağılmış koklar (ok başı), epitel hücreleri (E), PMNL'ler ve iki çekirdekli (binükleasyon, Bn) epitel hücresi görülmektedir (Papanicolaou, X 500).



Şekil 4.12. Kandidal hif (H) (ok başı) ve blastosporlar (ok) ile PMNL'ler görülmektedir (Papanicolaou X 1250).



Şekil 4.13. Epitel hücreleri (E) arasında grup halinde (ok başı) ve tek tek (ok) Leptothrix'ler görülmektedir (Papanicolaou, X 500).

4.2. Serviko-vajinal Örneklerin Mikrobiyolojik Yöntemle İncelenmesi ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Mikrobiyolojik inceleme için 200 hastadan eküvyonla alınan serviko-vajinal örnekler anaerop transport sistemine aktarılarak mikrobiyoloji laboratuvarına götürülmüş ve bu örnekler üç aşamadan oluşan incelemeye alınmıştır. Bu aşamalar;

- 1) 200 hastaya ait gram boyama yöntemine göre boyanmış direkt yaymaların mikroskopik olarak incelenmesi,
- 2) Besiyelerine ekilen 200 örneğin anaerobik olarak üretilmesi,
- 3) Bu iki aşamada *Actinomyces* olduğundan şüphelenilen örnekler Crystal tanımlama sisteminin uygulanmasıdır.

Bu incelemeler sonucunda 200 hastanın yedisinde (% 3.5) *Actinomyces* varlığı saptanmış, bunlardan dördünün *Actinomyces viscosus*, ikisinin *Actinomyces israelii* ve birinin de *Actinomyces naeslundii* olduğu belirlenmiştir. *Actinomyces* pozitifliği ve türlerin belirlenmesi aşağıdaki işlemler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

Direkt yaymalarda mikroskopik olarak görülen gram pozitif dallanmış basillerin (Şekil 4.14) *Actinomyces* olabileceği düşünülmüş, ancak bu düşüncenin doğrulanması için anaerobik kültürasyon sonuçları beklenmiştir. Anaerobik kültürasyon aşamasında ise besiyerinde üreyen kuru ve kabarık kolonilerin *Actinomyces* olabileceğinden şüphelenilmiş (Şekil 4.15), fakat kesin tanının verilebilmesi için bu örnekler çalışmamızın üçüncü aşamasını oluşturan Crystal tanımlama sistemi uygulanmıştır. Bu aşamalardan geçirilen 200 örneğin ondokuzunun gramla boyanmış direkt yaymalarında gram pozitif kıvrık basiller görülmüştür. İkinci aşama olan anaerop uygulamaya geçildiğinde ise, bu 19 hastanın sadece beşinin besiyerinde kuru ve kabarık kolonilerin varlığı belirlenmiştir. Bu kolonilerden eküvyonla alınan örnekler daha sonra üçüncü aşama olan Crystal tanımlama sistemi uygulanmış ve örneklerin ikisinde Laktobasil, birinde *Actinomyces* ve ikisinde de *Propionibacterium*'ların ürediği görülmüştür. Ayrıca direkt yaymasında gram pozitif kıvrık basil görülmeyen fakat anaerop kültüründe kuru ve kabarık koloniler görülen diğer 14 hastaya Crystal tanımlama sistemi uygulandığında altısında *Actinomyces*, dördünde *Propionibacterium*, ikisinde *Mobiluncus*, birinde *Bifidobacterium* ve birinde de Laktobasil saptanmıştır (Çizelge 4.2). *Actinomyces* saptanan altı hastanın birinde

Actinomyces ile birlikte *Eubacterium* ve birinde de *Actinomyces* ile birlikte *Mobiluncus*'un ürediği görülmüştür. Crystal tanımlama sistemi sonucunda tespit edilen tüm mikroorganizmalar Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Akt (+) olan (n=7) ve Akt (-) olan (n=193) hastaların gramla boyanmış yaymalarında görülen tüm mikroskopik bulgular Çizelge 4.4'de verilmiştir. Bu çizelgede görüldüğü gibi, iki hasta grubunda PMNL görülme yüzdesinin Akt (+) hastalarda Akt (-) hastalara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Laktobasil ve gram pozitif basillerin ise Akt (-) hastalarda daha fazla görüldüğü dikkati çekmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda da, PMNL, laktobasil ve Gram (+) basil varlığı ile *Actinomyces* pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

4.3. Serviko-vajinal Örneklerde pH Ölçümü ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Actinomyces tanısı için ayrıca pH ölçümü yapılmıştır. Sitolojik ve mikrobiyolojik olarak Akt (+) olan hastaların pH ölçüm sonuçları Çizelge 4.5'de verilmiştir. Çizelgedeki değerler göz önüne alındığında, pH ölçümünün istatistiksel değerlendirmesi mikrobiyolojik yöntem için anlamsız ($p>0.05$), sitolojik yöntem için sınırda anlamlı ($p=0.07$) olarak bulunmuştur.

4.4. *Actinomyces* Pozitifliği Açısından Sitolojik ve Mikrobiyolojik Yöntemlerin Karşılaştırılması

Araştırma kapsamına alınan 200 hastadan altısına (% 3) sitolojik olarak, yedisine (% 3.5) mikrobiyolojik olarak, birine (% 0.5) ise hem sitolojik hem de mikrobiyolojik olarak *Actinomyces* tanısı verilmiştir (Çizelge 4.6). Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucu bu iki yöntemin *Actinomyces* tanısında birbirini desteklemediği tespit edilmiştir ($p>0.05$).

4.5. Klinik Bilgiler ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Araştırma kapsamındaki 200 hastanın yaş aralıkları ve yaş ortalamaları ile sitolojik ve mikrobiyolojik olarak Akt (+) altı ve yedi hastanın yaş aralıkları ve yaş ortalamaları Çizelge 4.7'de ayrı ayrı sunulmuştur.

Klinik veriler, jinekolojik yakınmalar ve klinik bilgiler olmak üzere iki grupta incelenmiştir. Değerlendirmeye alınan hasta grubumuzda akıntı, üriner yakınma, kasık ağrısı, bel ağrısı ve kanama gibi jinekolojik yakınmalar saptanmıştır. Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi, bu jinekolojik şikayetlerden üriner yakınma, bel ağrısı ve kanama şikayetlerinin görülme yüzdesinin sitolojik yöntemle saptanan Akt (+) hastalarda Akt (-) hastalara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca hastalarımız klinik bilgilere göre de değerlendirilmiştir (Çizelge 4.9). Klinik bilgilerin istatistiksel değerlendirilmesinde ise hormon kullanımı, operasyon geçirip geçirmediği ve RIA kullanımı ile ilgili bilgiler incelenmiştir. Yapılan istatistiksel analizlerde sitolojik olarak tespit edilen *Actinomyces* pozitifliği ile RIA kullanımı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Akt (+) hastalarda RIA kullanım süresinin ise ortalama 4.5 ± 1.7 yıl olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, mikrobiyolojik olarak Akt (+) hastalarda RIA kullananların yüzdesinin Akt (-) hastalara göre daha fazla olmasına rağmen, istatistiksel açıdan anlamsız olduğu görülmüştür. Ayrıca, sitolojik olarak Akt (+) grupta hormon kullanan ve operasyon geçiren hastaların yüzdesinin Akt (-) gruba göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Mikrobiyolojik inceleme aşamasında örneklere uygulanan yöntemler sonucunda elde edilen sonuçlar.

Direkt yaymaların incelenmesi	Anaerop kültür yöntemi	Crystal tanımlama Sistemi
Gram pozitif basil görülen yaymalar (n=19)	Kuru kabarık koloni saptanan besiyeri (n=5)	2 hastada <i>Lactobacillus</i> 2 hastada <i>Propionibacterium</i> 1 hastada <i>Actinomyces</i>
	Kuru kabarık koloni saptanmayan besiyeri (n=14)	-
Gram pozitif basil görülmeyen yaymalar (n=181)	Kuru kabarık koloni saptanan besiyeri (n=14)	6 hastada <i>Actinomyces</i> 4 hastada <i>Propionibacterium</i> 2 hastada <i>Mobiluncus</i> 1 hastada <i>Bifidobacterium</i> 1 hastada <i>Lactobacillus</i>
	Kuru kabarık koloni saptanmayan besiyeri (n=167)	-

Çizelge 4.3. Crystal tanımlama sistemi sonucunda teşhis edilen mikroorganizmalar

Mikroorganizmalar	Akt (+) hastalar (n = 7)	Akt (-) hastalar (n = 193)
<i>Mobiluncus</i>	1 (% 14.3)	2 (% 1.04)
<i>Eubacterium</i>	1 (% 14.3)	0 (% 0)
<i>Propionibacterium</i>	0 (% 0)	6 (% 3.11)
<i>Bifidobacterium</i>	0 (% 0)	1 (% 0.52)
<i>Lactobacillus</i>	0 (% 0)	3 (% 1.55)

Çizelge 4.4. Gram boyama yöntemine göre boyanmış direkt yaymalardaki mikroskopik bulgular (n=200).

Mikroskopik Bulgular	Akt (+) hastalar (n = 7)	Akt (-) hastalar (n = 193)
PMNL p>0.05		
VAR	5 (% 71.4)	101 (% 52.3)
YOK	2 (% 28.6)	92 (% 47.7)
Laktobasil p>0.05		
VAR	3 (% 42.8)	101 (% 52.3)
YOK	4 (% 57.2)	92 (% 47.7)
Gram (+) basil p>0.05		
VAR	1 (% 14.3)	33 (% 17.1)
YOK	6 (% 85.7)	160 (% 82.9)

Çizelge 4.5. Sitolojik ve Mikrobiyolojik Olarak Akt (+) hastaların pH açısından değerlendirilmesi

Yöntem	pH	
	< 6	> 6
Mikrobiyolojik yöntem (n=7) p>0.05	1 (% 14.3)	6 (% 85.7)
Sitolojik Yöntem (n=6) *p<0.05	0 (% 0)	6 (% 100)

* İstatistiksel açıdan sınırdan anlamlı.

Çizelge 4.6. *Actinomyces* pozitifliği açısından sitolojik ve mikrobiyolojik yöntemlerin karşılaştırılması

	Sitolojik inceleme	Mikrobiyolojik İnceleme
Akt (+)	6 (% 3)	7 (% 3.5)
Akt (-)	194 (% 97)	193 (% 96.5)
Toplam	200 (% 100)	200 (% 100)

Çizelge 4.7. 200 hastanın, mikrobiyolojik ve sitolojik olarak Akt (+) hastaların yaş aralıkları ve yaş ortalamaları

Hasta sayısı	Yaş Aralığı	Yaş Ortalaması
Toplam (n=200)	21-68	41.0±0.78
Mikrobiyolojik İnceleme (n=7)	23-65	42.7±15.1
Sitolojik İnceleme (n=6)	22-68	40.3±15.7

Çizelge 4.8. Hastaların jinekolojik şikayetlere göre değerlendirilmeleri

Jinekolojik Yakınmalar	Sitolojik İnceleme		Mikrobiyolojik İnceleme	
	Akt (+) (n=6)	Akt (-) (n=194)	Akt (+) (n=7)	Akt (-) (n=193)
Akıntı p>0.05				
VAR	1 (% 16.7)	46 (% 23.7)	1 (%14.3)	46 (%23.8)
YOK	5 (% 83.3)	148 (% 76.3)	6 (%85.7)	147 (%76.2)
Üriner Yakınma p>0.05				
VAR	1 (% 16.7)	8 (% 4.1)	0 (%0)	9 (% 4.7)
YOK	5 (% 83.3)	186 (% 95.9)	7 (%100)	184 (% 95.3)
Kasık Ağrısı p>0.05				
VAR	1 (% 16.7)	34 (% 17.5)	1 (% 14.3)	34 (% 17.6)
YOK	5 (% 83.3)	160 (% 82.5)	6 (%85.7)	159 (% 82.4)
Bel ağrısı p>0.05				
VAR	1 (% 16.7)	14 (% 7.2)	0 (% 0)	15 (% 7.8)
YOK	5 (% 83.3)	180 (% 92.8)	7 (% 100)	178 (% 92.2)
Kanama p>0.05				
VAR	1 (% 16.7)	16 (% 8.2)	0 (% 0)	17 (% 8.8)
YOK	5 (% 83.3)	178 (% 91.8)	7 (% 100)	176 (% 91.2)

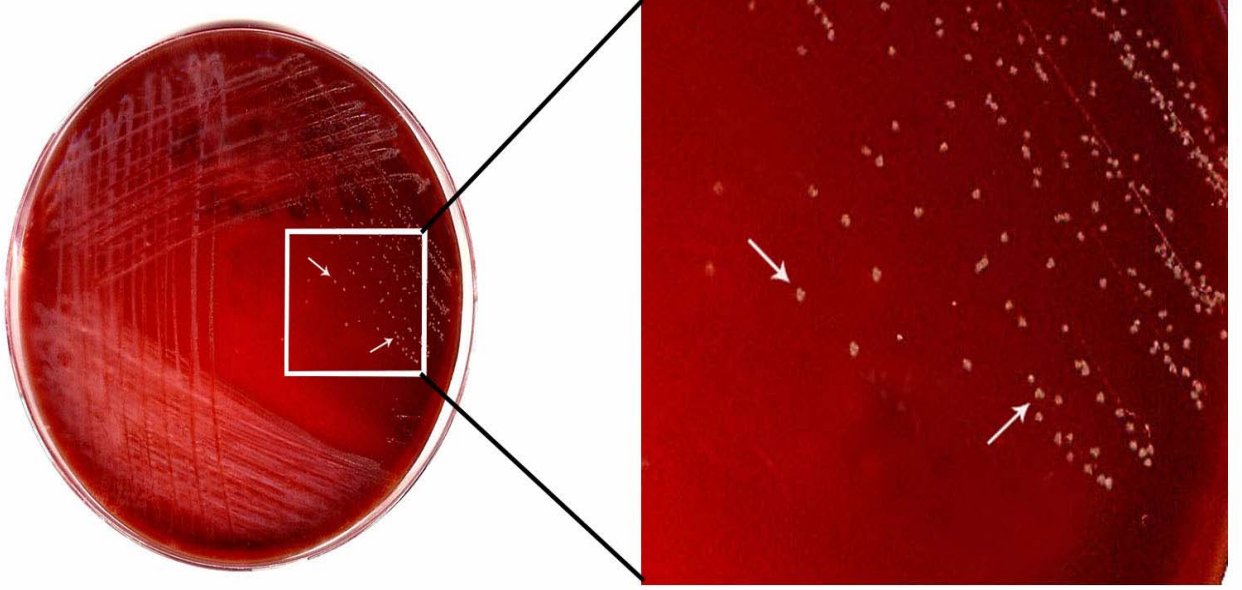
Çizelge 4.9. Hastaların klinik bilgilere göre değerlendirilmeleri

Klinik Bilgiler	Sitolojik İnceleme		Mikrobiyolojik İnceleme	
	Akt (+) (n=6)	Akt (-) (n=194)	Akt (+) (n=7)	Akt (-) (n=193)
RIA kullanımı *p<0.05				
VAR	4 (% 66.7)	46 (% 23.7)	3 (% 42.8)	47 (% 24.3)
YOK	2 (% 33.3)	148 (% 76.3)	4 (% 57.2)	146 (% 75.7)
Operasyon p>0.05				
VAR	1 (% 16.7)	15 (% 7.7)	0 (% 0)	16 (% 8.3)
YOK	5 (% 83.3)	179 (% 92.3)	7 (% 100)	177 (% 91.7)
Hormon Kullanımı p>0.05				
VAR	1 (% 16.7)	23 (% 11.8)	2 (% 28.6)	22 (% 11.4)
YOK	5 (% 83.3)	171 (% 88.1)	5 (% 71.4)	171 (% 88.6)

* RIA kullanımının istatistiksel değerlendirilmesi sitolojik yöntem için anlamlı, mikrobiyolojik yöntem için anlamsız.



Şekil 4.14. Gram boyama yöntemine göre boyanan direkt yaymalarda gram pozitif, kıvrık basiller formda *Actinomyces*'ler görülmektedir (Gram, X1250).



Şekil 4.15. Schaedler katı besiyerinde üreyen kuru ve kabarık *Actinomyces* kolonileri (ok) görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Actinomyces türlerinin neden olduğu pelvik aktinomikoz, pelvik organlarda görülen, yayılabilen, kronik ve fistül oluşturabilen bir enfeksiyondur (Gorisek et al., 1999; Petrone et al., 1999; Koshiyama et al., 1999; Scribner et al., 2000; Chaudhry and Greenspan, 2000; Feiter and Soeters, 2001). İlerlemiş vakalarda tubo-ovarian apseler nedeniyle histerektomi ve ooferektomi uygulamasına gidilebilmektedir (Merki-Field et al., 2000). Bu nedenle doğru ve güvenilir tanı önem taşımaktadır. *Actinomyces* türlerinin anaerobik üreme özelliği göstermeleri tanıda güçlük yaratmaktadır. Bu çalışmada mikrobiyolojik ve sitolojik tanı yöntemleri kullanılarak 200 hastaya ait serviko-vajinal sıvı örnekleri ile *Actinomyces* varlığının saptanması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 200 hastanın hem serviko-vajinal simirleri hem de kültür örnekleri *Actinomyces* açısından değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiştir. Bu çizelgede de görüldüğü gibi, 200 hastadan altısında sitolojik olarak (% 3), yedisinde (% 3.5) mikrobiyolojik olarak *Actinomyces* saptanmış, fakat bu hastalardan sadece birinin (% 0.5) hem sitolojik hem de mikrobiyolojik olarak *Actinomyces* pozitif olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak karşılaştırdığımızda da, bu iki yöntem arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$). Literatürde de bu iki yöntemin *Actinomyces* tanısında birbirini desteklemediği görüşü bulunmaktadır. Literatürde bu konu ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında, Nayar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 173 hastanın yedisinin Papanicolaou yaymalarında *Actinomyces* tespit edildiği, fakat bu yedi örneğin hiç birinin kültür örneklerinde *Actinomyces* üretilmediği görülmüştür (Nayar et al., 1985). Hager ve çalışma grubunun yaptığı çalışmada da elli hastanın dördü Papanicolaou yöntemiyle *Actinomyces* pozitif görülürken, bu dört hastanın sadece birinin kültüründe *Actinomyces* ürediği bulunmuştur (Hager et al., 1979). Valicenti ve arkadaşları ise Papanicolaou simirlerinde *Actinomyces* saptanan onüç hastanın dokuzunu immünfloresan yöntemi ile doğrulamış, fakat bu çalışma grubunun hiç birinin kültüründe *Actinomyces* üremediğini belirlemişlerdir (Valicenti et al, 1982). Gupta ve arkadaşları da yaymalarında *Actinomyces* tespit ettikleri hastaların kültürlerinde bu organizmayı üretememişlerdir (Gupta et al, 1978). Bizim çalışmamız sonucunda elde edilen bulgu, bu literatür bulguları ile paralellik göstermektedir.

Actinomyces türlerinin patogeneğinde, bu organizmaların epitel hücrelerine tutunmasının önemli bir virülans faktör olduğu bir çok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Taylor, 1996; Figdor et al., 1997; Jost et al., 2002). Jost ve ark., *Actinomyces* ve konakçı hücreleri arasındaki bu etkileşimin, *Actinomyces* türlerinin yüzeyinde bulunan veya bu organizmalar tarafından salgılanan proteinlerle gerçekleştiğini bildirmişlerdir ve bu yüzey proteinlerinden nöraminidazların, *Actinomyces israelii*'nin epitel hücrelerine tutunmasını önemli derecede arttırdığını göstermişlerdir (Jost et al., 2002). Bakteriyel yüzey lektinleri de, bakterilerin konakçı dokularına yapışmasını sağlayan diğer faktörlerden biridir (Taylor, 1996). Konakçı epitel hücrelerine yapışma özelliklerine ilaveten *Actinomyces* türlerinin birbirlerine yapışarak koloni oluşturmalarının da patojenitede rol oynayan diğer özelliklerinden biri olduğu bildirilmektedir (Figdor et al., 1997). Bu bilgiler ışığında, *Actinomyces* türlerinin hem koloni oluşturma hem de epitel hücrelerine yapışma yetenekleri bu organizmaların patojenitesini arttırmaktadır (Sharon, 1987). Literatür bilgilerindeki bu gözlemler bizim çalışmamızda da önemli bir bulgu olarak kaydedilmiştir. *Actinomyces*'in adeta bir köprü oluştururcasına epitel hücreleri ile bağlantı kurabildiği ve adeta onlara yapıştığı, bu bağlantının epitel hücreleri uzak mesafede bile olsa gerçekleşebildiği yaymalarda ışık mikroskopik olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Mikroorganizmaların epitel hücreleri ile bağlantısında, ancak iki hücre birbirine çok yaklaştığında bağlantının kurulabildiği bilinmektedir. Fakat burada hücreler birbirinden çok uzakta olmasına rağmen bağlantının kurulmuş olması, *Actinomyces*'in kemotaktik bir madde salgılayarak epitel hücresi ile bağlantı kurabildiğini bize düşündürmüştür. *Actinomyces*'in PMNL'ye karşı kemotaktik bir madde salgıladığı belirtilmiş olmasına rağmen epitel hücrelerine karşı böyle bir madde salgıladığını belirten bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak düşüncelerimiz, uzaktaki epitel hücresi ile olan bağlantıda *Actinomyces*'in kemotaktik bir madde salgılayarak hücreyi kendine doğru çekip bu bağlantıyı sağladığı yönündedir. Yakınında bulunan hücre ile olan etkileşimde de, epitel hücre zarının *Actinomyces* ile etkileşim bölgesinde bir kalınlaşmanın olduğu dikkatimizi çekmiştir (Şekil 4.3). Şekil 4.2 ve 4.3'de görüldüğü gibi, *Actinomyces*'in çok katlı yassı epitelin en üst katında bulunan yüzeyel hücrelere tutunduğu saptanmıştır. Ağız, gastrointestinal ve genital sistemde normal olarak bulunan bu mikroorganizmalar ancak normal mukozal bariyerin lokal bir hastalık, travma, cerrahi girişim veya yabancı cisim gibi nedenlerle kırılması sonucu enfeksiyon

meydana getirebilirler (Williams et al., 1990; Fiorino, 1996; Beier and Rusnak, 1997; Petrone et al., 1999; Scribner et al, 2000; Feiter ve Soeters, 2001; Najjar, 2002). Mukozal bariyerin kırılması sırasında da *Actinomyces*'in ilk karşılaştığı hücreler çok katlı yassı epitelin en üst tabakasındaki yüzeyel hücrelerdir. Dokuya girdikten sonra da yayılarak daha alt dokulara geçtikleri bilinmektedir. Çalışmamızda *Actinomyces*'lerin bağlantıyı kornifiye hücrelerle kurmuş olması literatür bilgileri ile uyum göstermektedir. Diğer bir önemli bulgumuz da, Şekil 4.3'de görüldüğü gibi *Actinomyces*-epitel bağlantısında epitel hücre zarındaki kalınlaşmalardır. Bu kalınlaşmaların *Actinomyces* hücre duvarındaki peptidoglikanlar (Arda, 1985) ve yine hücre yüzeyindeki tüy şeklindeki fimbriaların (Figdor et al., 1996) epitel hücre ile yaptığı bağlantılar sonucu oluşmuş olabileceği düşünülmüştür. Bu şekillerde *Actinomyces*'i epitel hücrelerine tutunmuş olarak görmemiz, epitel hücrelerine yapışmanın patojenitede önemli bir basamak olduğunu vurgulayan makalelerle bağdaşmaktadır.

Diğer önemli bir bulgumuz da, *Actinomyces*'lerin sadece epitel hücrelerine değil aynı zamanda PMNL ve eritrositlere de tutunmuş olarak görülmesidir. Aktinomikotik enfeksiyonlar, çok bol PMNL ve mononükleer hücrelerle karakterize olan ve uzun süre devam eden iltihabi lezyonlardır (Engel et al., 1976). Çalışmamızda da gerek sitolojik gerekse kültürasyonu yapılmış örneklerin direkt yaymalarında çok bol PMNL görülmüştür. Ayrıca Şekil 4.4'de bir PMNL ile *Actinomyces* arasında bağlantının bulunduğu tespit edilmiştir. Engel ve ark. yaptıkları bir çalışmada *Actinomyces viscosus*'un insan PMNL'leri için etkili bir kemotaktik aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir (Engel et al., 1976). Şekil 4.4'deki *Actinomyces*-PMNL ilişkisi de bu fikri doğrulamaktadır. Ayrıca anaerobik ve aerobik in vitro koşullar altında *Actinomyces israelii* türünün insan PMNL'leri tarafından kolaylıkla fagosite edilebileceğini ancak *Actinomyces*'in karakteristik kohesif koloniler oluşturarak konakçı hücre fagositozundan kurtulabileceğini Figdor ve ark. (1992) yaptıkları bir çalışmada bildirmişlerdir. Çalışmamızda incelenmiş olan yaymalarda PMNL'ler çok bol görülmesine rağmen *Actinomyces*'in kümeler halinde görülmüş olması bize *Actinomyces*'in PMNL fagositozundan bu şekilde kurtulabildiğini düşündürmüştür. İstatistiksel olarak *Actinomyces* pozitifliği ile PMNL varlığı arasında anlamlı bir ilişki görülmemiş olmasına rağmen, PMNL'lerin

Akt (+) hastalarda Akt (-) hastalara göre daha fazla görüldüğü belirlenmiştir. Bu da literatür bilgileri ile uyum göstermektedir.

Şekil 4.4'de görüldüğü gibi, *Actinomyces* bir taraftan PMNL'ye tutunurken diğer taraftan da eritrositle bağlantı kurmuş durumdadır. *Actinomyces*'in eritrosite tutunmuş olması, bu organizmanın hemoglobin gibi demir içeren bazı molekülleri beslemek amacıyla kullanabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca eritrosit zarında görülen düzensizliklerin *Actinomyces* tarafından salgılanan bazı toksinler nedeniyle olup olmadığı düşünülmüş fakat bununla ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu konu ile ilgili ileri çalışmalar yapılabileceği düşünülmüştür.

Eozinofil lökositlerin, parazitik enfeksiyonlarda, alerji ve astım gibi hastalıklarda vücut savunmasında görev aldıkları ve iltihabi cevaba katıldıkları bilinmektedir (Junqueira et al., 1998). Bununla birlikte, eozinofillerin konakçı savunma sistemindeki rolleri tam olarak aydınlatılamamıştır (Calafat et al., 1998). Bazı yazarlar eozinofillerin sayılarının mukozal bariyerin bütünlüğünün bozulduğu ve bakterilerin dokuyu istila ettikleri durumlarda arttığını bildirmektedir (Persson et al., 2001). Bazı yazarlar da eozinofil lökositlerin bakteriyel enfeksiyonlara karşı oluşan vücut savunmasındaki rollerinin tam olarak anlaşılamadığını rapor etmektedirler. Ayrıca pek çok araştırmada eozinofil lökositlerin bakterileri öldürme yeteneklerinin PMNL'lerden daha az olduğu gösterilmiştir (Yazdanbakhsh et al., 1986; De Chatelet et al., 1998; Persson et al., 2001). Bizim çalışmamızda sitolojik olarak *Actinomyces* saptanan altı hastadan dördünün (% 66.7) yaymasında eozinofil lökosit görülmüş ve *Actinomyces* pozitifliği ile eozinofil lökosit varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Bu bulgumuz, bakterilere karşı oluşturulan vücut savunmasına eozinofillerin de katıldığını bildiren bulgularla uyum göstermektedir.

Laktobasiller tarafından üretilen laktik asit ve diğer yağ asitlerinin, vajinal asidite sağladığı ve bu asidifikasyonun patojen mikroorganizmaların gelişimini engellediği bilinmektedir (Cerbini et al., 1985; Boris and Barbes, 2000). Bizim sonuçlarımız da bu bilgiyi desteklemektedir. Bu görüşteki gibi bizim çalışmamızda da *Actinomyces* saptanan hastaların yaymalarında Laktobasil sayısında önemli bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Sitolojik olarak Akt (+) altı hastanın sadece birinin ve

mikrobiyolojik olarak Akt (+) yedi hastanın da üçünün yaymalarında az miktarda laktobasile rastlanmıştır. Laktobasil miktarındaki bu azalmaya bağlı olarak, vajen asiditesinin azalmış olabileceği ve böylece mikroorganizmaların üremiş olabileceği düşünülmüştür. Bu düşüncemiz, yaptığımız pH ölçümleri ile de desteklenmiştir. Sitolojik olarak Akt (+) altı hastanın tümünde ve mikrobiyolojik olarak Akt (+) yedi hastanın da altısında serviko-vajinal pH'nın 6'dan büyük olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5). Bunun yanı sıra, Akt (+) olan altı hastada kokobasil görülme yüzdesinin Akt (-) hastalara göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Kokobasillerin Akt (+) hastalarda görülme yüzdesindeki artışının, laktobasil sayısındaki azalmayla ve serviko-vajinal pH'nın yüksek olmasıyla bağlantılı olabileceği düşünülmüştür.

İstatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamasına rağmen ($p>0.05$), Akt (+) hastalarda Akt (-) hastalara göre metaplazinin görülme yüzdesinin daha fazla olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda sitolojik olarak Akt (+) altı yaymanın birinde (% 16.7) metaplazik hücrelere rastlanmıştır. Akt (+) bu hastanın da RİA kullandığı tespit edilmiştir. Literatür bilgilerinde metaplazinin enfeksiyona bağlı olarak oluşan kronik bir irritasyon, bir hasar veya mekanik bir travmaya bağlı olarak meydana geldiği bildirilmektedir (Koss, 1992). Bizim sonucumuza bakıldığında da, metaplazinin *Actinomyces* nedeni ile değil RİA'nın neden olduğu mekanik bir travma sonucu meydana gelmiş olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, *Actinomyces* saptanan 6altı hastanın hepsinde makrofaj görülmüştür ve makrofajların iltihabi süreçte servikal ve vajinal simirlerde görüldüğü bilinmektedir. Buna göre, makrofaj bulunması ile *Actinomyces* arasında anlamlı bir ilişki olduğu düşünülmüş ve bu istatistiksel olarak da desteklenmiştir ($p<0.05$).

Actinomyces varlığında epitel hücrelerinin sitoplazmalarında ve çekirdeklerinde herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır. Akt (+) hastalardan sadece birinin yaymasında bol miktarda koilostotik hücreler saptanmıştır. Bu sonuca göre, *Actinomyces* varlığında epitel hücrelerinde herhangi bir değişiklik görülmediği ve görülen bazı değişikliklerin de tanımlayıcı bir özellik göstermediği belirlenmiştir.

Çalışmamızın sitolojik inceleme aşamasında Akt (+) altı yaymanın birinde *Actinomyces* ile birlikte *Leptothrix*, birinde de *Trichomonas vaginalis* ile *Candida* hif ve blastosporları görülmüştür (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12). *Candida* türlerinin neden

olduğu vajinal candidiasis pH=4.0-4.5 civarında ortaya çıkmaktadır (Koss, 1992; Sobel, 1993). *Trichomonas* ve *Actinomyces* gibi patojen mikroorganizmaların ise bazik pH'da üreyebildiği bilinmektedir. *Actinomyces* ile birlikte *T. vaginalis* ve *Candida* görülen hastada serviko-vajinal sıvının pH'sının 7 olarak ölçülmesi, bu mikroorganizmaların bir arada bazik pH'da yaşayabileceğini düşündürmüştür. Yapılan bir çalışmada *Actinomyces* saptanan 36 serviko-vajinal yaymanın birinde *Trichomonas vaginalis* ve onikisinde de "clue cell" denilen ipucu hücrelerinin görüldüğü bildirilmiştir (Jones et al., 1979). Çalışmamızın mikrobiyolojik inceleme aşamasında da Akt (+) yedi hastadan birinde *Actinomyces* yanı sıra *Eubacterium* ve birinde de *Mobilincus* ürediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). *Actinomyces*'e ilaveten sitolojik ve mikrobiyolojik olarak ayrı ayrı saptanan bu enfeksiyon etkenlerinin *Actinomyces*'in gelişimi için uygun bir ortam hazırlamış olabilecekleri düşünölmüştür. Bu bulgularımız, aktinomikozun polimikrobiyal bir enfeksiyon olduğunu vurgulayan diğer çalışmaların bulguları ile paralellik göstermektedir (Hillier and Moncla, 1991; Gorisek et al., 1999; Chaudhry and Greenspan, 2000).

Araştırmamızda *Actinomyces*'e mikrobiyolojik olarak tanı verilirken gram boyama yöntemine göre boyanmış direkt yaymalardan elde edilen mikroskopik bulgularla anaerobik olarak inkübe edilen besiyerlerinden alınan sonuçlar birlikte değerlendirilmiştir. Direkt yaymalarda görülen gram pozitif dallanmış basillerin ve besiyerlerinde saptanan kuru ve kabarık kolonilerin *Actinomyces* olabileceğinden şüphelenilmiştir. Fakat gramla boyanmış direkt yaymalarında gram pozitif kıvrık basil saptanan ondokuz hastanın sadece birinin kültüründe *Actinomyces* üretilbilmiştir. Kültüründe *Actinomyces* üretilen diğer Akt (+) altı hastanın ise direkt yaymalarında bu tip basillere rastlanmamıştır. Bu nedenle, gram boyama yönteminin başlı başına *Actinomyces* açısından ayırt edici bir yöntem olmadığı sonucuna gidilmiştir.

RİA kullanımı ve *Actinomyces* görölme sıklığı ile ilgili literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Persson et al., 1983; Williams et al., 1990; Sandin et al., 1993; Nawroth et al., 2000). RİA, gebeliği önleyici etkisi ile birlikte üzerinde bulunan bakır teller sayesinde bakteriyostatik (bakterileri öldürücü) bir etkiye de sahiptir (Treiman et al, 1995). Bu tellerden her gün 27 µg bakır salındığı ve dolayısıyla RİA'nın kullanım süresi uzadıkça RİA'nın içerdığı bakır miktarının ve

bakterilere karşı koruyucu etkisinin azaldığı bildirilmektedir (Nayar et al., 1985; Evans, 1993; Chatwani and Amin-Hanjani, 1994). Yapılan çalışmalarda da uzun süreli RİA kullanımı ile *Actinomyces* varlığı arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Gorisek et al., 1999). Bizim de değerlendirmeye aldığımız hasta grubumuzda sitolojik olarak Akt (+) altı hastanın dördünün, mikrobiyolojik olarak da Akt (+) yedi hastanın üçünün RİA kullandığı belirlenmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler sonucunda da *Actinomyces* pozitifliği ile RİA kullanımı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($p<0.05$). RİA kullanan hastalarımızın kullanım sürelerinin ortalaması alındığında 4.5 yıl olduğu bulunmuştur. Literatür bilgisine göre RİA'nın normal kullanım süresi 3 yıldır (Gorisek et al., 1999). Bizim bulgumuzda RİA'nın kullanım süresinin ortalamasının 4.5 yıl gibi uzun bir süre olması, *Actinomyces* varlığı ile uzun süreli RİA kullanımı arasındaki ilişkiyi belirten diğer yazarların bulguları ile paralellik göstermektedir.

Literatürde pelvik aktinomikozun başlıca etkeninin *Actinomyces israelii* olduğu bildirilmesine rağmen (Persson and Holmberg, 1984a; Chaudhry and Greenspan, 2000), çalışmamızda *Actinomyces israelii* yanı sıra *Actinomyces viscosus* ve *Actinomyces naeslundii* gibi türlerde üretilmiştir. Bu bulgumuz, başlıca florası ağız boşluğu olan bu türlerin genital sistemden de izole edilebileceklerini göstermiştir.

Araştırmamızın mikrobiyolojik aşamasında, koloni yapısına bakılarak *Actinomyces* olduğundan şüphelenilen bazı kolonilerin *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* ve *Mobiluncus* olduğu tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmalar da, *Actinomyces* gibi Gram pozitif, spor oluşturmeyen filamentöz organizmalardır ve morfolojik olarak *Actinomyces*'e çok benzemektedirler (Hillier and Moncla, 1991; Fiorino, 1996). Morfolojik olarak birbirlerine çok benzeyen bu cinsler, ancak bazı biyokimyasal testlerle ayırt edilebilmektedir. Bizim de çalışmamızda bu amaçla nitrat redüksiyonu, karbonhidrat fermentasyonu ve eskulin hidrolizi gibi bazı biyokimyasal testler uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi, *Actinomyces* olduğundan şüphelenilmesine rağmen hastaların altısında *Propionibacterium*, ikisinde *Bifidobacterium*, birinde *Mobiluncus* ve birinde de *Eubacterium* ürediği saptanmıştır.

Pelvik Aktinomikoz kahverengi ve kötü kokulu vajinal akıntı, abdominal ağrı ve anormal vajinal kanama ile karakterize edilmesine rağmen (Gupta, 1982; Sandin et al., 1993; Abadi and Abadi, 1996), çalışmamızda kötü kokulu ve kahverengi akıntı çeşidine hiç bir hastada rastlanmamıştır. Sitolojik ve mikrobiyolojik olarak Akt (+) ve Akt (-) hastaların klinik şikayetleri Çizelge 4.8'de ayrı ayrı verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, klinik şikayetler ve *Actinomyces* varlığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunamamasına rağmen ($p < 0.05$), üriner yakınma, bel ağrısı ve kanama şikayetlerinin görülme yüzdesinin sitolojik olarak *Actinomyces* (+) hastalarda Akt (-) hastalara göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, mikrobiyolojik olarak Akt (+) hastalarda bu şikayetlerin hiç birine rastlanmamıştır. Mikrobiyolojik olarak Akt (+) hastalarda görülen klinik şikayetlerin ise akıntı ve kasık ağrısı olduğu belirlenmiştir. Klinik şikayetlerin *Actinomyces* tanısında belirleyici bir kriter olmadığı yönündeki bulgumuz, Persson ve Holmberg'in sonuçları ile de bağdaşmaktadır (Persson and Holmberg, 1984a). Bizim bulgularımızın aksine, Gupta ve ark. (1976), yaptıkları çalışmada *Actinomyces* ile enfekte bütün kadınların semptomatik olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda hastaların semptomatik olmaması, bu hastalarda enfeksiyonun ilerlememiş olduğunu buna bağlı olarak da klinik şikayetlerin görülmemiş olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda *Actinomyces*'in menstrual evrelere göre görülme yüzdesi de araştırılmış ve sitolojik olarak Akt (+) altı hastadan dördünün ve mikrobiyolojik olarak Akt (+) yedi hastadan da birinin menstruasyon döneminde olduğu görülmüştür. Literatürde *Actinomyces*'in yüzeysel yerleşimi ve kırılğan yapısı nedeniyle menstrual kanama ile uterustan temizlendiğine dair bilgi bulunmaktadır (Kriplani et al., 1994; Nawroth et al., 2000). Bizim çalışmamızda da, *Actinomyces*'in toplam beş hastada menstruasyon döneminde saptanması, bize *Actinomyces*'in menstrual kanama ile birlikte uterustan atılması sırasında örneğin alınmış olabileceğini düşündürmüştür.

Ayrıca sitolojik olarak Akt (+) bir hastanın ve mikrobiyolojik olarak Akt (+) üç hastanın menopozda olduğu saptanmıştır. *Actinomyces*'in menopoz döneminde çok görülmesi de, menstrual kanama olmadığına *Actinomyces* türlerinin mukozal yüzeye daha kolay tutunabileceğini ve gelişebileceğini düşündürmüştür.

Menopozda östrojen seviyesinin azalmasına bağlı olarak laktobasil kolonizasyonu azalmakta ve bu azalmaya bağlı olarak da patojen mikroorganizmaların gelişimi kolaylaşmaktadır (Larsen, 1993). Ayrıca, östrojen tedavisi almayan postmenopozal kadınlarda, menopoz öncesi daha düşük olan pH artmakta ve buna bağlı olarak ortam anaerobik organizmalar için daha uygun hale gelmektedir (Larsen, 1982). Bizim çalışmamızda *Actinomyces*'in dört hastada menopoz döneminde görülmesi, bu literatür bilgileri ile de desteklenmektedir.

Araştırmamızda Akt (+) ve Akt (-) hastaların yaş aralıkları ve yaş ortalamaları da değerlendirilmiş (Çizelge 4.7) ve *Actinomyces* varlığı ile yaş arasında istatistiksel bir ilişki bulunmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Bu bulgumuz, aktinomikozun yaşa bağlı bir enfeksiyon olmadığını bildiren çalışmalarla uyumluluk göstermiştir.

Çalışmamızda *Actinomyces*, sitolojik olarak 200 hastanın sadece altısında mikrobiyolojik olarak da yedisinde görülmüştür. Burada görüldüğü gibi saptanma oranının düşük olmasında, çalışma kapsamına alınan hastaların sosyoekonomik düzeylerinin yüksek olması, doktor kontrollerinde süreklilik göstermeleri, verilen tedaviyi önerilen şekilde ve sürede uygulamaları gibi faktörlerin etkili olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, *Actinomyces*'in yavaş üremesi ve hızlı üreyen diğer organizmaların *Actinomyces*'in üremesini inhibe etmesinin de düşük izolasyonun nedenlerinden bir diğeri olabileceğini düşündürmüştür.

Actinomyces saptadığımız hastalara penisilin tedavisi uygulanmış ve tedavi bitiminde kontrol yaymaları alınmıştır. Fakat, herhangi bir patojen organizmaya rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, *Actinomyces* tanısında Papanicolaou yaymaları oldukça pratik olmasına rağmen, yaymalarda ancak *Actinomyces*-benzeri organizmalar saptanabilmektedir. Mikrobiyolojik incelemede ise yavaş ve zor üreyen *Actinomyces*'in hızlı üreyen diğer anaerob bakteriler tarafından engellenmesi tanıda güçlük yaratmaktadır. Bu nedenle, doğru tanı için klinik bilgiler ve sitolojik bulgular birlikte değerlendirilerek *Actinomyces* açısından şüpheli bulunan hastaların mikrobiyolojik olarak da incelenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abrashev, I. and Dulguerova, G., 2000, Neuraminidase (Sialidases) from bacterial origin, *Exp Pathol Parasitol*, 4, 35-40.
- Abadi, MA. and Abadi, J., 1996, *Actinomyces* chorioamnionitis and preterm labor in a twin pregnancy: a case report, *Am J Obstet Gynecol*, 175, 1391-2.
- Akman, M., 1977, Bakteri Genetiği, Cumhuriyet Üniversitesi Yayını No:1, Sivas, 31-53.
- Arda, M., 1985, Genel Bakterioloji 3. Baskı, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları 402, Ankara, 8-33.
- Beier, KH. and Rusnak, RA., 1997, Unusual Presentation of Cervicothoracic Actinomycosis Complicated by Pericardial Effusion: A case report, *J Emerg Med*, 15(3), 303-307.
- Benkiran, L., Gamra, L., Lamalmi, N., Essouyeh, M., Regragui, A., Amrani, M., 2002, Pelvic actinomycosis simulating adnexal malignant tumor, *Med Trop (Mars)*, 62(1), 73-6.
- Bonacho, I., Pita, S., Gomez-Besteiro, M., 2001, The Importance of the removal of the intrauterine device in genital colonization by *Actinomyces*, *Gynecol Obstet Invest*, 52, 119-123.
- Boris, S. and Barbes, C., 2000, Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens, *Microbes Infect*, 2, 543-546.
- Brennan, MJ., Cisar, JO., Vatter, AE., Sandberg, AL., 1984, Lectin-dependent attachment of *Actinomyces naeslundii* to receptors on epithelial cells, *Infect. Immun.*, 46(2), 459-64.
- Calafat, J., Janssen, H., Tool, A., Dentener, M.A., Knol, E.F., Rosenberg, H.F., Egesten, A., 1998, The Bactericidal/Permeability-Increasing Protein (BPI) Is Present in Specific Granules of Human Eosinophils, *Blood*, 91(12), 4770-4775.
- Cavalier-Smith, 2002, <http://sn2000.taxonomy.nl/Taxonomicon/TaxonTree.asp>
- Cerbini, S., Greco, M., Lalli, P., Santucci, A., Pitzurra, M., 1985, Vaginal microscopic evidence in women with symptoms of genital infection, *Health Stat Nord Ctries*, 36(1), 77-84.
- Chatwani, A. and Amin-Hanjani, S., 1994, Incidence of Actinomycosis associated with intrauterine devices, *J Reprod Med*, 39, 585-587.

- Chaudhry, SI. and Greenspan, JS., 2000, Actinomycosis in HIV infection: a review of a rare complication, *International Journal of STD & AIDS*, 11, 349-355.
- Cisar, JO. And Vatter, AE., 1979, Surface fibrils (fimbriae) of *Actinomyces viscosus* T14V, *Infect. Immun.*, 24(2), 523-31.
- Cleghorn, AG. and Wilkinson, RG., 1989, The IUCD-associated incidence of *Actinomyces israelii* in the female genital tract, *Aust NZ J Obstet Gynecol*, 29(4), 445-449.
- Cobellis, L., Messalli, EM., Pierno, G., 2001, Pelvic actinomycosis in menopause: a case report, *Maturitas*, 39, 79-81.
- Çalışkan, E., Taşçı, Y., Karaçay, Ö., Kayıkçıoğlu, F., Haberal, A., Pelvic Actinomycosis associated with a copper-T intrauterine device, *Artemis*, 4(1), 63-65.
- De Chatelet, L.R., Migler, R.A., Shirley, P.S., Muss, H.B., Szejda, P., Bass, D.A., 1998, Comparison of intracellular bactericidal activities of human neutrophils and eosinophils, *Parasite Immunology*, 20(9), 405.
- Duda, JJ. and Slack, SV., 1972, Ultrastructural studies on the genus *Actinomyces*, *J Gen Microbiol*, 71, 63-8.
- Dybdahl, H., Hastrup, J., Baandrup, U., 1991, The clinical significance of *Actinomyces* colonization as seen in cervical smears, *Acta Cytol*, 35(1), 142-143.
- education.med.nyu.edu/courses/microbiology/courseware/infect.disease/16-18a.ACTINO.V.gif
- El-Badrawi, HH. and Hafez, ESE., 1980, Physiological mechanisms of IUDs. Medicated Intrauterine Devices Physiological and Clinical Aspects. Hafez, ESE. and Van Os, WAA (eds), Martinus Nijhoff Publishers, The Hague/Boston/London. pp.60-62.
- Elhag, KM., Bahar, AM., Muharak, AA., 1988, The effect of a copper intrauterine contraceptive device on the microbial ecology of the female genital tract, *J Med Microbiol*, 25 245-251.
- Engel, D., Epps, DV., Clagett, J., 1976, In vivo and in vitro studies on possible pathogenic mechanisms of *Actinomyces viscosus*, *Infect Immun.*, 14(2), 548-54.
- Evans, DTP., 1993, *Actinomyces israelii* in the female genital tract: a review, *Genitourin Med*, 69, 54-59.

faculty.plattsburgh.edu

- Feiter, PW. and Soeters, PB., 2001, Gastrointestinal Actinomycosis: an unusual presentation with obstructive uropathy, *Dis Colon Rectum*, 44, 1521-1525.
- Figdor, D., Endo, D., Davies, J., 1997, Cell surface structures of *Actinomyces israelii*, *Aust Dent J*, 42(2), 125-8.
- Figdor, D., Sjogren U., Sorlin, S., Sundqvist, G., Nair, PN., 1992, Pathogenicity of *Actinomyces israelii* and *Arachnia propionica*: experimental infection in guinea pigs and phagocytosis and intracellular killing by human polymorphonuclear leucocytes in vitro, *Oral Microbiol Immunol*, 7(3), 129-136.
- Fiorino, AS., 1996, Intrauterine Contraceptive Device-Associated Actinomycotic Abscess and *Actinomyces* Detection on Cervical Smear, *Obstet Gynecol*, 87, 142-9.
- Fox, H. and Wells, M., 2003, Haines & Taylor Obstetrical and Gynaecological Pathology Fifth Edition Volume 2, Churchill Livingstone, London, 1106-1116.
- Gorisek, B., Rebersek-Gorisek, H., Kavalar, R., Krajnc, I., Završnik, S., 1999, Pelvic actinomycosis, *Wien Klin Wochenschr*, 111(15), 603-607.
- Grice, GC. and Hafiz, S., 1983, *Actinomyces* in the female genital tract: a preliminary report, *Br J Vener Dis*, 59, 317-9.
- Groves, C. and Saltz, J., 1996, *Actinomyces*, *Johns Hopkins Microbiology Newsletter*, 15(30), <http://pathology5.pathology.jhmi.edu/micro/v15n30.htm>
- Gupta, PK., 1982, Intrauterine Contraceptive Devices Vaginal Cytology, Pathologic Changes and Clinical Implications, *Acta Cytol*, 26(5), 571-613.
- Gupta, PK., Erozan, YS., Frost JK., 1978: Actinomycetes and the IUD: An update, *Acta Cytol*, 22, 281.
- Gupta, PK, Hollander, DH, Frost, JK., 1976: Actinomycetes in cervico-vaginal smears: An association with IUD usage. *Acta Cytol.* ;20:295-297.
- Guzman, CA., Plate, M., Pruzzo, C., 1990, Role of neuraminidase-dependent adherence in *Bacteroides fragilis* attachment to human epithelial cells, *FEMS Microbiology Letters*, 71, 187-192.
- Hager, WD., Douglas, B., Majmudar, B., Naib, Z.M., Williams, OJ., Ramsey, C., Thomas, J., 1979: Pelvic colonization with *Actinomyces* in women using intrauterine contraceptive devices, *Am J Obstet Gynecol*, 135, 680-684.

- Halleberg, K., Holm, C., Öhman, U., Strömberg, N., 1998, *Actinomyces naeslundii* displays variant *fimP* and *fimA* fimbrial subunit genes corresponding to different types of acidic proline-rich protein and β -linked galactosamine binding specificity, *Infect. Immun.*, 66(9), 4403-4410.
- Hansen, LK., 1989, Bilateral female pelvic actinomycosis: case report, *Acta Obstet Gynecol Scand*, 68, 189-190.
- Hillier, S. and Moncla, B., 1991, Anaerobic Gram-Positive nonsporing Bacilli and Rods. *Manual of Clinical Microbiology Fifth Edition*. Balows, A. (ed).pp.1700-1701.
- Hoffman, MS., Roberts, WS., Solomon, P., Gunasekarin, S., Cavanagh, D., 1991, Advanced actinomycotic pelvic inflammatory disease simulating gynecologic malignancy; A report of two cases, *J Reprod Med*, 36, 543-5.
- Hunter C.A., Long K.R: Vaginal and Cervical pH in normal women and in patients with vaginitis. *Am J Obstet & Gynecol*. 1958;75(4):872-874
- Jacobs, RF. and Schutze, GF., 2000, Actinomycosis, Behrman: Nelson Textbook of Pediatrics, Sixteen Edition, WB. Saunders Company, www.medicnet.net.mx/seguro/Libros/Nelson/PARTXVI/IDO19.htm
- Jawetz, E., Melnick, JL., Adelberg, E., 1974, Tıbbi Mikrobiyoloji II Baskı, (çev: Muvaffak Akman ve Ekrem Gülmezoğlu), Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-15, Ankara, 403-407.
- Jones, M., Buschmann, B., Dowling, E.A., Pollock, H., 1979, The prevalence of *Actinomyces* like organisms found in cervicovaginal smears of 300 IUD wearers, *Acta Cytol*, 23, 282-85.
- Jost, BH., Songer, JG., Billington, SJ., 2002, Identification of a second Arcanobacterium pyogenes neuraminidase and involvement of Nuerominidase activity in host cell adhesion, *Infect. Immun.*, 70(3), 1106-1112.
- Junqueira, LC., Carneiro, J., Kelley, RO., 1998, Temel Histoloji, (Çev. Ed. Prof. Dr. Yener Aytekin), Barış Kitabevi, İstanbul, s. 227.
- Kandil, O., Hassanein, MK., El-tagi, A., El-shirbini, MT., 1983, Vaginal pH effects by OCs and various copper and inert IUDs, *Contracept Deliv Syst*, 4(3), 187-93.
- Karaarslan, A., 1999, *Actinomyces*. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ustaçelebi, Ş. (editör), Güneş Kitabevi, Ankara. s. 457-461.

- Kirova, YM., Feuilhade, F., Belda-Lefrere, MA., Le Bourgeois, JP., 1997, Intrauterine device-associated pelvic actinomycosis: a rare disease mimicking advanced ovarian cancer: a case report, *Eur J Gynaecol Oncol*, 18(6), 502-3.
- Klug, WS. and Cummings, MR., 2002, *Genetik Kavramlar*, (çev.ed. Cihan öner), Palme Yayıncılık, Ankara, 515-517.
- Kobayashi, GS., 1990, *Actinomycetes: The Fungus-Like Bacteria*. Microbiology, Fourth Edition. Davis, DD., Dulbecco, R., Eisen, HN., Ginsberg, HS. (eds), J.B. Lippincott Company, Philadelphia. pp. 665-669.
- Koshiyama, M., Yoshida, M., Fujii, H., Nanno, H., Hayashi, M., Tauchi, K., Kaji, Y., 1999, Ovarian actinomycosis complicated by diabetes mellitus simulating an advanced ovarian carcinoma, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod.*, 87, 95-99.
- Kosonen, A., 1980, *Corrosion of Copper in Utero. Medicated Intrauterine Devices Physiological and Clinical Aspects*. Hafez, ESE. And Van Os, WAA. (eds). Martinus Nijhoff Publishers, The Hague/Boston/London. pp. 22-29.
- Koss, GL., 1992, *Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases, Volume I*, J.B. Lippincott Company, 112, pp. 334-354.
- Kriplani, A., Buckshee, K., Relan, S., Kapila, K., 1994, Forgotten intrauterine device leading to actinomycotic pyometra-13 years after menopause, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod.*, 53, 215-216.
- Kumar, PV., Javid, SA., Beddayat, GR., Amrollahi, A., 1990, An unusual case of Actinomycosis diagnosed by fine needle aspiration cytology, *Acta Cytol*, 34(6), 908-910.
- Kurashima, C., Sandberg, AL., Cisar, JO., Mudrick, LL., 1991, Cooperative complement- and bacterial lectin-initiated bactericidal activity of polymorphonuclear leucocytes, *Infect. Immun.*, 59(1), 216-21.
- Lai, CH. and Listgarten, MA., 1980, Comparative ultrastructure of certain *Actinomyces* species, *Arachnia*, *Bacterionema* and *Rothia*, *J Periodontol*, 51, 136-54.
- Larsen, B., 1993, *Vaginal Flora in Health and Disease*, *Clin Obstet Gynecol*, 36(1), 107-121.
- Lee, YM., Law, WL., Chu, KW., 2001, Abdominal Actinomycosis, *ANZ J Surg.*, 71, 261-263.

- Leslie, DE. and Garland, SM., 1991, Comparison of Immunoflorescence and Culture for the Detection of *Actinomyces israelii* in Wearers of the Intrauterine Contraceptive device, J Med Microbioll, 35, 224-228.
- Li, T., Khah, MK., Slavnic, S., Johansson, I., Stromberg, N., 2001, Different type 1 fimbrial genes and tropisms of commensal and potentially pathogenic *Actinomyces* spp. with different salivary acidic proline- rich protein and statherin ligand specificities, Infect. Immun, 69(12), 7224-7233.
- Lippes, J., 1999, Pelvic actinomycosis: a review and preliminary look at prevalence, Am J Obstet Gynecol, 180, 265-9.
- Lo, TS., Chen, FP., Chu, KK., Soong, YK., 1997, Advanced actinomycosis involving urogenital organs simulating malignancy: a case report, Changgeng Yi Xue Za Zhi, 20(4), 313-7.
- Mangels, J.I., 1998, Anaerobic Bacteriology. Essential Procedures for Clinical Microbiology. Isenberg H.D. (ed.), ASM Press, Washington DC. pp. 129-167.
- Mergenhagen, SE., Sandberg, AL., Chassy, BM., Brennan, MJ., Yeung, MK., Donkersloot, JA., Cisar, JO., 1987: Molecular basis of bacterial adhesion in the oral cavity, Rev. Infect Dis., 9(5), 467-74.
- Merki-Field, GS., Lebeda, E., Hogg, B., Keller, PJ., 2000, The incidence of *Actinomyces*-like organisms in Papanicolaou-stained smears of copper- and levonorgestrel- releasing intrauterine devices, Contraception, 61, 365-368.
- Monif, GRG., 1982, Obstetrics Gynecology, Harper & Row, Publishers, Philadelphia, 163-168.
- Muntinghe, FLH., Emmen, L., Oeseburg, HB., Wijnja, L., 1999, Pelvic actinomycosis 5 years after removal of an intra-uterine contraceptive device, Neth J Med, 55, 160-162.
- Nagler, R., Peled, M., Laufer, D., 1997, Cervicofacial actinomycosis, Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod., 83, 652-6.
- Najjar, T., 2002, Actinomycosis, www.emedicine.com/derm/topic767.htm.
- Nawroth, F., Foth, D., Schmidt, T., Römer, T., 2000, Differential diagnosis and non-surgical treatment of pelvic actinomycosis, Acta Obstet Gynecol Scand, 79, 1024-1025.
- Nayar, M., Chandra, M., Chitraratha, K., Das SK., Chowdhary, GR., 1985, Incidence of Actinomycetes Infection in Women Using Intrauterine Contraceptive Device, Acta Cytol, 29(2), 111-116.

- Overman, JR. and Pine, L., 1963, Electron microscopy of cytoplasmic structures in facultative and anaerobic *Actinomyces*, J Bacteriol, 86, 656-65.
- Papanicolaou, GN., 1963, Atlas of Exfoliative Cytology.
- Perlow, JH., Wigton, T., Yordan, EL., Graham, J., Wool, N., Wilbanks, GD., et al., 1991, Disseminated pelvic actinomycosis presenting as metastatic carcinoma: association with the progestasert intrauterine device, Rev Infect Dis, 13, 1115-9.
- Persson, T., Andersson, P., Bodelson, M., Laurell, M., Malm, J., Egesten, A., 2001, Bactericidal activity of human eosinophilic granulocytes against *Escherichia coli*, Infect. Immun, 69(6), 3591-96.
- Persson, E. and Holmberg, K., 1984a, A longitudinal study of *Actinomyces israelii* in the female genital tract, Acta Obstet Gynecol Scand, 63, 207-216.
- Persson, E. and Holmberg, K., 1984b, Genital colonization by *Actinomyces israelii* and serologic immune response to the bacterium after five years use of the same copper intra-uterine device, Acta Obstet Gynecol Scand, 63, 203-205.
- Persson, E., Holmberg, K., Dahlgren, S., Nilsson, L., 1983, *Actinomyces israelii* in the genital tract of women with and without intra-uterine contraceptive devices, Acta Obstet Gynecol Scand, 62, 563-568.
- Petitti, DB., Yamamoto, D., Morgenstern, N., 1983, Factors associated with *actinomyces*-like organisms on Papanicolaou smear in users of intrauterine contraceptive devices, Am J Obstet Gynecol, 145, 338-341.
- Petrone, LR., Sivalingam, JJ., Vaccaro, AR., 1999, Actinomycosis-an unusual case of an uncommon disease, J Am Board Fam Pract, 12(2), 158-61.
- Phupong, V., Sueblinvong, T., Pruksananonda, K., Taneepanichhskul, S., Triratanachat, S., 2000, Uterine perforation with Lippes Loop Intrauterine device-associated actinomycosis: a case report and review of the literature, Contraception, 61, 347-350.
- Robboy, SJ., Anderson, MC., Russell, P., 2002, Pathology of the Female Reproductive Tract, Churchill Livingstone, London, 291-293, 422-514.
- Ruhl, S., Cisar, JO., Sandberg, AL., 2000, Identification of polymorphonuclear leucocyte and HL-60 cell receptors for adhesins of *Streptococcus gordonii* and *Actinomyces naeslundii*, Infect. Immun., 68(11), 6346-6354.
- Sandberg, AL., Ruhl, S., Joralman, RA., Brennan, MJ., Sutphin, MJ., Cisar, JO., 1995, Putative glycoprotein and glycolipid polymorphonuclear leucocyte receptors for the *Actinomyces naeslundii* WVU45 fimbrial lectin, Infect. Immun., 63(7), 2625-31.

- Sandberg, AL., Mudrick, LL., Cisar, JO., Metcalf, JA., Malech, HL., 1988, Stimulation of superoxide and lactoferrin release from polymorphonuclear leucocytes by the type 2 fimbrial lectin of *Actinomyces viscosus* T14V, *Infect. Immun.*, 56(1), 267-9.
- Sandberg, AL., Mudrick, LL., Cisar, JO., Brennan, MJ., Mergenhagen, SE., Vatter, AE., 1986, Type 2 fimbrial lectin-mediated phagocytosis of oral *Actinomyces* spp. by polymorphonuclear leucocytes, *Infect. Immun.*, 54(2), 472-6.
- Sandin, RL., Greene, JN., Sarzier, JS., Himelright, I., Ku, NNK., Toney, JF., Roberts, W., 1993, Pelvic abdominal actinomycosis associated with an intrauterine contraceptive device: a case of liver dissemination mimicking metastatic ovarian cancer, *Ann Clin Lab Sci*, 23(6), 448-455.
- Sato, T., Matsuyama, J., Takahashi, N., Sato, M., Johnson, J., Schachtele, C., Hoshino, E., 1998, Differentiation of oral *Actinomyces* species by 16S ribosomal DNA polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, *Arch Oral Biol*, 43, 247-252.
- Schaal, KP., 1974, Irregular Nonsporing Gram-Positive Rods. *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology Volume 2*. Sneath, PHA., Mair, NS., Sharpe, ME., Holt, JG. (eds), Williams & Wilkins Company, Baltimore. pp. 1383-1419.
- Scribner, DR., Baldwin, J., Johnson, GA., 2000, Actinomycosis mimicking a pelvic malignancy: a case report, *J Reprod Med*, 45, 515-518.
- Sharon, N., 1987, Bacterial lectins, cell-cell recognition and infectious disease, *FEB*, 217(2), 145-147.
- Slack, JM., 1984, Actinomycetes and Related Organisms. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Eighth Edition*. Buchanan, RE. And Gibbons, NE. (eds). The Williams & Wilkins Company, Baltimore. pp. 659-669.
- Sobel, JD., 1993, Candidal Vulvovaginitis, *Clin Obstet Gynecol.*, 36(1), 153-165.
- Stadel, BV. and Schlesselman, S., 1984., Extent of surgery for pelvic inflammatory disease in relation to duration of intrauterine device use, *Obstet Gynecol*, 63(2), 171- 178.
- Sukcharoen, N. and Witoonpanich, P., 1992, Pelvic actinomycosis in pregnancy: a case report and review of the literature, *J Med Assoc Thai*, 75(1), 66-71.

- Tang, G., Yip, HK., Samaranayake, LP., Chan KY., Luo, G., Fang, HHP., 2004, Direct detection of cell surface interactive forces of sessile, fimbriated and non-fimbriated *Actinomyces* spp. using atomic force microscopy, Arch Oral Biol, 49, 727-738.
- Taylor, G., 1996, Sialidases: structures, biological significance and therapeutic potential, Curr Opin Struct Biol, 6, 830-837.
- Treiman, K., Liskin, L., Kols, A., Rinehart, W., 1995, IUDs-An Update, Population Reports, Series B, No:6.
- Trevino Salinas, EM., Martinez Palones, JM., Perez Benavente, MA., Xercavins Montosa, J., 2003, Pelvic actinomycosis in menopausal patient, case review, Ginecol Obstet Mex, 71, 532-6.
- Tsanadis, G., Kalantaridou, SN., Kaponis, A., Paraskevaidis, E., Zikopoulos, K., Gesouli, E., Dalkalitsis, N., Korkontzelos, I., Mouzakioti, E., Lolis, DE., 2002, Bacteriological cultures of removed intrauterine devices and pelvic inflammatory disease, Contraception, 65, 339-342.
- Valicenti, JF., Pappas, AA., Graber, CD., Williamson, HO., Willis, NF., 1982, Detection prevalence of IUD-associated *Actinomyces* colonization and related morbidity, JAMA, 247,577.
- Wee, SH., Chang, SM., Shim, JY., Chun, S., Park., WH., 2000, A case of primary cutaneous actinomycosis, J Dermatol, 27, 651-654.
- Williams, CE., Lamb, GHR., Lewis-Jones, HG., 1990, Pelvic actinomycosis: beware the intrauterine contraceptive device, Br J Radiol, 63(746), 134-137.
- Wilson, GS. and Miles, AA., 1964a, Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, Volume I, The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 499-514.
- Wilson, GS. and Miles, AA., 1964b, Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, Volume II, The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1563-1569.
- Woo, PCY., Fung, AMY., Lau, SKP., Hon, E., Yuen, K., 2002, Diagnosis of pelvic actinomycosis by 16S ribosomal RNA gene sequencing and its clinical significance, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 43, 113-118.

www.visualsunlimited.com/images/watermarked/250/25028.jpg

www.slh.wisc.edu/cytology/lab/education/images/actinomyces-large.jpg

www.arches.uga.edu/~dlq/gm-ve.gif

www.medschool.lsuhs.edu/microbiology/DMIP/aisrgs.jpg

- Yazdanbakhsh, M., Eckmann, C.M., Bot, A.A.M., Roos, D., 1986, Bactericidal action of eosinophils from normal human blood, *Infect Immun*, 53(1), 192-198.
- Yegüez, JF., Martinez, SA., Sands, LR., Hellinger, MD., 2000, Pelvic Actinomycosis Presenting as Malignant Large Bowel Obstruction: A Case Report and a Review of the Literature, *Am Surg*, 66(1),85-90.
- Yeung, MK., 1999, Molecular and genetic analyses of *Actinomyces* spp, *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.*, 10(2), 120-38.
- Yeung, MK. and Ragsdale, PA., 1997, Synthesis and function of *Actinomyces naeslundii* T14V type 1 fimbriae require the expression of additional fimbria-associated genes, *Infect. Immun.*, 65(7), 2629-39.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Dilek KAYA

Doğum yeri : ANKARA

Doğum yılı : 15.11.1979

Medeni Hali : Bekar

Uyruğu : T.C.

Yabancı Dil : İngilizce

Görevi : Araştırma Görevlisi

Adres : Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Sitoloji Bilim Dalı, 06532, Beytepe, Ankara.

Telefon : 312 297 64 40

Fax : 312 299 20 28

E-mail : dylek@hacettepe.edu.tr

EĞİTİM DURUMU

İlkokul

1985-1990 Çankaya İlkokulu, Ankara

Ortaokul

1990-1993 Çankaya Lisesi Ortaokul Kısmı, Ankara

Lise

1993-1997 Çankaya Süper Lisesi, Ankara

Lisans

1997-2002 Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Ankara

Yüksek Lisans

2002 - Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı Sitoloji Dalı

AKADEMİK AKTİVİTELER

1. Yayınlar ve Sunumlar

1.1. Science Citation Index kapsamındaki yayınlar:

1. Demirzen, Ş., Kaya, D., Beksaç, M.S., 2005, Cytologic Findings in Pap Smears With Actinomyces-Like Organisms, Acta Cytol, 49(3), 257-261.

1.2. Ulusal hakemli dergilerdeki yayınlar:

1. Kaya, D., Demirezen, Ş., Beksaç, M.S., 2004, Pelvik Aktinomikozis: Etken Organizmaların Biyolojik Özellikleri, Tanı Metotları ve Tedavi, Klinik Bilimler & Doktor, 10(1), 112-116.

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., Kaya D., Beksaç M.S., "Erken Gebelik Dönemi Kayıpları ve Bakteriyel Vajinoz İlişkisi: 1550 Serviko-vajinal Yaymanın İncelenmesi" Fetal Tıp; Prenatal Tanı 2005 Kongresi 30 Nisan- 2 Mayıs 2005, Antalya.
4. 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.
5. 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.

6. 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.

2. Kongreler, Kurslar

1. BIOMED 2004, “**II. International Biomedical Science and Technology Days**”, September 6-10 2004, Ankara
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Türk Mikrobiyoloji Derneği tarafından düzenlenen “**4. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi**”, 3-6 Mayıs 2005, Konya.
6. 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.

3. İş Tecrübesi

2004- Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
Araştırma Görevlisi

4. Laboratuvar Sorumlulukları

1. Uygulamalı Sitolojiye Giriş (BİO323, 2 saat pratik/hafta)
2. Histoloji (BİO208, 2 saat pratik/hafta)
3. Fizyoloji (BİO306, 2 saat pratik/hafta)

