

# Chlamydia trachomatis'in Mc Coy Hücre Kültürleri Yöntemi Kullanarak İzolasyonu

Ali AĞAÇFIDAN (\*)

## ÖZET

Bu çalışmada 1995-2000 tarihleri arasında Chlamydia trachomatis infeksiyonu açısından risk grubunu oluşturan 560 kişide alınan çeşitli klinik örneklerde (234 servikal örnek, 282 üretral örnek ve 44 rektal örnek) hücre kültürleri yöntemi kullanılarak C. trachomatis izolasyonu amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında yer alan 560 kişinin 138'ini izinsiz çalışan hayat kadınları, 96'sını izinli çalışan hayat kadınları, 44'ünü homoseksüel erkekler ve 282'sini ise hayat kadınları ile cinsel ilişkide bulunan erkekler oluşturmuştur.

İncelenen muayene maddelerinde 234 servikal örneğin 45'inde (%19.2), 282 üretral örneğin 43'ünde (%15.2) ve 44 rektal örneğin 8'inde (%18.2) C. trachomatis izole edilmiştir. Çalışma kapsamında yer alan gruplara göre C. trachomatis infeksiyonunun sıklığına bakıldığında bu oran izinsiz çalışan hayat kadınlarında %16.7, izinli çalışan hayat kadınlarında %12.5, homoseksüel erkeklerde %18.2 ve hayat kadınları ile ilişkide bulunan erkeklerde %15.2 olarak bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Chlamydia, hücre kültürleri, Mc Coy hücreleri

## SUMMARY

Isolation of Chlamydia trachomatis Using Mc Coy Cell Culture Method

In this study, isolation of C. trachomatis using Mc Coy cell culture method in different clinical specimens (234 cervical, 282 urethral and 44 rectal) which were collected from 560 study participants was aimed.

Of 560 study participants; 138 unregistered sex workers, 96 registered sex workers, 44 male homosexuals and 282 male patients who had sexual contact with sex-workers were composed.

C. trachomatis was isolated in 45 (19.2%) out of 234 cervical specimens, in 43 (15.2%) out of 282 urethral samples and in 8 (18.2%) out of 44 rectal specimens.

C. trachomatis frequency was detected 16.7% in unregistered sex-workers, 12.5% in registered sex-workers, 18.2% in male homosexuals and 15.2% in men who had sexual contact with sex-workers.

Key words: Chlamydia, cell cultures, Mc Coy cells

## GİRİŞ

İnsan sağlığı açısından infeksiyon etkeni olarak belirlenmiş Chlamydia cinsinden türler C. trachomatis, C. psittaci ve C. pneumoniae olmak üzere üçe ayrılmıştır. Hayvanlardan izole edilmiş olan C. pecorum ise dördüncü tür olarak yapılan sınıflandırmada yer almaktadır (1).

C. trachomatis, 1957 yılında trahomlu hastaların konjunktiva kazıntılarının ekildiği embriyonlu yumurtanın sarı kesesinde üretilmiş, daha sonra 1965 yılında hücre kültürleri C.trachomatis'in tanısında kullanıma girmiştir. 1970'li yıllarda Chlamydia in-

feksiyonlarının tanısında serolojik yöntemlerden mikroimmün fluoresan testi kullanılmış ve 1980'li yıllardan itibaren ELISA ve direkt fluoresan antikor testi ve günümüzde ise polimeraz zincir reaksiyonu; PCR, ligaz zincir reaksiyonu; LCR ve transkripsiyon esaslı amplifikasyon; TMA gibi teknikler C. trachomatis infeksiyonlarının tanısında kullanılmaktadır (2,3, 4).

C. trachomatis'in laboratuvar tanısında kullanılan en iyi ve güvenilir yöntem (gold standard) hücre kültürü olarak bilinmektedir. Uygun ortam koşulları sağlandığında duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksek olan hücre kültürü yöntemi özellikle diğer tanı yöntemlerinde alınan sonuçların doğrulanmasında C. trachomatis için referans yöntem olarak kabul edilmektedir. C. trachomatis embriyonun sarı kesesinde

(\*) İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34390 Çapa, İstanbul

de üretilmektedir. Ancak bu yöntemin duyarlılığı düşük ve uygulanabilirliği oldukça zordur. Bugün için izolasyon amacıyla kullanılan Mc Coy hücre kültürü tekniği C. trachomatis tanısında kullanılan en iyi yöntemdir. Hücre kültürünün duyarlılığı ve özgülüğünün yüksek olması bir takım faktörlerin titizlikle uygulanmasına bağlıdır (5,6,7,8,9,10,11). Bunlar sırasıyla;

a) Uygun muayene maddesi

C. trachomatis'in izolasyonunda uygun muayene maddesi infeksiyonun durumuna göre serviks, uretra, konjunktiva, rektum, nazofarinksten alınan sürüntüler, lenf nodülleri biyopsisi ya da aspirasyonu- dur. İdrar, kan, dışkı, vajina ve uretradan gelen akıntı, prostat sıvısı, semen hücre kültürü için uygun muayene maddeleri değildir.

b) Kullanılan eküvyonun özelliği

Alınan muayene maddesinde kullanılan eküvyonun tipi izolasyonda oldukça önem taşımaktadır. C. trachomatis izolasyonunda rayon, dakron ve pamuk eküvyonlar uygun yapıyı teşkil etmektedir. Ayrıca fırça tipinde "cytobrush" adı verilen eküvyonlar endoserviksten materyalin alınmasında son yıllarda kullanıma girmiştir. Eküvyon çubuklarının tahta olması hücre kültürü ortamına toksik etki oluşturabilmektedir. Bu nedenle plastik olanlar tercih edilmektedir.

c) Muayene maddesinin alımı

Serviks C. trachomatis'in üremesi için uygun hücre tipi olan kolumnar epitel hücrelerine sahiptir. Vajinal bölgede ise C. trachomatis'e duyarlı olmayan skuamöz epitel hücreleri bulunmaktadır. Bu nedenle muayene maddesinin serviksten alınması etkenin tanısında önem taşımaktadır. Ancak serviksten muayene maddesi alınmadan önce vajinal bölgedeki mukusun alınması gerekmektedir. Daha sonra serviks içine sokulan eküvyonun 5-10 saniye döndürülerek vajinal bölgeye değdirilmeden muayene maddesinin alınması C. trachomatis'in izolasyonunda, önem taşımaktadır. Erkeklerde ise muayene maddesi; uretra bölgesinin 2-3 cm içerisinde eküvyon döndürülerek alınmalıdır. Ayrıca muayene maddesi alınmadan önce hastaların en az 2-3 saat idrar yapmamaları izolasyon şansını arttırmaktadır. Gözden

alınacak konjunktival örneklerde önce alt, daha sonra üst göz kapağının iç kısımlarından muayene maddesinin alınması gerekmektedir. Eğer her iki göz infekte ise, kontaminasyonu önlemek amacıyla önce az infekte gözden, daha sonra ise diğerinden örnek alınması gerekmektedir.

d) Transport ortamı

Alınan muayene maddesi Chlamydia için toksik olmayan, muayene maddesindeki mikroorganizmaları inhibe edecek uygun antimikotik ve antibakteriyel maddeler ihtiva eden transport besiyerinde laboratuvara iletilmelidir. Alınan muayene maddesi hemen ekilemiyorsa 4 °C'de saklanması ve en fazla üç gün içinde ekilmesi gerekmektedir. Eğer ekim için daha uzun süre gerekiyorsa muayene maddesi dondurularak (-70 °C) saklanması idealdir.

e) Uygun hücre ortamı

C. trachomatis'in üretiminde en çok kullanılan hücre tipi Mc Coy hücreleridir. Ayrıca HeLa 229, BHK21 gibi hücreler de üretim amacıyla kullanılmaktadır. Mc Coy hücrelerinin sikloheksimid ile muamele edilmesi, etkenin izolasyonunu kolaylaştırmaktadır.

f) Besiyerinin özelliği

Chlamydia izolasyonunda % 5-10 fetal sıgır/dana serumu, 0.05 M glukoz ve 2 mM L-glutamin ihtiva eden pH: 7.2-7.4 arasında değişen modifiye besiyeri (Eagle MEM) uygun ortamı oluşturmaktadır. (Çalışmamızda bu besiyeri esas alınmıştır). Temel olarak kullanılan bu besiyeri her laboratuvarın kendi prensipleri dahilinde modifiye edilmektedir.

g) Sekonder pasaj

Chlamydia izolasyonunda şüpheli muayene maddeleri hücreler ile kaplı lamelli tüplere (Shell vials) ya da titrasyon kuyucuklarına ekilmektedir. Ekilen muayene maddesinin 2500-3000 devirde santrifüj edilmesi hücrelerin inokülasyonunu kolaylaştırmaktadır. Muayene maddesinin çift ekilmesi ve inkübasyon sonrası birinin boyanarak inklüzyonların araştırılması, diğerinin ise alınan sonucu doğrulama amacıyla sekonder pasaj yapılması tanı için oldukça önem taşımaktadır. Sekonder pasaj yapımı daha çok seçilen boyama yönteminin türüne göre tercih sebebi olmaktadır. Örneğin, iyot ya da Giemsa ile yapılan

boyamada mutlak sekonder pasaj yapımı gerekirken, fluoresan işaretli konjuge ile boyanmış bir kültürün değerlendirilmesinde sekonder pasaj yapımı çoğu zaman tercihe bağlı bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca pozitif olarak belirlenen örneklerde suşların muhafazası için ya da elde edilen pozitif inklüzyon sayısını arttırmak için gereklidir.

#### h) Sonuçların yorumlanması

C. trachomatis inklüzyonlarının belirlenmesinde Giemsa ya da iyot boyama yöntemi kullanılmaktadır. Ancak sonuçları değerlendiren kişinin deneyimsiz olmasına bağlı olarak, bazı boya kalıntıları ya da boyanmış ölü hücreleri inklüzyon şeklinde yorumlanabilir. Bazı örneklerde sadece bir inklüzyon cisimciğinin bulunması, deneyimsiz biri tarafından sonuç değerlendiriliyorsa pozitif değerlendirilmesi gereken muayene maddesinin negatif olarak yorumlanmasına sebep olabilir. Bu nedenle sonuçları değerlendiren kişinin uzman olması oldukça önem taşımaktadır. Ayrıca şüpheli durumlarda iyot ya da Giemsa ile boyalı preparatın daha güvenilir bir boyama yöntemi olan fluoresan antikor boyama yapılarak doğrulanması uygundur.

C. trachomatis'in özellikle cinsel temasla bulaşan hastalıklar (CTBH) açısından risk gruplarında araştırılması ve enfeksiyonun sıklığının belirlenmesi epidemiyolojik çalışmaların yapılmasında son derece önem taşımaktadır. Bu çalışmada da CTBH açısından risk grubu oluşturan hayat kadınları, homoseksüeller ve hayat kadınları ile ilişkide bulunan erkeklerde C. trachomatis enfeksiyonunun sıklığı; uygulama koşulları gerektiği şekilde yerine getirildiği takdirde en güvenilir ve en iyi yöntem (gold standard) olarak kabul edilen Mc Coy hücre kültürleri kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

#### GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada C. trachomatis enfeksiyonu açısından risk grubu oluşturan 560 kişiden alınan çeşitli klinik örneklerde C. trachomatis izolasyonu amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında yer alan hastaların 278'ini İstanbul'da Deri ve Zührevi Hastalıklar Hastanesinde muayene edilen kişiler oluşturmuştur. Bu kişilerin 138'i polis tarafından izinsiz çalışmaları için yakala-

nan ve İstanbul Deri ve Zührevi Hastalıklar Hastanesine sevk edilen Doğu Avrupalı hayat kadınları, 96'sı İstanbul genelevinde çalışan ve rutin sağlık kontrollerini yaptırmak üzere gelen hayat kadınları ve 44'ünü ise homoseksüel erkekler oluşturmaktadır. Çalışma kapsamında yer alan diğer 282 hasta ise Anabilim Dalımız Chlamydia laboratuvarına başvuran ve İstanbul'da hayat kadınları ile cinsel ilişkide bulduklarını bildiren üretral şikayetleri olan erkek hastalardır.

#### Klinik örneklerin alınması:

Serviksten alınan örnekler: Kadınlardan muayene maddesi alınırken kişilerin menstural siklusda olmalarına ve antibiyotik kullanmamalarına (en az 3 hafta) dikkat edilmiştir. Belirtilen koşullar dışındaki hastalar çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır. Örnekler alınırken steril bir eküvyon yardımı ile vajinal bölge ve ektoservikal bölgedeki mukus temizlenmiş ve endoservikal kanaldan muayene maddesi rotasyon yapılarak alınmış ve muayene maddesi transport besiyerine eküvyonla birlikte konulmuştur.

Üretradan alınan örnekler: Hastaların antibiyotik kullanmamaları (en az 3 hafta) ve en az 3 saat idrar yapmamaları göz önünde bulundurularak eküvyon yardımı ile üretranın 2-3 cm içinden ve rotasyon yapılarak örnekler alınmış ve muayene maddesi transport besiyerine konulmuştur.

Rektumdan alınan örnekler: Antibiyotik kullanmadıklarını (en az 3 hafta) ifade eden homoseksüellerden alınan rektal örnekler ise eküvyon ile rektuma 3-4 cm girilerek ve rotasyon yapılarak alınmış ve muayene maddesi transport besiyerine konulmuştur.

#### KULLANILAN BESİYERLERİ (6,7)

Mc Coy hücreleri üretim besiyeri : MEM Eagle Besiyeri (Earles Salt without L-Glutamin) 50 ml  
Fetal Sığır serumu (56 °C'de 30 dakika inaktive edilmiş) 55 ml  
L-Glutamin (200mM) 6 ml  
Steril bidistile su 450 ml  
pH: 7.8 (pH ayarlaması %7.5'lük sodyum bikarbonat ile yapılmıştır).

Chlamydia izolasyon besiyeri: Hazırlanan stok solüsyonlardan aşağıda belirtilen oranlarda Mc Coy hücre üretim besiyerine ilave edilerek hazırlanmıştır.

Vankomisin stok solüsyonu	0.6 ml
Gentamisin stok solüsyonu	0.1 ml
Mikostatin stok solüsyonu	0.5 ml
Glukoz stok solüsyonu	6.0 ml

Transport besiyeri: Hazırlanan stok solüsyonlardan aşağıda belirtilen oranlarda Mc Coy hücreleri üretim besiyerine ilave edilmiş ve muayene maddelerinin konacağı transport besiyeri hazırlanmıştır.

Vankomisin stok solüsyonu	1.2 ml
Gentamisin stok solüsyonu	0.1 ml
Mikostatin stok solüsyonu	0.5 ml
Glukoz stok solüsyonu	6.0 ml
Ph: 7.2-7.4 arasında %7.5'lük sodyum bikarbonat ile ayarlanmıştır.	

Transport besiyeri 1 ml'lik miktarlarda steril tüplere dağıtılarak +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Hücre kültürü yöntemi: Bu çalışmada genital örneklerden C. trachomatis'in izolasyonu için insan sinovia hücrelerinden derive edilen, ancak daha sonra fare fibroblastları ile kontamine olmuş ve bugünkü özelliklerini kazanmış olan Mc Coy hücreleri (University of California, Chlamydia Research Laboratory, San Francisco'dan temin edilmiştir) kullanılmıştır. Mc Coy hücrelerinin üretildikleri ortama sikloheksimid konularak üremeleri durdurulmuş, buna karşın C. trachomatis izolasyonu sağlanmıştır. Örneklerde bulunan C. trachomatis'in Mc Coy hücrelerine santrifüj yöntemi ile inokülasyonu sağlanmıştır.

Mc Coy hücrelerinin üretimi: Mc Coy hücreleri 250 ml'lik hücre kültür şişelerinde, hücre üretim besiyerinde üretilmiştir. Bu şişeler hücre ekimi yapıldıktan sonra 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tam tabaka teşkil etmiş olan hücre kültür şişesindeki besiyeri dökülerek hücreler PBS ile yıkanmış ve ölü hücrelerin uzaklaştırılması amaçlanmıştır. Yıkama işlemi hücre

kültür şişesine PBS konularak yapılmıştır. Daha sonra PBS ortamdan uzaklaştırılmış, yıkanmış hücreler üzerine 1 ml tripsin (%0.25) ilave edilerek hücre kültür şişesi 5-10 dakika 37°C'de bekletilerek hücrelerin birbirinden ayrılması sağlanmıştır. Hücreler üzerine üretim besiyeri ilave edilmiş ve hücrelerin süspansiyonu sağlanmıştır. Lamelli tüplere (Shell vial) hücrelerin ekimi, kullanılacak güne göre tek tabaka oluşturacak şekilde yapılmıştır. Tek tabaka oluşumunu uzun süre devam ettirebilmek için sikloheksimidli besiyeri kullanılmıştır. Lamelli tüplere 1 ml Mc Coy hücre süspansiyonu ekilmiştir. Muayene maddesinin hücrelere inokülasyon durumuna göre Mc Coy hücre sayısı aşağıdaki kriterlere göre belirlenmiştir.

	Hücre sayısı* La-
melli tüpler	
- Ertesi gün kullanılacaksa	200.000
- İki gün sonra kullanılacaksa	100.000
- Üç gün sonra kullanılacaksa	50.000

\*1 ml besiyerinde bulunan hücre sayısı

Muayene maddelerinin hücrelere ekimi: Lamelli tüplerdeki Mc Coy hücre üretim besiyeri ortamdaki uzaklaştırılmış ve hücreler 1 ml PBS ile yıkanmıştır. Muayene maddesini ihtiva eden transport tüpleri 2 dakika vorteks yardımı ile karıştırılmış ve tüplere 1 ml izolasyon besiyeri ilave edilmiştir. Eşit oranlarda iki ayrı lamelli tüpe aynı örnekte dağıtılmış ve lamelli tüpler 3000 devirde 1 saat 37 °C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra lamelli tüplerdeki besiyeri ortamdaki uzaklaştırılmış, 1 ml 0.5-1ul/ml sikloheksimid ihtiva eden besiyeri konulmuştur. Lamelli tüpler 37 °C'de 2 gün %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edilmiştir. Lamelli tüpler fluoresan işaretli konjuge (Ortho Diagnostics Systems, Raritan, N.J.) yardımı ile boyanarak C. trachomatis inklüzyonları araştırılmıştır

İstatiksel değerlendirme: Gruplar arasındaki fark ki kare metodu ile araştırılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmamızda C. trachomatis infeksiyonları açısından risk grubunu oluşturan 560 kişiden (138

izinsiz çalışan hayat kadını, 96 izinli çalışan hayat kadını, 44 homoseksüel erkek ve 282 hayat kadınları ile cinsel ilişkide bulunan erkek) alınan klinik örneklerde *C. trachomatis* izolasyonu hücre kültürleri yöntemi ile araştırılmıştır. İncelenen klinik örneklerin gruplara göre dağılımı tablo 1’de gösterilmiştir. Buna göre izinsiz çalıştığı saptanan 138 Doğu Avrupalı hayat kadınından 23’ünde (%16.7), genelevde çalışan ve rutin sağlık kontrollerini yaptırmak üzere gelen izinli çalışan 96 hayat kadınından 12’sinde (%12.5), 44 homoseksüel erkeklerin 8’inde (%18.2) ve hayat kadınları ile ilişkiye giren üretrit şikayeti olan 282 erkeğin 43’ünde (%15.2) *C. trachomatis* saptanmıştır. Gruplar arası *C. trachomatis* pozitifliği istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunamamıştır (p: 0.7873).

## TARTIŞMA

Günümüzde batı ülkelerinde en sık rastlanan mikroorganizmalardan birisi *C. trachomatis*’tir. Özellikle sosyo-ekonomik düzeydeki ilerleme ile birlikte paralellik gösteren genital *C. trachomatis* infeksiyonlarının prevalansı, gelişmiş ülkelerle karşılaştırıldığında gelişmekte ve az gelişmiş ülkelere oranla daha yüksektir. Örneğin ABD’de yılda 1.800.000 gonore olgusuna karşılık 3 milyon *C. trachomatis*’in etken olduğu non-gonokoksik üretrit olgusu gözlenmektedir (12,13).

Tedavi edilmeyen olgularda son derece ciddi komplikasyonlar oluşturan *C. trachomatis*’in ürogenital kaynaklı suşları erkeklerde üretrit ve epididimit, kadınlarda ise servisit ve pelvisin inflamasyonlu hastalığını (PID) oluşturmaktadır. Ayrıca lenfograduloma venereum *C. trachomatis*’in oluşturduğu diğer bir veneryen hastalıktır (2).

Cinsel temasla bulaşan hastalıklar arasında *Chlamydia* infeksiyonlarının tanı ve tedavisinde maliyet oldukça yüksektir. Özellikle oluşturduğu komplikasyonlar dikkate alındığında, örneğin kadınlarda PID’i takiben infertilite gelişmekte, ayrıca tüplerde oluşan hasar nedeniyle de dış gebelik olgularına rastlanmakta ve bütün bunlar *Chlamydia* kontrol programları dolayısıyla *Chlamydia* referans laboratuvarlarının zorunluluğunu ön plana geçirmektedir (14,15,16,17).

Bu çalışmada *Chlamydia* infeksiyonu açısından risk grubunu oluşturan hayat kadınları, homoseksüel erkekler ve hayat kadınları ile cinsel ilişkide bulunan erkeklerde *C. trachomatis* infeksiyonlarının sıklığı hücre kültürü yöntemi ile araştırılmıştır.

*C. trachomatis* için tanıda günümüzde pek çok yöntem kullanılmaktadır (2,18). Genel olarak bakıldığında hücre kültürü yöntemi günümüzde yerini alternatif tanı yöntemleri olarak kullanılan amplifikasyon tanı yöntemlerine (PCR, LCR, TMA) bırakmaktadır. Ancak laboratuvar standardizasyonu, yeni bir testin duyarlılık ve özgüllük belirleme çalışmaları ve geniş kapsamlı projelerde hala referans yöntem olarak Mc Coy hücre kültürü yöntemi kullanılmaktadır. Ayrıca Mc Coy hücre kültürleri kullanılarak yapılan izolasyon çalışmalarında ortam şartları standardize edilip ideal koşullar yerine getirildiğinde duyarlılık oldukça yüksek olmaktadır. Çalışmamızda hücre kültürü yöntemini seçmemizin amacı laboratuvarımızda standardize edilmiş olması ve maliyet yarar analizleri yapıldığında ekonomik uygunluğudur (4,11,19).

Çalışmamızda yer alan risk grubunu oluşturan 560 kişi genel olarak değerlendirildiğinde *C. trachomatis* infeksiyonlarının sıklığı %15.4 (86/560) tür. Ancak gruplar arasında bakıldığında *C. trachomatis*’in izolasyon sıklığı sırasıyla en fazla homoseksüel erkeklerde %18.2, izinsiz çalışan ve polis tarafından CTBH yönünden muayene ettirilen hayat kadınlarında %16.7, İstanbul’da hayat kadınları ile cinsel ilişkide bulunan erkeklerde %15.2 ve izinli çalışan hayat kadınlarında ise %12.5 olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada İstanbul’da hayat kadınları ile cinsel ilişkide bulunan erkeklerde *C. trachomatis* izolasyon sıklığı (%15.2), izinsiz çalışan kadınlar ile çok yakın benzerlik göstermektedir (%16.7). İzinli çalışan kadınlarda *C. trachomatis* infeksiyonları oranının diğer gruplara göre düşüklüğü rutin kontrollerini düzenli yaptırmalarına bağlanabilir. Ancak yine de bu kişilerdeki oranda (%12.5) azımsanmayacak kadar önemlidir.

Ülkemizde çeşitli gruplarda *C. trachomatis* infeksiyonlarının prevalansı ile ilgili çalışmalara son yıllar-

da rastlanmaktadır. Örneğin İzmir bölgesinde yapılan çeşitli çalışmalarda Chlamydia infeksiyon insidansının asemptomatik kadınlarda %23-27.3, semptomatik kadınlarda %32.4-42 (20,21), infertil kadınlarda %8.5-11.5 (22), genelev kadınlarında ise %25.4 (23) olduğu bildirilmiştir. Bu bölgede etkeni Chlamydia olarak belirlenen konjunktivit olgularının oranı ise %26.5'tir (24). İstanbul'da yapılan bazı çalışmalarda ise gebe kadınlarda %1.1 (25), hayat kadınlarında %22 (26), hayat kadınları ile ilişki kuran erkeklerde %14.7 (27) oranında Chlamydia infeksiyonuna rastlanmıştır. İstanbul'da yapılan bir diğer çalışmada C. trachomatis infeksiyonlarının prevalansı izinli çalışan hayat kadınlarında %12, izinsiz çalışan hayat kadınlarında ise %14 olarak bulunmuştur (28).

Yukarıda belirtilen çalışmalarda C. trachomatis infeksiyonlarının prevalansı çeşitli yöntemler ile değerlendirmeye alınmış ve çoğunlukla tercih edilen test DFA olmuştur.

Çalışmamızda kullandığımız Mc Coy hücre kültürü yöntemi duyarlılık ve özgüllük yönünden karşılaştırıldığında DFA testi ile paralellik gösterebilmektedir. Ancak hücre kültürü yönteminin suş

izolasyonu, antibiyotik duyarlılık deneyi yapabilmek, belirli bir ticari kite bağlı kalmama, belirlenen pozitifliğinin kesinliği gibi kuşkuya götürmeyen v.s. gibi birtakım imtiyazlara halen sahip bulunmaktadır. Çalışma kapsamında yer alan gruplardan elde edilen pozitiflik verileri bu kişilerde genital C. trachomatis infeksiyonlarının önemli problem olduğunu ortaya koymaktadır. Bu ve benzer gruplarda duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek yöntemlerle belirlenmesi ülkemizde genital C. trachomatis infeksiyonlarının gerçek prevalansını verecek ve epidemiyolojik çalışmaların yapılmasına öncülük edecektir.

**Tablo 1. Risk gruplarında C. trachomatis'in klinik örneklerle göre dağılımı ve C. trachomatis pozitifliği**

Risk grupları	Kişi Sayısı	İncelenen klinik örnek	C. trachomatis izolasyon sayısı	%
İzinsiz çalışan hayat kadınları	138	Servikal	23	16.7
İzinli çalışan hayat kadınları	96	Servikal	12	12.5
Homoseksüel erkekler	44	Rektal	8	18.2
Hayat kadınları ile cinsel ilişkiye giren erkekler	282	Üretral	43	15.2

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde katkılarından dolayı Uzm. Mustafa ÖNEL'e (İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı), Dr. Özdem GERİKALMAZ, Dr. Necmettin YILDIRIM ve Dr. Neziha B. BALTALI'ya (İstanbul Deri ve Zührevi Hastalıklar Hastanesi), ayrıca Chlamydia infeksiyonlarının laboratuvar tanısı konusunda kendisinin engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bana laboratuvarlarında çalışma imkanı sağlayan, Prof Dr Julius SCHACHTER'a (University of California, San Francisco General Hospital) içtenlikle teşekkür ederim.

## KAYNAKLAR

- 1.Fukushi H, Hira-i K: Chlamydia pecorum. The fourth species of genus Chlamydia. Microbiol Immunol 37:515 (1993).
- 2.Ağ Ö: Chlamydia infeksiyonlarının önemi. "Ağ Ö, Badur S, Ağaçfidan A (ed): Chlamydia İnfeksiyonları ve Tanıda Yenilikler kitabı",s.1, (1995).
- 3.Schachter J: Chlamydial Infections. West J Med 153:523 (1990)
- 4.Barnes RC: Laboratory diagnosis of human chlamydial infections. Clin Microbiol Rev 2:119 (1989).
- 5.Ağaçfidan A:Chlamydia cinsinden mikroorganizmaların

- laboratuvar tanısı ve ülkemizde tanıda karşılaşılan sorunlar. "Anđ Ö, Ağaçfıdan A (ed): I. Ulusal Chlamydia İnfeksiyonları Simpozyumu Bildirileri", s.52-60, (1995).
6. Schachter J: UCSF, San Francisco General Hospital. Chlamydia Research Laboratory, Laboratuvar uygulama protokolü, (1993).
7. Taylor- Robinson D: Tests for infection with Chlamydia trachomatis. Intern J STD AIDS 7:19 (1996).
8. Moncada J, Schachter J, Shipp M, Bolan G, Wilber J: Cytobrush in collection of cervical specimens for detection of Chlamydia trachomatis. J Clin Microbiol 27:1863 (1989).
9. Taylor- Robinson D: Laboratory techniques for the diagnosis of chlamydial infections. Genitourin Med 67:256 (1991).
10. Lipkin ES, Moncada JV, Shafer M, Wilson TE, Schachter J: Comparison of monoclonal antibody staining and culture in diagnosing cervical Chlamydial infection. J Clin Microbiol 23:114 (1986).
11. Ripa KT, Mardh P-A: Cultivation of Chlamydia trachomatis in cycloheximide treated Mc Coy cells. J Clin Microbiol 6:328 (1977).
12. Schachter J: Chlamydial infections past, present, future. JAMA 195:1501 (1989).
13. Schachter J: Chlamydial infections. West J Med 153:523 (1990).
14. Schachter J, Dawson CR: Chlamydial infections, worldwide problem: Epidemiology and implications for trachoma therapy. Sex Transm Dis 8:167 (Suppl) (1981).
15. Aral S, Holmes KK: Sexually transmitted diseases in the AIDS Era. Scientific American: Medicine, Special issue p.118 (1993).
16. Aral SO, Holmes KK: Epidemiology of sexual behavior and sexually transmitted diseases."KK Holmes, P-A Mardh, PF Sparling, PJ Wiesner (eds): Sexually Transmitted Diseases", p.19, 2nd edition, Mc Graw Hill Co. New York (1990).
17. Schachter J: Epidemiology of chlamydial infection: Identifying high risk populations. STD Update 1:2,7 (1988).
18. Schachter J: Diagnosis of human chlamydial infections. RS Stephens, GI Byrne, G Christiansen, et al. (eds): Chlamydial infection, Proceedings of the ninth international symposium on human chlamydial infection. p.577 (1998).
19. Ridgway GL, Taylor-Robinson D: Current problems in microbiology I. Chlamydial infections: Which laboratory test, J Clin Pathol 44:1 (1991).
20. Dereli D, Ertem E, Serter D, Yüce K: Evaluation of a direct fluorescent antibody test for detection of Chlamydia trachomatis in endocervical specimens. APMIS 99:961 (1991).
21. Ertem E, Dereli D, Serter D, Yüce K: Screening for Chlamydia trachomatis in a Turkish population. Genitourin Med 67:354 (1991).
22. Ertem E, Dereli D, Serter D, Tavmergen E, Çapanođlu R: İnfertil kadınlarda Chlamydia trachomatis insidansı. Türk Mikrobiyol Cem Derg 21:47 (1991).
23. Ertem E, Dereli D, Serter D, Engin Ö: İzmir genelevinde çalışan kadınlarda Chlamydia trachomatis araştırılması. Mikrobiyol Bült 27:335 (1993).
24. Dereli D, Ertem E, Serter D, Köse S, Haznedarođlu G: Konjunktival örneklerde Chlamydia trachomatis araştırılması. Mikrobiyol Bült 327:127 (1993).
25. Genç M, Ağaçfıdan A, Yeğenoğlu Y, Turan Ö, Kuru Ü, Mardh P-A: Screening for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in pregnant Turkish women. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 12:395 (1993).
26. Yılmaz G, Türkođlu S, Gerikalma Ö, Badur S: İstanbul'da hayat kadınlarında Chlamydia trachomatis infeksiyonu prevalansının enzim immünoassay (EIA) ve immunofluoresan (DFA) yöntemleri ile saptanması. 6. Ulusal Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi, Özet kitabı, s.237, (1991).
27. Ağaçfıdan A, Badur S: İstanbul'da hayat kadınları ile cinsel ilişkide bulunan kişilerde Chlamydia trachomatis araştırılması ve cinsel davranışları yönünden değerlendirilmesi. 12. İstanbul Tıp Fakültesi Kurultayı, Özet kitabı, s.139, (1993).
28. Ağaçfıdan A, Chow JM, Pashazade H, Özarmađan G, Badur S: Screening of sex workers in Turkey for Chlamydia trachomatis. Sex Transm Dis 24 :573 (1997).