

Chlamydia Trachomatis: Biyolojik Özellikleri, Klinik Önemi ve Tanı Yöntemleri

Şayeste DEMİREZEN

CHLAMYDIA
FEATURES,

TRACHOMATIS: BIOLOGICAL
CLINICAL IMPORTANCE AND
DIAGNOSTIC METHODS

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Sitoloji Ünitesi Ankara.

Geliş Tarihi: 1 Nisan 1988

ÖZET

C.trachomatis'in farklı serotipleri, hem erkeklerde hem kadınlarda çeşitli hastalıklara neden olurlar. Özellikle genital Chlamydial enfeksiyonlar, çoğu kez semptom vermediği ve seksüel yolla geçtiği için epidemik olabilirler.

C.trachomatis'in biyolojik özelliklerinin, klinik öneminin ve tanı yöntemlerinin bilinmesi, bu çeşitli hastalıkları önlemede yarar sağlayacaktır. Bu amaçla derlemede. C.trachomatis'in üç önemli noktası üzerinde durulmuştur.

A na h Ur Kelimeler: Chlamydial enfeksiyon C. trachomatis'in serotipleri.

T Kİ Tıp Bil Ara» Derolsl C.7. S.3, 1989, 184-188

SUMMARY

The different serotypes of C.trachomatis cause various diseases in both men and women. Especially, genital Chlamydial infections can be epidemic owing to the fact that they are mostly asymptomatic and disseminate sexually.

Knowing the biological features, clinical importance and diagnostic methods of C.trachomatis will be beneficial to prevent these various diseases. For this purpose, these important points of C.trachomatis have been pointed out in this review article.

Key Words: Chlamydial infection serotype of C.trachomatis.

T J Research Med Sci V.7. N.3, 1989,184-188

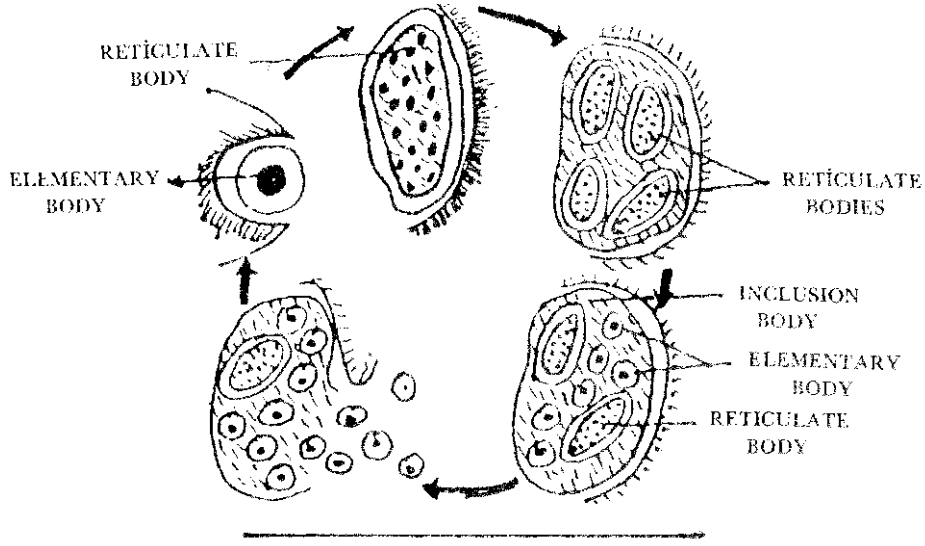
CHLAMYDIA TRACHOMATIS: BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

İnsanda çeşitli hastalıklara neden olan Chlamydia trachomatis, Mısır papirüslerinde bile geçmektedir (19). Sistematik olarak, Ordo: Chlamydiales, Familia: Chlamydiaceae, Cins: Chlamydia, Tür: a) C.trachomatis b) C.psittaci olmak üzere iki türü vardır. C.trachomatis insanı enfekte eder ve çeşitli hastalıklara neden olur. C.psittaci ise çeşitli kuş türlerini enfekte ederek psittacosis, ornithosis, felini pneumonitis ve bovine abortion gibi çeşitli hastalıklara neden olurlar (18,19, 24). C.trachomatis sulfonamitlere hassastır. İyot boyası ile boyandığında, inklüzyon cisimciğinde glikojen bulunduğu için pozitif reaksiyon verir. C.psittaci ise, sulfonamitlere dirençlidir ve iyot boyası ile pozitif reaksiyon vermez (12).

Chlamydia sahip olduğu özelliklerden dolayı, bakteri ile virüs arasında bir organizma olarak değerlendirilir. ATP sentezleyemezler. Bundan dolayı da enerji bakımından konakçı hücreye bağımlıdır (8,24). Buna karşılık, bakterilerde olduğu gibi hem DNA hem RNA bulundurlar. Hareketsiz, gram (—) ve zo-

runlu hücre içi paraziti olmaları nedeni ile virüslere benzerler. Virüslerden farklı olarak, ikiye bölünme ile çoğalırlar (9,12). Hücre duvarı gram (—) bakterilerine oldukça benzerlik gösterirler, fakat hücre duvarında muramik asidin olmayışı, bunları diğer mikroorganizmalar arasında tek kılar (16). Ribozom ve metabolik bakımdan aktif olan birçok enzimleri bulundurlar.

C.trachomatis hayat siklusu bakımından diğer mikroorganizmalardan oldukça farklı ve kompleks- tir. Bu siklusun tamamlanması için 48-72 saat gibi bir süre gereklidir. Bu siklus süresince C.trachomatis, iki parçacık veya cisimcik halinde bulunur. Bunlardan Elementer badi (elementary body EB) olarak bilinen ve enfeksiyonu meydana getiren parçacık 0,3 milimikron çapında, elektron yoğun nukleoid bulunduran küçük bir hücredir. Hem DNA hem RNA bulundurur ve bunlar hemen hemen eşit miktardadırlar (3,9). EB'lerden daha büyük olan, Retiküleyt cisimcik (Reticulate body, RB) veya başlangıç cisimciği (Initial body) denilen parçacıklar, RNA ve DNA bulundurmalarına rağmen RNA muhtevası bakımından daha zengindir. Hemen hemen DNA'nın dört katı



Şekil 1. Chlamydia trachomatis'in hayat siklusu.

kadardır. Metabolik bakımdan aktif ve 0,1-1 milimikron çapındadır (24).

Chlamydia trachomatis'in hayat siklusu, Şekil 1'de görüldüğü gibi EB'nin konakçı hücre yüzeyine yapışması ile başlar ve konakçı hücrenin yüzey membranlarından fagositik vezikül içinde hücre içine alınır (25). Böylece konakçı hücre içine alınan EB çevresinde, konakçı hücrenin yüzey zarlarından yapılmış bir vakuol oluşur. Daha sonra EB, RB denilen başlangıç cisimciğine organize olur. Bu organizasyon mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmış değildir.

RB'ler ikiye bölünme yoluyla çoğalarak sayılarını artırır (18,19). Enfeksiyondan 18-24 saat sonra RB'ler bölünmeyi durdururlar ve belirli bir süre sonra EB formuna kondanse olurlar (9). Bunlar bütün vakuolü doldurarak inklüzyon cisimciği oluştururlar. Bu mikrokoloni veya inklüzyon cisimciği, siklusun sonuna kadar vezikül içinde kalır. Vezikülün patlaması ve hücrenin ölümüyle birlikte EB'ler yeni bir hücreyi enfekte etmek üzere serbest kalırlar (22).

Antijenik özellikler bakımından Chlamydia, gruba özgü antijenler (group specific antigene), türe özgü antijenler (species-specific antigene), alt türe özgü antijenler (serotype veya type specific) taşırlar. Bu antijenlerin büyük bir çoğunluğu hücre membranlarında yer alırlar (4,17,18). Sack ve Mc Donald, 1979 yılında serotip A'dan yeni bir antijen tanımladılar. Eldeki veriler bu molekülün, Chlamydial fagositozu teşvik ettiği ve Chlamydia'nın hücre içine alındıktan sonra fagolizozomal erimeyi önlediğini belirttiler (17). Tablo 1'de Chlamydia'nın farklı antijenik yapılarının farklı hastalıklar oluşturduğu görülmektedir (19).

Tablo ~ I

Chlamydia'nın Farklı Antijenik Yapıları ve Oluşturduğu Hastalıklar

Tür	Serotip	Hastalıklar
C.psittaci	Tanımlanmamış çeşitli serotipler	Psittacosis
C.trachomatis	1,1, 1.2, L3	Lymphagranulomavenereum
C.trachomatis	A, B, B., C	Körlük oluşturan trahom
C.trachomatis	D,E,F,G,II,IJ,K	inklüzyon konjunktivit ve pneumoni (yeni doğanda), Non-gonococcal urethritis (NGU), Post-gonococcal urethritis (PGU) Epididimit, Proktit, Vaginit, Servisit, Endometrit, Salpingit, Oophorit, Pelvic Inflammatory Disease Reiter's sendromu.

KLİNİK ÖNEMİ

Chlamydia klinik semptom vermeyen, bu nedenle tanıda ve tedavide geç kalman, başta Amerika olmak üzere bir çok ülkede oldukça yaygın ve cinsel yolla geçen bir mikroorganizmdir. tstatistiki verilere göre, her yıl Amerika'da 300 milyon kadar Chlamydia ile enfekte hasta bulunduğu ve sıklığının da gittikçe arttığı belirtilmektedir (14,15,23).

Chlamydia trachomatis'in oluşturduğu nongonokoksik üretrit, gonorenden üç katı kadar sıklıkla görül-

mektedir ve gittikçe artmaktadır. Gonorede sıklıkla kalın ve pürülan bir akıntı olurken, Chlamydia'da akıntı daha sulu ve mukoïddir. Penisilin gonoreye karşı hassas olmasına rağmen, Chlamydia'ya karşı hassas değildir. Bu nedenle, uretrit gonokokkal olup olmadığını belirlemek önemlidir (10,23). Postgonokoksik uretrit, gonokok tedavisi sonrasında tekrarlayan bir uretritir. Gonokok sonrası uretritlerin dörtte üçü C.trachomatis tarafından oluşturulur. Gonoreli hastaların %25'inde, gonore ile Chlamydia birlikte bulunur. Bu nedenle sadece Penisilin ile tedavi edilen hastalarda, tedavi sonrasında uretrit görülebilir (19, 23). Epididimit ise, akut epididimit 35 yaşın üzerindeki erkeklerde en çok Escherichia coli tarafından meydana gelirken, Amerika'da her iki erkekte birinde Chlamydia tarafından meydana geldiği görülmüştür. Epididim, sadece Chlamydia ile enfekte olabileceği gibi, N.gonore gibi diğer patojenlerle birlikte de enfekte olabilir. Epididimit genellikle uretradan spermatik kord'a doğru yayıldığı için, tanı koyulup tedavi edilmediği takdirde steriliteye neden olabilir. Chlamydia'nın neden olduğu proktit ise, daha çok homoseksüel erkeklerde görülen anal iltihaplanmadır. Bu etkenin, N.gonore ve Herpes simplex gibi etkenlerden ayırılması gerekir (10,23). C.trachomatis ile Reiter's sendromu arasındaki ilişki tam olarak anlaşılmamış olmasına rağmen, Chlamydia uretral enfeksiyonun artriti başlattığı fözlenmiştir. Reiter sendromlu hastaların %50 ihtimalle uretral Chlamydia taşıyıcısıdır (18,23).

Hanımlarda da, vaginit, servisit, endometrit, oophorit ve pelviğin iltihabı hastalığı (pelvic inflammatory disease) gibi çeşitli hastalıklar oluşturan Chlamydia, dış gebelik ve infertilite gibi ciddi sorunlara yol açan salpingit oluşumunda da önemli bir yer tutar (18,20,21). Bütün anne ölümlerinin %10'unu oluşturan dış gebelik, salpingitli hanımlarda 8-10 kat daha fazla görülür. İstatistik veriler, akut salpingitisin %50 sinde inklüzyon konjunktivit gelişmektedir. Doğumdan sonra, 5-14. gün içinde görülür. Chlamydia'lı annelerden doğan çocukların %10-20'sinde Chlamydia'lı pnemoni oluşur. Yeni doğan çocukların ilk 6 ayındaki pnemonili çocukların %20-60'ından C.trachomatis sorumludur. Çoğu hastalarda, doğumdan sonra 2.veya 3.ayında görülür. Yaklaşık Chlamydia pnemonili hastaların her ikisinden birinde konjunktivit vardır (7,10,23).

TANI YÖNTEMLERİ

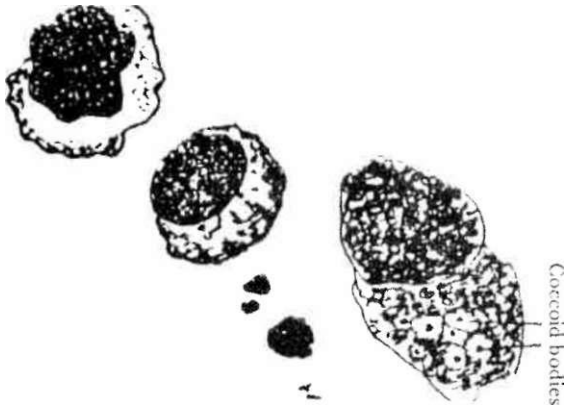
Chlamydia tanısı için, geçmiş yıllardan günümüze çeşitli metodlar uygulanmış ve uygulanmaktadır. Bu yöntemler arasında Direkt inceleme yöntemi önemli bir yer tutar. Direkt inceleme yönteminde sitolojik inceleme için, serviksten, uretradan, konjuktiv-

vadan, uygun bir spatula ile hücreler kazıma yöntemiyle alınmalıdır. Servikal kazınması için, örneği kolumnar epitelden ve tranzisyonal epitelden toplamak çok önemlidir. Çünkü Chlamydia, metaplazik veya kolumnar hücreleri enfekte eder (3,8,11,12,22).

Uretral materyal, spatula 2-3 cm uretra içinde olmak üzere fossa navicularisi geçtikten sonra birkaç kez döndürülerek alınır. Servikal materyal ise, Spekulum takıldıktan sonra, spatula endoservikal kanal içinde olmak üzere kendi çevresinde birkaç kez döndürülmek suretiyle alınır. Alınan materyal ile hazırlanan smear'ler mikroskopik inceleme için havada kurumadan derhal metanol ile fikse edilmeli veya Giemsa boyaması için, havada kurutulmuş boyanmalıdır (1,22). Giemsa boyama yöntemi, trahom vakaları için daha spesifiktir. Bu boya ile, konjuktival epitel hücre stoplazmasında bulunan inklüzyon cisimcikleri pembemsi boyanır. İyot boyası, inklüzyon cisimciklerindeki glikojeni boyar, fakat epitel hücrelerinde de glikojen olduğu için bu yöntem hassas değildir (23,24).

Hazırlanan smear'ler Floresan işaretli Chlamydia antibadi tekniği ile de incelenebilir. Mikroskopik incelemede, eğer C.trachomatis antijeni varsa, enfekte hücre stoplazmasında göze çarpan, parlak floresan veren inklüzyon cisimcikleri görülür (18,24). Bu teknikte hem poliklonal hem monoklonal antibadi kullanılabilir. Poliklonal antibadi kullanılarak yapılan direkt mikroskopik inceleme, daha çok trahom, inklüzyon konjunktivit ve LGV tanısı için yararlıdır. Chlamydia genital organ enfeksiyonlarının tanısında yeterli hassasiyette değildir (19,23,24).

Genelde kanser taraması için kullanılan Papanicolaou boyama yöntemi ile hazırlanan smear'lerin mikroskopik incelemesinde, Chlamydia hayat siklusunun farklı evrelerindeki inklüzyon cisimcikleri görülebilir (3,8,9,10,14). Chlamydia ile enfekte hücreler, metaplazik squamoid görünümde, tek tek ve iki veya altı hücreden oluşan küçük gruplar halinde (3,5,10). Stoplazmada yaygın, küçük vakuoller içinde siyanofilik granüler bulunur. Bunlara kokkoid cisimcik (cocoid body) veya erken elementer cisimcik denir (Şekil 2). Bu görünüm Chlamydia hayat siklusunun ilk evresini göstermektedir (9,10). İkinci evresinde kokkoid cisimcikler yanısıra büyük vakuol içinde gevşek ve/veya sıkı iri inklüzyon cisimciği bulunur (reticulate body) (Şekil 3). Üçüncü ve son evrede, nükleus etrafında birbiri üzerine kümelenmiş şekilde vakuoller içinde inklüzyon cisimcikleri bulunur (4,5,6,7,10) (Şekil 4). Chlamydia ile enfekte hücre nükleuslarında, büyüme, koyu boyanma (hyperchromatism nükleus membranında bozulma (girintili çıkıntılı hal alması), çok nükleuslu olma (multinucleation) gibi hücresel atipi görülür. Bu nedenle son literatürlerde, Chlamydia'nın co-carcinogenic bir etken olabileceği üzerinde durulmaktadır (2,11). Sitolojik



Şekil 2. Stoplay.mada diffüz olarak bulunan kokkoid cisimcikler (coccooid bodies) veya erken elementer cisimcikler. Chlamydia hayat siklusunun ilk evresi.

yöntemle, servikal smear' lerle C.trachomatis ön tanısı yapılmaktadır.

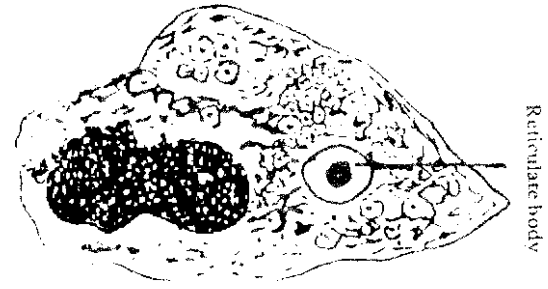
Hücre kültür yöntemi oldukça hassas ve spesifik bir yöntem olmasına rağmen, taşıma ve uygulama için özel laboratuvar araç ve gereçleri gerektirmesi, pahalı ve zaman alıcı bir yöntem olması nedeni ile rutin tanılar için kullanılmaktadır (11,14). Bu amaç için, Me Coy, Hela 229, BHK-21 ve L-929 hücre kültürleri kullanılmaktadır (23).

Enzim Immunoassay (EIA) yönteminde de üretirai ve endoservikal örneklerin toplanması, sitolojik yöntemde olduğu gibidir. Alınan örnek, içinde taşıma solüsyonu bulunan tüp içinde laboratuvara gönderilmelidir. Bu yöntem, uretral ve servikal smear'lerde Chlamydia antijenleri arama temeline dayanır (26). Test, asemptomatik hastaların rutin taramalarında oldukça büyük yarar sağlar. Ülkemizde bu yöntemle 600 hasta incelenerek Genitoüriner sistem enfeksiyonlarında C.trachomatis rolü araştırılmıştır (1,13).

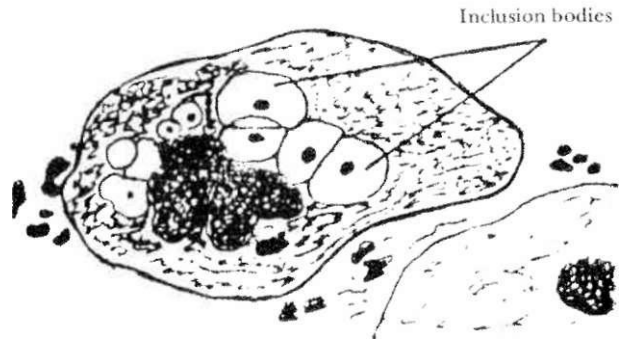
Serolojik yöntemlerden Kompleman Birleşmesi (Complement fixation test) hastalardan alınan kan örneklerinde, Chlamydia grup antijeni kullanılarak serumdaki antikor ölçülmesi esasına dayanır. Daha çok LGV tanısı için kullanılır (19,24).

Mikroimmunfloresan testde, herbir Chlamydia serotip ile tavuk embriyosunun sarı kesesine enfekte etme yoluyla hazırlanan antijenler kullanılır. Hasta srumlarının seri dilüsyonları, hazırlanmış antijenler üzerine ilave edilir ve örnekteki antibadi immunfloresan kullanılarak incelenir. Bütün serotiplerden antijen hazırlamak, zaman alıcı ve yorucudur. Bu nedenle test, klinik kullanım için sınırlı kalmaktadır (23).

Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri ARAŞTIRMA Dergisi C.7, S.3 1989
Turkish Journal of RESEARCH In Medical Sciences V.7, N.3 1989



Şekil 3. Büyük vakuol içinde, gevşek ve/veya sıkı şekildedeki inklüzyon cisimciği (reticulate body). Chlamydia hayat siklusunun ikinci evresi.



Şekil 4. Nukleus etrafında, biribiri üzerine kümelenmiş şekilde, vakuol içinde inklüzyon cisimcikleri. Chlamydia hayat siklusunun üçüncü ve son evresi.

ELISA (Enzym-Linked Immunosorbent Assay) yönteminde, serolojik yöntemde olduğu gibi kan örnekleri toplanır. Serum kullanılabildiği kadar dondurulmalıdır. C.trachomatis antijeni, hasta serumunda antibadilerin varlığını incelemek için kullanılır. Bu test, kompleman birleşme tekniğinden daha hassastır (24).

Immunocytochemical yöntemlerden immunperoksidaz (immunoperoxidase) tekniği, enzim işaretli monoklonal antibadi kullanma temeline dayanan, hassas, Chlamydia'nın bütün antijenik tipleri için uygulanabilen, iki üç saat gibi kısa bir sürede sonuç alınabilen pratik bir yöntemdir (5,6,19,20,21). Teknik kurulduğu takdirde, Papanicolaou tekniği ile boyanıp sitolojik olarak incelenen ve Chlamydia yönünden şüpheli görülen hasta smear'lerine bu yöntem uygulanabilir.

KAYNAKLAR

1. Abbot Laboratories, Diagnostic Division: Recommended sampling techniques in specimen collecting for chlamydiazyme. Abbot Park II, 1985.
2. Allerding JT, JW Scott, RE Boardman: Association of Human Papillomavirus and Chlamydia infections with incidence cervical neoplasia. *Acta Cytol* 29: 653-659, 1985.
3. Borges IR, C Oswaldo, M Hilda, E Jose: Chlamydial infection in Papanicolaou stained cervical smears. *Acta Cytol* 28:471-476, 1984.
4. Caldwell DH, K Cho-Chou: Serological diagnosis of lymphogranuloma venereum counter immunoelectrophoresis with a Chlamydia trachomatis protein antigen. *J Immunol* 118:442-445, 1977.
5. Demircan Ş, K Kennich, K Toshifumi, K Yosuke, O Yoshiyuki.: Immunocytochemical detection of Chlamydia trachomatis on cytological specimens. *Tokai J Exp Clin Med* 11:229-234, 1986.
6. Dorman AS, Leigh DM, Caron LB, Thomas SF, Jhon OR, Peter BM.: Detection of Chlamydia trachomatis in Papanicolaou-stained cervical smears by an indirect immunoperoxidase method. *Acta Cytol* 29:665-670, 1985.
7. Duggan MA, Cynthia P, Deborah K, Stanley RJ.: A comparison of Papanicolaou giemsa and immunoperoxidase staining methods. *Acta Cytol* 30:541-586, 1985.
8. Geerling S, Sonja NA, Luther LE, Sally ML, Linda D, Steven VV.: Sensitivity and specificity of the Papanicolaou-stained cervical smear in the diagnosis of the Papanicolaou-stained cervical smear in the diagnosis of Chlamydia trachomatis infection. *Acta Cytol* 29:671-675, 1985.
9. Giampaolo C, Janet M, Soloman B, William CM: How sensitivity is the Papanicolaou smear in the diagnosis of infections with Chlamydia trachomatis. *Arne J Clin Pathol* 80:844-849, 1983.
10. Gupta KP, Evelyn LF, Yener ES, Jhon FK, Susan GT, Patricia DA.: Cytologic investigation in Chlamydia infection. *Acta Cytol* 23:315-329, 1979.
11. Harnekar BA, Glodwyn L, Stephen M.: Cytologically detected Chlamydial changes and progression of cervical intraepithelial neoplasias. *Acta Cytol* 29: 661-663, 1985.
12. Holmes KK.: The Chlamydia epidemic. *JAMA* 245: 1718-1723, 1981.
13. Koksall F, Ekrem G, Erol A, Kadri O.: Genitoüriner sistem infeksiyonlarında, enzim immunoassay ve giemsa boyama yöntemleri ile C.trachomatis rolünün araştırılması. *Mikrobiyol Bült* 20:129-138, 1986.
14. Linder EL, Sonja G, Jhon NA, Sally ML, Kathleen AIL: The Cytologic features of Chlamydial cervicitis. *Acta Cytol* 29:676-681, 1985.
15. Lipkin SE, Jeanne MV, S Mary-Ann, WE Thomas, Julics S.: Comparison of monoclonal antibody staining and culture in diagnosis cervical Chlamydial infection. *J Clin Microbiol* 23:114-117, 1986.
16. Matsumoto A, Manire GP.: Electron microscopic observations on the fine structure of cell walls of Chlamydia psittacii. *Bacteriol* 104: 1332-1337, 1970.
17. Sack LD, Mc Donald AB.: Isolation of type specific-antigen from Chlamydia trachomatis by Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide gel electrophoresis. *J Immunol* 122: 136-139, 1979.
18. Sachachter J.: Chlamydia (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma Group) in: *Clinical Microbiology*. Fourth edition, American Society for Microbiology. pp:856-862, 1985.
19. Sachachter J.: *Biology of Chlamydia trachomatis*, in: sexually transmitted disease, Mc Grow Hill Book Company, pp: 243-257, 1984.
20. Shiina Y.: Cytomorphological and immunocytochemical studies of Chlamydial infections in cervical smears. *Acta Cytol* 29:683-691, 1985.
21. Silverman FJ, Nicki S, Unverwerh M Marilyn C: The value of immunoperoxidase staining for Chlamydia on Papanicolaou-stained smears. *Acta Cytol* 29:903-905, 1985.
22. Syva Company: Physician's information for specimen collecting and slide preparation. The Suny-Downstate Medical Center, pp: 1-14, 1986.
23. Syva Company: Chlamydia: A social problem, a patient problem, a medical problem. The Suny-Downstate Medical Center, pp: 11-22, 1986.
24. Taylor-Robinson D, Thomas BJ.: The role of Chlamydia trachomatis in genital tract and associated disease. *J Clin Pathol* 33:205-233, 1980.
25. Ward M, Alan M.: Control mechanisms governing the infectivity of Chlamydia trachomatis for He La cells: Mechanisms of endocytosis. *J General Microbiol* 130: 1765-1780, 1984.
26. Wingersan L.: Two new tests for Chlamydia: Get quick results without culture. *JAMA* 250:2257-2259, 1983.