



## ENDOSERVİKAL SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİNDE CHLAMYDIA TRACHOMATIS ANTİJENİ ARANMASINDA İKİ FARKLI YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI

Demet KAYA<sup>1</sup>, Uzay YILDIRIM<sup>2</sup>, Elif ÖZTÜRK<sup>1</sup>, İdris ŞAHİN<sup>1</sup>, Şükri ÖKSÜZ<sup>1</sup>, Ali ALHAN<sup>2</sup>

Chlamydia cinsinden mikroorganizmalar zorunlu hücre içi paraziti olup, antijenik ve biyokimyasal özellikleri, yaptıkları hastalıklar, konak canlıdaki patojenik özelliklerine göre üç türde toplanmaktadır. Bu mikroorganizmalar insanda göz, solunum yolu ve cinsel temasla bulaşan infeksiyonlardan sorumlu etkenlerdir. C.trachomatis oluşturduğu infeksiyonların yüksek prevalansı ve çeşitli klinik tablolar nedeniyle üzerinde en çok araştırma yapılan türdür. Chlamydia infeksiyonları genellikle nonspesifik klinik belirtiler oluşturduğundan, etkenin belirlenmesinde laboratuvar tanı yöntemleri önemli yer tutmaktadır. Tanıda hücre kültürü yönteminin yanı sıra sitolojik yöntemler, direkt tanı yöntemlerinden Direk Floresan Antikor (DFA) ve Enzim Immunoassay (EIA), moleküler biyoloji tekniklerinden Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve hibridizasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu çalışma cinsel yönden aktif dönemde olan ve vaginal akıntı şikayeti ile hastaneye başvuran 50 hastada C.trachomatis antijeninin iki farklı yöntemle araştırılması amacıyla planlandı. Bu amaçla alınan endoservikal sürüntü örnekleri hızlı test ve EIA yöntemiyle test edildi. Toplam 50 örnekten hızlı test ile 4(%8)'ünde, EIA yöntemi ile 1(%2)'inde C.trachomatis antijeni saptandı. Sonuçlar her iki testin de kültür, DFA veya moleküler tekniklerin uygulanmadığı merkezlerde kullanılabileceğini, özellikle hızlı testin tarama amaçlı çalışmalarda uygun olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Chlamydia trachomatis, tanı, immunoassay

### COMPARISON OF TWO METHODS FOR DETECTION OF CHLAMYDIAE TRACHOMATIS ANTIGEN IN ENDOSERVICAL SPECIMENS

Chlamydiae, an obligate intracellular parasite, consists of three species, classified according to their antigenic, biochemical characteristics and the pathogenicity to the host and diseases. These microorganisms are responsible for eye, respiratory tract and sexually transmitted diseases. C.trachomatis is the most frequently studied species, because of the high prevalence of infections caused by this pathogen and various clinical syndromes. Since Chlamydia infections frequently follow a nonspecific clinical course, laboratory tests have an important role in diagnosis. Tissue culture, cytologic tests, direct diagnostic methods such as DFA and EIA, molecular biological techniques such as PCR and hybridization are used for laboratory diagnosis. This study was planned to detect C.trachomatis antigen with two methods in 50 patients who are sexually active and attended to the hospital with vaginal discharge. Endocervical specimens of the patients were examined by EIA and a rapid test for C.trachomatis antigen. Of 50 specimens with rapid test 4(8%) and with EIA 1(2%) was positive. These results showed that both methods can be widely used for centers, where diagnostic tests such as culture, DFA and molecular techniques cannot be performed and rapid tests are particularly suitable for screening studies.

Keywords: Chlamydia trachomatis, diagnosis, immunoassay

C.trachomatis günümüzde cinsel temasla bulaşan hastalık etkenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. C.trachomatis'in neden olduğu genital infeksiyonlar kadınlarda sadece sıklık açısından değil, sonuçları açısından da önem taşımaktadır. Etkenin özellikle D-K serotipleri kadınlarda uretrit, servisit, endometrit, salpenjit ve pelvik inflamatuvar hastalığa (PIH) neden olmaktadır. Kronik infeksiyon sonucu infertilite, ektopik gebelik gibi komplikasyonların gelişimi de söz konusu olmaktadır<sup>1-3</sup>.

C.trachomatis ile infekte kadınlar genellikle asemptomatik olup, semptomatik olgularda en sık rastlanan yakınma vaginal akıntı olmaktadır. İnfeksiyonun sıklıkla asemptomatik seyretmesi ya da hafif belirtiler vermesi nedeniyle tanı, ancak taramalar sırasında konulmaktadır<sup>1</sup>.

C.trachomatis'in laboratuvar tanısında kullanılan en iyi ve güvenilir yöntem hücre kültürü olarak bilinmektedir. DFA, EIA ile antijen tayini ve son yıllarda hibridizasyon, PCR, transkripsiyon esaslı amplifikasyon (TMA), ligaz zincir reaksiyonu (LCR) gibi moleküler teknikler ile de tanı konulabilmektedir. Ayrıca ticari olarak sunulan hızlı

testler pratik yöntemler olmakla beraber duyarlılık ve özgüllükleri halen araştırılmaktadır<sup>4-8</sup>.

Bu çalışmada, vaginal akıntı yakınmasıyla hastanemize başvuran hastalardan alınan endoservikal sürüntü örneklerinde, EIA ve hızlı testle C.trachomatis antijeni araştırılmış ve iki yöntemin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Hastanemiz Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine vaginal akıntı yakınması ile başvuran 50 kadın (25-45 yaşları arasında) çalışma kapsamına alındı. Jinekolojik muayenesi yapılan, klinik belirti ve bulguları kaydedilen hastalara spekulum uygulandı. Serviksten sürüntü alınmadan önce serviks dışındaki müküs temizlendi. Daha sonra serviks içerisine sokulan özel steril eküvyon 5-10 saniye döndürülerek materyal alınıp, vaginal bölgeye değiştirilmemesine dikkat edilerek özel transport tüplerine aktarıldı. Her hastadan ikişer adet endoservikal örnek alınıp mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı.

Örneklerden birisi öncelikle hızlı tanı testi ile (Clearview C.trachomatis Antijen) üretici firma tarafından önerilen çalışma prosedürü dikkate alınarak test edildi. Diğer örnek ise EIA yöntemi ile çalışılmak üzere +4°C'de saklandı

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi

<sup>1</sup>Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,

<sup>2</sup>Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı



ve daha sonra EIA (Boule Diagnostics) yöntemi ile C.trachomatis antijeni araştırıldı. Sonuçlar EIA okuyucu (EL X 800, Biotek Instrument) ile değerlendirildi<sup>7</sup>.

## BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan 50 kadına ait endoservikal örneklerden 1(%2)'i EIA ve hızlı test yöntemlerinin her ikisiyle de C.trachomatis antijeni açısından pozitif bulundu. Hızlı test ile pozitif bulunan örnek sayısı 4(%8) iken, bu örneklerden sadece birinde EIA yöntemi ile de pozitiflik saptandı. Birbirleri ile uyumlu olmayan sonuçlarda, testler tekrarlandı ancak ilk bulunan sonuçlar ile farklılık tespit edilmedi. Sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** EIA ve hızlı test ile elde edilen sonuçlar

SONUÇ	EİA	HIZLI TEST
Pozitif	%2	%8
Negatif	%98	%92

## TARTIŞMA

C. trachomatis'e bağlı gelişen genital infeksiyonların sıklığı ülkelere ve toplumlara göre değişmektedir. Gelişmiş ülkelerde cinsel ilişki ile bulaşan infeksiyon etkenleri arasında ilk sırayı alan C.trachomatis' in Türkiye'deki sıklığı ve epidemiyolojik özellikleri ile ilgili bilgiler fazla değildir<sup>1,2</sup>.

Yapılan çeşitli çalışmalar genital C.trachomatis infeksiyonu oranının sağlıklı kadınlarda %0-26, genitoüriner semptomları olan kadınlarda %10-50, infertil kadınlarda %1-40, genel kadınlarda %4-33, gebelerde ise %2-44 oranlarında değiştiğini göstermektedir<sup>1</sup>. Türkiye'de C.trachomatis'in değişik gruplarda sıklığını araştırarak çalışmalar yapılmıştır. İzmir bölgesinde yapılan bir seri çalışmada asemptomatik kadınlarda %23-27.3, yakınması olan kadınlarda %32-42, infertil olgularda %8.5-11.5 ve genel kadınlarda % 25.4 oranlarında C.trachomatis antijen varlığı saptanmıştır<sup>9-14</sup>.

Saltoğlu ve ark.<sup>15</sup>, PCR ve EIA ile semptomatik ve asemptomatik kadınlarda Chlamydia infeksiyonunu araştırdıkları çalışmalarında semptomatik kadınların %12.2'sinde PCR, %8.16'sında EIA yöntemi ile, asemptomatik kadınların %9.52'sinde PCR, %4.76'sında EIA yöntemi ile pozitiflik saptamışlar ve her iki grup arasında farkın anlamlı bulunmaması sebebiyle asemptomatik kadınların da C.trachomatis antijenleri açısından taranması gerekliliğini vurgulamışlardır. Ürünsak ve ark.<sup>16</sup> semptomatik kadınlarda %17.7, Dereli ve ark.<sup>12</sup> asemptomatik gebelerde %10.52, semptomatik gebelerde %29.57, Özşener ve ark.<sup>10</sup> ise infertil olgularda

%6.4, asemptomatik grupta %16.1 oranlarında C.trachomatis antijen varlığını göstermişlerdir. Dereli ve ark.<sup>9</sup>, asemptomatik infertil kadınlarda C.trachomatis antijeni aramaya yönelik başka bir çalışmalarında da EIA yöntemi ile %4.7, DFA yöntemi ile %9.3'lük pozitiflik elde etmişlerdir. Bu çalışmada EIA yöntemi ile pozitiflik oranı %2, hızlı test ile %8 olup; bu bulgular İzmir bölgesinde yapılan çalışmalardan düşük, Aksoy ve Saltoğlu'nun çalışmalarına benzer bulunmuştur<sup>9-17</sup>.

C.trachomatis' in etken olduğu genital infeksiyonların kadınlarda çoğunlukla asemptomatik seyretmesi, Chlamydia infeksiyonlarının tanısında kullanılan uygulaması kolay, çabuk, kesin sonuç veren ve ekonomik tanı yönteminin halen bulunmaması ve bu nedenle her merkezde tanı konulamaması, infeksiyon tanısının çoğunlukla gelişmiş merkezlerde yapılan tarama testleri sırasında ortaya çıkması gibi durumlar infeksiyonun genellikle kronikleşmesine, yaygınlaşmasına ve ciddi sorunların ortaya çıkmasına neden olmaktadır<sup>1</sup>.

C.trachomatis infeksiyonunun tanısında kullanılacak testlerin maliyet, uygulama kolaylığı, hız, güvenilirlik, ek araç ve gereç varlığına ve deneyimli laboratuvar personeline gereksinim duyulup duyulmayacağı gibi özellikleri ile değerlendirilmesi gerekmektedir. C.trachomatis tanısında halen hücre kültürü altın standart olarak kabul edilmektedir, ancak bu yöntem yurdumuzda sınırlı sayıda merkezde uygulanabilmektedir. Hücre kültürüne alternatif olabileceği ifade edilen DFA yöntemi %80 duyarlılık, %93 özgüllüğe sahip olmakla beraber floresan mikroskopu ve deneyimli laboratuvar elemanlarına gereksinim söz konusudur<sup>7</sup>.

DFA yöntemi gibi direkt antijen aramaya yönelik diğer test de EIA yöntemidir. EIA'nın duyarlılığı %64-98.3, özgüllüğü ise %89-100 arasında bulunmuştur. Duyarlılığın düşüklüğü örneğin içerdiği elementer cisim sayısı ile orantılı olup örnek alınmasında ekzoservikal mukusun yetersiz temizlenmesinin yalancı negatif sonuçlara neden olduğu bildirilmektedir<sup>1,7</sup>. Bir defada çok örnek çalışılması, özel eğitime gerek olmaması EIA yönteminin bir çok merkezde yaygın olarak kullanılıyor olması EIA'nın avantajlarıdır. Bu yöntemlerin yanı sıra tanıda kullanılan hibridizasyon, PCR, LCR, TMA gibi yeni yöntemler de sınırlı merkezlerde kullanılabilir. Hızlı tanı testlerinin de duyarlılık ve özgüllüğü ile ilgili çalışmalar sürmekte olup; bu testler her merkezde kullanılabilir, uygulanması kolay, cihaz ve deneyimli personel gerektirmeyen ve sonuçları derhal elde etmeyi (10-15 dakika içinde) sağlayan testlerdir. Temeli EIA prensibine dayanan hızlı testlerle C.trachomatis lipopolisakkarit antijenini saptamak mümkündür<sup>4,7,8</sup>.

Bu çalışmada EIA ve hızlı test yöntemleri yaygın kullanılabilir avantajları nedeniyle seçilmiş, sonuçlar karşılaştırılmıştır. Her iki yöntemle 50 örnekten 1(%2)'inde pozitiflik elde edilmiş, hızlı testle ise bu oran %8'e çıkmıştır.



Sonuçlardaki bu farklılığın nedeninin ortaya konması, ancak hücre kültürü gibi referans bir yöntemle örneklerin test edilmesi ile mümkün olacaktır. Bu nedenle, daha büyük serilerde çalışılması ve sonuçların hücre kültürü ile birlikte değerlendirilmesi yararlı olacaktır.

Sonuç olarak; çalışmamızda kullanılan EİA ve hızlı test yöntemlerinin her ikisi de uygulama kolaylığı ve maliyet açısından benzer özellikte testlerdir. Bu testlerin duyarlılığı ve özgüllüğü daha yüksek olan tanı yöntemlerinin kullanılması mümkün olmayan, donanımı yetersiz laboratuvarlarda kullanılabileceği, özellikle hızlı testlerin ise tarama amacıyla seçilebileceği kanısındayız.

#### KAYNAKLAR

1. Serter D. Chlamydia trachomatis infeksiyonlarında klinik belirtiler. "Cinsel temasla bulaşan hastalıklar". Ağaçfidan A, Anç Ö (ed). Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No:35, İstanbul, 1999.
2. Serter D. Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul,1997: 94-114.
3. Honey E, Templeton A. Prevention of pelvic inflammatory disease by the control of C. trachomatis infection. Int J Gynaecol Obstet 2002; 78(3): 257.
4. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. Clin Microbiol Rev 1997; 10(1): 160-84.
5. Battle TJ, Golden MR, Suchland KL, Counts JM, Hughes JP, Stamm WE, Holmes KK. Evaluation of laboratory testing methods for Chlamydia trachomatis infection in the era of nucleic acid amplification. J Clin Microbiol 2001; 39(8): 2924-7.
6. Loeffelholz MJ, Jirsa SJ, Tekse RK, Woods JN. Effect of endocervical specimen adequacy on ligase chain reaction detection of Chlamydia trachomatis. J Clin Microbiol 2001; 39(11): 3838-41.
7. Ağaçfidan A. Chlamydia infeksiyonlarının laboratuvar tanısı. Flora 1997; 1: 27-34.
8. Sluknick M, Small GW, Sinar AE, et al. Comparison of the Clearview Chlamydia test , Chlamydiazyme and cell culture for detection in women with low prevalence of infection. J Clin Microbiol 1991; 29: 2086.
9. Dereli D, Ertem E, Serter D, Tavmergen E, Çapanoğlu R. İnfertil kadınlarda direkt floresan antikor ve EIA yöntemlerinin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 1993; 23: 110-112.
10. Özşener S, Bilgiç A, Bilgin O, Erensoy S, Çapanoğlu R. İnfertilitede Chlamydia trachomatis infeksiyonu. İnfeksiyon Dergisi 1996; 7(3-4): 313-316.
11. Bahar İH, Şaşmaz E, Çakır N, Abacıoğlu H. Chlamydia trachomatis infection in prostitutes and gynecological patients. İnfeksiyon Dergisi 1995; 9(3): 267-268.
12. Dereli D, Serter D, Ertem E, Asena U. Gebelerde servikal enfeksiyonunun araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni 1995; 29: 261-64.
13. Tavmergen E, Çapanoğlu R. İnfertil kadınlarda Chlamydia trachomatis insidansı. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 1991; 21(1): 47-50.
14. Ertem E, Dereli D, Serter D, Engin Ö. İzmir genelevinde çalışan kadınlarda Chlamydia trachomatis araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni 1993; 27: 335-337.
15. Saltoğlu N, Özgünen FT, Köksal F, Öztürk C, Serin M, Aycan Ş, Arısoy AH. Semptomatik ve asemptomatik kadınlarda C. trachomatis infeksiyonlarının tanısında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve enzim immün assay (EIA) yöntemlerinin karşılaştırılması. İnfeksiyon Dergisi 1997; 11(1): 57-61.
16. Ürünsak M, Akan E, Serin MS, Ürünsak İ, Öksüz H, Köksal F. Genital Chlamydia infeksiyonlarında polimeraz zincir reaksiyon (PCR)'un tanı değeri. Flora 1997; 4: 273-77.
17. Aksoy AM. Çeşitli servisit olgularında ve vaginal akıntısı bulunan hastalarda Chlamydia trachomatis antijeni araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni 1993; 27: 327-334.