

ÇOCUKLUK ÇAĞI ASTIM ATAKLARINDA *CHLAMYDIA PNEUMONIAE*' NİN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF *CHLAMYDIA PNEUMONIAE* IN ASTHMATIC ATTACKS IN CHILDHOOD

Ayşegül UYAR¹ Mustafa UYAR² Aynur KARADENİZLİ¹ Recep BİNGÖL¹
Figen PEKÜN² Haydar ÖZTÜRK²

¹ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

² SSK Okmeydanı Eğitim Hastanesi Çocuk Kliniği, İstanbul

Anahtar Sözcükler: *Chlamydia pneumoniae*, astım, çocukluk çağı, antikor, IgM, IgG, enzim immuno-assay (EIA), mikroimmun floresans test (MIF)

Key Words: *Chlamydia pneumoniae*, asthma, childhood, antibodies, IgM, IgG, enzyme-immuno-assay (EIA), microimmune-fluorescence test (MIF)

ÖZET

Astım atakları; allerjen, iritan madde, infeksiyon ve duygusal faktörler ile ortaya çıkabilmektedir. Bu çalışmada, *Chlamydia pneumoniae* infeksiyonlarının bronşiyal astım ataklarında rolünün saptanması amaçlandı. Bu amaçla, en sık görüldüğü 5-15 yaşlar arasındaki 50'si astımlı ve 30'u sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam 80 çocuk bu çalışmaya alındı. Serumlarda enzim-immuno-assay (ELISA) ve mikroimmun floresans test (MIF) yöntemleri ile *C. pneumoniae* IgM ve IgG antikorları araştırıldı. Olguların dokuzunda ELISA ile IgM, altısında IgG pozitifliği saptandı. MIF yöntemi ile yedi olguda IgM, iki olguda IgG pozitif olarak bulundu. Kontrol grubunda ise ELISA ile IgM pozitifliği üç olguda, IgG pozitifliği ise iki olguda saptanıp bu olgular MIF yöntemi ile de pozitif olarak bulundu. Bu çalışmada, *C. pneumoniae* infeksiyonlarının bronşiyal astım ataklarına neden olduğuna dair anlamlı bir ilişki bulunmadı.

SUMMARY

Asthmatic attacks can be triggered by allergens, irritants, infections and emotional factors. This study was set up to investigate whether *Chlamydia pneumoniae* infections play a role in attacks of asthma or not. Eighty children of 5-15 years of age were taken into the study, 50 asthmatic and 30 controls, considering the fact that attacks are the most frequent in this age group. *Chlamydia pneumoniae* IgM and IgG antibodies were investigated in sera by enzyme-immuno-assay (ELISA) and microimmune fluorescence test (MIF) methods. IgM and IgG were found positive in nine and six cases, respectively, by ELISA while it was seven and two by MIF method. In the control group, IgM and IgG were positive in three and two cases, respectively, by ELISA. These cases were also found positive for the related antibodies by MIF method. In conclusion, no significant relation was found between *C. pneumoniae* infections and bronchial asthma attacks in children.

GİRİŞ

Bronşiyal astım aşırı duyarlılık reaksiyonlarının meydana getirdiği mukoza ödemi, hücre infiltrasyonu, hiperemi ve sekresyon artışı ile karakterize, periyodik öksürük atakları,

nefes darlığı gibi klinik bulgulara neden olan bir bronş hastalığıdır. Solunum yollarının virus, mikoplazma ve klamidy infeksiyonları bronşiyal astma için risk faktörleridir. Solunum yolu infeksiyonu nedeniyle tedavi gören

çocuklarda ileri yaşlarda bronşiyal astım görülme olasılığı daha yüksek bulunmuştur (1-3).

Chlamydia cinsi mikro-organizmalar yapısal olarak Gram-negatif bakterilere benzerlik gösteren hareketsiz, zorunlu hücre içi parazitleridir. *Chlamydia pneumoniae* enfeksiyonlarında tanı, etkenin izolasyonu ve/veya spesifik serum antikor yanıtının serolojik testlerle saptanması esasına dayanmaktadır (4, 5). *Chlamydia* enfeksiyonu sırasında insanda IgM, IgG ve IgA yanıtı oluşmaktadır. Bu antikorlar elementer cisim veya inklüzyon cisimcikleri kullanılarak hazırlanmış olan ELISA veya floresan antikor testi ile saptanabilmektedir. Gruba spesifik lipopolisakkaritlere karşı gelişen antikorlar kompleman fiksasyon testi, immunoblot yöntemi veya ELISA ile gösterilebilmektedir (6, 7).

Bu çalışmada, çocukluk yaş grubundaki astım ataklarında *C. pneumoniae*'nin rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya 1 Ocak-30 Temmuz 1998 tarihleri arasında SSK Okmeydanı Hastanesi Çocuk Acil Bölümü'ne başvuran ve astım atağı tanısı konulan hastalar alınmıştır. Yaşları 5-15 yaş arasında değişen 50 hasta ve aynı yaş grubunda olan herhangi bir şikayeti olmayan sağlıklı 30 çocuk *C. pneumoniae* enfeksiyonu yönünden ailelerinin izni alınarak araştırılmıştır. Önceden astma tanısı konulmuş hastaların hepsinde astım ataklarının semptomları olan dispne, öksürük ve wheezing vardı.

Tüm çocuklardan steril koşullarda 5 ml venöz kan alınmış, kanlar 10 dakika 3000 devirde santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Buzdolabında 1-4 saat bekletildikten sonra çalışma gününe kadar -20° C'de saklanmıştır.

Bu çalışmada *C. pneumoniae* antijenlerine karşı oluşan spesifik immun yanıtın saptanması amacıyla enzim immunoassay (EIA) ve gold standart olarak bilinen mikroiimmun floresans test (MIF) yöntemleri kullanılmıştır (8). *C. pneumoniae* enfeksiyonu tanısı için ilk olarak ELISA ile türe spesifik IgM ve IgG antikorları saptanmıştır. Daha sonra tüm serumlar MIF testi ile taranmıştır. ELISA yöntemi ile *C. pneumoniae* antikorlarının saptanması için SEROELISA CHLAMYDIA IgM ve IgG (Savyon Diagnostics, İsrail) kiti, MIF testi için Orgenium *Chlamydia pneumoniae* IgM ve IgG mikroiimmunofluoresans kiti (Helsinki, Finlandiya) kullanılmıştır. Tüm işlemler üretici firma önerileri doğrultusunda yapılmıştır.

İstatistiksel analiz için Fisher's ki-c² testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Otuzaltısı kız, 44'ü erkek toplam 80 çocuk çalışmaya alınmıştır. Serumlarında *C. pneumoniae* antikorları saptanan

olguların yedisi kız (beş hasta, iki kontrol), üçü erkekti (iki hasta, bir kontrol). Elli olgunun dokuzunda ELISA ile IgM pozitifliği bulunmuştur. Bu dokuz olgunun yedisinde MIF ile *C. pneumoniae* IgM pozitif olarak belirlenmiştir. Bunların dördünde antikor titresi 1/32, ikisinde 1/64, birinde 1/128 olarak saptanmıştır. Elli olgunun altısında ELISA ile IgG pozitifliği saptanmıştır. Bu pozitif altı olgunun ikisinde MIF ile IgG pozitifliği belirlenmiş ve titreleri 1/32 ve 1/128 olarak bulunmuştur (Tablo 1 ve 2). Kontrol grubunda ELISA ile IgM pozitifliği üç olguda saptanmış olup bu olgular MIF yöntemi ile de pozitif olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda iki olguda hem ELISA hem de MIF ile IgG pozitifliği saptanmıştır.

Tablo 1. *Chlamydia pneumoniae*'ye karşı oluşmuş antiko pozitifliğinin çalışma gruplarına ve yöntemlere göre dağılımı

Astma atak grubu	ELISA	MIF
<i>C. pneumoniae</i> IgM	9	7
<i>C. pneumoniae</i> IgG	6	2
Kontrol grubu		
<i>C. pneumoniae</i> IgM	2	3
<i>C. pneumoniae</i> IgG	2	2

ELISA: Enzim-immuno-assay

MIF: Mikroiimmun floresans testi

Tablo 2. ELISA ve MIF yöntemine göre pozitif test titrelerinin karşılaştırılması

Hasta No	ELISA		MIF	
	IgM	IgG	IgM	IgG
10	+	-	1/32	-
13	+	-	1/32	-
18	+	-	1/64	-
19	+	-	-	-
24	-	+	-	1/32
25	-	+	-	-
30	-	+	-	-
31	-	+	-	-
32	+	-	1/32	-
36	+	-	1/32	-
39	+	-	1/128	-
42	+	-	-	-
43	+	-	1/64	-
47	-	+	-	1/128
49	-	+	-	-
K3	+	-	1/32	-
K10	-	-	1/32	-
K13	-	+	-	1/32
K17	-	+	-	1/32
K30	+	-	1/512	-

K: Kontrol grubu

ELISA: Enzim-immuno-assay

MIF: Mikroiimmun floresans testi

Astım atağı geçiren hasta grubu ile kontrol grubu MIF yöntemine göre karşılaştırıldığında, hasta grubunun %14'ü (yedi olgu), kontrol grubunun %10'unun (üç olgu) akut *C. pneumoniae* infeksiyonu (antikor titrelerine göre IgM $\geq 1/32$, IgG $\geq 1/512$) ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

TARTIŞMA

Bronşiyal astım atakları; allerjenler, iritan maddeler, atmosferik değişiklikler, infeksiyonlar, duygusal faktörler ve egzersiz ile ortaya çıkabilir (9, 10). İnfeksiyon etkenleri ile yaş arasındaki ilişkiye bakıldığında; küçük çocuklarda daha çok Solunum Sinsityal Virus (RSV) gibi viruslar etken olarak görülürken, okul çağındaki çocuklarda virusların yanı sıra bakteriler de (*C. pneumoniae*, *M. pneumoniae*) astım ataklarında tetikleyici olarak bildirilmiştir (11-13).

Chlamydia pneumoniae infeksiyonunun tanısında ya direkt olarak organizmanın izolasyonu (hücre kültürü ya da polimeraz zincir reaksiyonu) ya da serolojik yöntemler (ELISA, MIF, KB) önerilmektedir. Gold standart olan hücre kültüründe üremenin uzun sürmesi ve güç olması nedeniyle bu çalışmada tanı için serolojik testler kullanılmıştır (14).

Chlamydia pneumoniae'ya karşı antikorlar okul çağında ortaya çıkmaya başlar ve orta yaşa kadar artış gösterir. İleri yaşlarda bu oranlar artmaya devam eder (5,14-16). *Chlamydia pneumoniae* infeksiyonlarının bronşiyal astım etyolojisindeki rolünü araştırmak için bu çalışmada infeksiyonun en sık görüldüğü 5-15 yaş grubundaki astımlı çocuklar ve sağlıklı kontrol grubu incelenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Gendrei D. Intracellular pathogens and asthma: *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in pediatric patients. *Eur Resp Rev* **1996**; 6: 231-4.
2. Hahn DL. *C. pneumoniae* infection and asthma. *Lancet* **1992**; 339: 1173-4.
3. Grayston JT, Aldous M, Easton A, et al. Evidence that *C. pneumoniae* causes pneumoniae and bronchitis. *J Infect Dis* **1993**; 168: 1231-5.
4. Grayston JT, Wang SP, Kuo CC, Campbell LA. Current knowledge on *C. pneumoniae*, strain TWAR, an important cause of pneumoniae and other acute respiratory diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1989**; 8: 191-202.
5. Grayston JT. Infections caused by *C. pneumoniae*, strain TWAR. *Clin Infect Dis* **1992**; 15: 757-63.
6. Kuo CC, Jackson LA, Grayston JT. *C. pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev* **1995**; 8: 451-61.
7. Ladany S, Black CM, Farshy CE, Osseward JM, Barnes RC. Enzyme immunoassay to determine exposure to *C. pneumoniae* (strain TWAR). *J Clin Microbiol* **1989**; 27: 2778-83.
8. Szulakowski P, Pierchala W, Friedek D, Ekiel A, Romanik M. Analysis of occurrence of *Chlamydia pneumoniae* infection serologica markers in patients with bronchial asthma [Abstract]. *Wiad Lek* **2001**; 54: 399-408.
9. Von Hertzen L, Töyrylä M, Gimishanov A, et al. Asthma, atopy and *C. pneumoniae* antibodies in adults. In: *Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research (September 11-14, 1996; Vienna, Austria)*. **1996**: 171-4.
10. Gergen PJ, Weiss KB. Changing patterns of asthma hospitalization among children: 1979 to 1987. *JAMA* **1990**; 264:1688-92.
11. Busse W. The relationship between viral infections and onset of allergic disease and asthma. *Clin Exp Allergy* **1989**; 19: 1-9.
12. Blasi F. Diagnosis of asthma: Laboratory procedures for identifying respiratory pathogens. *Eur Resp Rev* **1996**; 6: 235-9.
13. Esposito S, Principi N. Asthma in children: are chlamydia or mycoplasma involved. *Pediatr Drugs* **2001**; 3: 159-68.
14. Serter D. *Virus, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları*. 3. baskı. İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri, **1997**: 94-115.

Weiss ve ark. (17)'nin yaptıkları retrospektif bir çalışmada, *C. pneumoniae* infeksiyonu tanısı ile hastaneye yatırılan çocukların %33'ünde bronşiyal astım geliştiği belirtilmiştir.

Bu çalışmada astma kliniğine sahip çocuklarda IgM antikorları ELISA yöntemi ile dokuz olguda (%18), MIF yöntemi ile yedi olguda (%14) pozitif olarak bulunmuştur. Emre ve ark. (18)'nin yaptıkları bir çalışmada, benzer şekilde reaktif havayolları hastalığı olan wheezingli çocukların %11'inde *C. pneumoniae* infeksiyonu saptanmıştır. Başka bir çalışmada (19); bu sonuçların tersine, solunum yolu semptomları bulunan 15 çocuğun sekizinde (%53.33) *C. pneumoniae* IgG antikorları MIF yöntemi ile pozitif bulunmuştur. Bu oran aynı test yönteminin kullanıldığı bu çalışmada % 4 olarak belirlenmiştir.

Sağlıklı kontrollerde iki olguda (%6.66) IgG pozitifliği saptanmış olup Türkiye'den *C. pneumoniae* IgG pozitifliğinin araştırıldığı bir başka çalışmada (20) %18.7 olarak bulunmuştur. Sonuçlardaki bu farklılık çalışmanın yapıldığı toplumlara, yaş gruplarına ya da mevsimlere göre değişikliklerle açıklanmaktadır (14, 21).

Chlamydia pneumoniae infeksiyonunun orta ve şiddetli astma ataklarıyla daha sık birlikte olduğu rapor edilmektedir (22). Bu çalışmada hastalar kliniklerine göre gruplandırılmamıştır. Bazı çalışmalarda *C. pneumoniae* infeksiyonu astma ile bağlantılı bulunmasına (21, 23, 24) karşın bu çalışmada astma bronşiyale atağı geçiren hasta grubu ile sağlıklı çocuklar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

15. **Grayston JT.** *C. pneumoniae* (TWAR) infections in children. *J Pediatr Infect Dis* **1994**; 13: 675-85.
16. **Nohynek H, Eskola J, Kleenda M, Jaloren MSC, Saikku P, Leinonen M.** Bacterial antibody assays in the diagnosis of acute lower respiratory tract infection in children. *J Pediatr Infect Dis* **1995**; 14: 478-84.
17. **Weiss SG, Newcomb RW, Beem MO.** Pulmonary assessment of children after *C. pneumoniae* of infancy. *J Pediatr* **1986**; 108: 659-64.
18. **Emre Ü, Roblin PM, Gelling M, et al.** The association of *C. pneumoniae* infection and reactive airway disease in children. *Arch Pediatr Adolesc Med* **1994**; 148: 727-32.
19. **Ağaçfıdan A.** Chlamydial infections in Turkey. 2. *Ulusal Klamidya Enfeksiyonları Sempozyumu, İzmir* kitabında. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, **1997**: 51-4.
20. **Serter D, Dereli D.** *C. psittaci-C. pneumoniae* enfeksiyonları ve bunların ülkemizdeki güncel durumları. Anđ Ö, Ağaçfıdan A, ed. 1. *Ulusa Chlamydia İnfeksiyonları Sempozyumu Bildirileri*'nde. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, **1995**: 38-50.
21. **Niedzwiedek J, Mazur E, Chmielewska-Badora J, et al.** Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection in patients with asthma [Abstract] *Pneumonol Alergol Pol* **2000**; 68: 255-60.
22. **Gencay M, Dereli D, Ertem E, et al.** Prevalence of *Chlamydia pneumoniae* specific antibodies in different clinical situations and healthy subjects in İzmir, Turkey. *Eur J Epidemiol* **1998**; 14: 505-9.
23. **Huittinen T, Hahn DL, Anttila T, Wahlstrom E, Saikku P, Leinonen M.** Host immune response to *Chlamydia pneumoniae* heat shock protein 60 is associated with asthma [Abstract]. *Eur Respir J* **2001**; 17: 1078-82.
24. **Hahn DL, Peeling RW, Dillon E, McDonald R, Saikku P.** Serologic markers for *Chlamydia pneumoniae* in asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* **2000**; 84: 227-33.