



**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇİĞ HASTALIKLARI A.B.D.**

**HELİKOBACTER PYLORİ 'DE FENOTİPİK VE GENOTİPİK**  
**YÖNTEMLERLE ANTİBİYOTİK DİRENAN BELİRLENMESİ VE**  
**GENOTİPLERLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Can CANGÜR**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof.Dr. Bülent KANTARÇEKEN**

**Kahramanmaraş 2014**



**T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
Ç HASTALIKLARI A.B.D.**

**HELİCOBACTER PYLORI 'DE FENOTİPİK VE GENOTİPİK  
YÖNTEMLERLE ANTİBİYOTİK DİRENÇİNİN BELİRLENMESİ VE  
GENOTİPLERLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Can CANGÜR  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof.Dr. Bülent KANTARÇEKEN**

**Kahramanmaraş 2014**

## TE EKKÜR

Uzmanlık e itimim boyunca; engin tecrübesi, sınırsız sevgi ve ho görüsüyle bende büyük eme i olan sayın hocam Prof. Dr. Bülent Kantarçeken'e,

Asistanlık süremi ba ından sonuna kadar büyük bir sabır ve anlayı la hep deste ini gördü üm Prof. Dr. Ali Çetinkaya'ya,

E itimimde katkıları olan Prof. Dr. Ekrem Do an, Doç. Dr. Kamile Gül, Yrd. Doç. Dr. Ozan Balakan ve Yrd. Doç. Dr. Gözde Yıldırım Çetin'e, yardıma ihtiyaç duydu um zamanlarda hep yanımda olan sevgili arkadaşlarım Dr. Naci Aydın, Dr. Ömer Faruk Akgül, Dr. Hanife Bolat, Dr. Hasan S. Sa lıker ve Dr. smail Korkut'a te ekkür ederim.

Bu ara tırmanın yapılmasında büyük eme i geçen Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ö retim üyelerinden Prof. Dr. Fatih Köksal ve Yrd. Doç. Dr. To rul Nagiyev'e,

Tez çalı mam süresince ve mide biyopsi örneklerinin alınması a amasında her türlü deste i sa layan Yrd. Doç. Dr. Kadir Gi i'ye, Gastroenteroloji poliklini i ve endoskopi ünitesi çalı anlarına te ekkür ederim.

Bu dönem boyunca aynı ortamı payla tı ım tüm asistan arkadaşlarıma, klini imiz hem ire ve personeline te ekkür ederim.

Sadece bu dönemde de il tüm hayatım boyunca sevgi ve desteklerini esirgemeyen aileme, sevgisini ve deste ini hep yanımda buldu um e im Gülhan Cangür'e sevgi, saygı ve te ekkürlerimi sunarım.

**Dr. Can CANGÜR**

## ÖZET

### HEL COBACTER PYLOR 'DE FENOT P K VE GENOT P K YÖNTEMLERLE ANT B YOT K D RENC N N BEL RLENMES VE GENOT PLERLE L K S

*H.pylori* Gram negatif, spiral ekinde, mikroaerofil bir bakteri olup dünya nüfusunun yarısından fazlasının midesinde kolonize olan bir patojendir. Gastrit, gastrik ülser, duodenal ülser, midede adenokarsinoma, mukoza ile ili kili lenfoid doku lenfoması (MALT lenfoma) gibi gastritle ili kili hastalıkların en önemli nedenidir.

*H.pylori* ile ili kili dispeptik yakınması olan hastaların tedavisinde etkili antibiyotik kombinasyonları ve asit sekresyonunun kontrolü ile yüksek oranlarda klinik ve bakteriyolojik başarı elde edilmiştir. Ancak, son yıllarda özellikle ilk seçenek antibiyotiklere karşı primer ve sekonder direnç oluşması nedeniyle tedavide başarının düştüğü görülmüştür. Bu nedenle tedavi protokollerinin oluşturulmasında direnç tayini önem kazanmıştır.

Gastrointestinal şikayetlerle KSÜ Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji kliniğine başvuran ve endoskopi endikasyonu alan 103 hastanın biyopsi örneklerinden izole edilen 58 suşa antibiyotik duyarlılık testi yapıldı. Amoksisilin ve tetrasiklin dirençleri e-test, klaritromisin ve levofloksasin direnci ise e-test ve moleküler yöntemlerle araştırıldı.

Hastalarının 64'ü (% 62.1) kadın, 39'u (% 37.9) erkek cinsiyette olup hastalarımızın % 73.8'inde (76 hasta) *H.pylori* pozitifliği saptanırken % 26.2'inde (27 hasta) *H.pylori* negatif idi.

103 hasta içinde 58 hastada kültür üremesi gerçekleşti. Bu 58 hastanın amoksisilin, klaritromisin, tetrasiklin ve levofloksasin için e-test ile saptanmış olan direnç oranları sırasıyla % 1.7, %10.3, %0 ve %6.9 olarak saptandı.

Amoksisilin, klaritromisin, tetrasiklin ve levofloksasin dirençleri ile hastaların cinsiyet ve endoskopik bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

## ABSTRACT

### DETECTION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE WITH PHENOTYPIC AND GENOTYPIC METHODS IN HELICOBACTER PYLORI AND ITS ASSOCIATION WITH GENOTYPES

*H.pylori* is a Gram-negative, spiral shaped microaerophile pathogen which is colonized in more than half of the world population's stomach. It is a major cause of gastritis associated disease like gastritis, gastric ulcer, duodenal ulcer, gastric adenocarcinoma, mucosa associated lymphoid tissue lymphoma (MALT lymphoma).

Using combination of effective antibiotics and controlling acid secretion in the treatment of patients with *H. pylori*-related dyspepsia were highly successful clinically and bacteriologically. However in recent years, especially due to the primary and secondary resistance against first choice antibiotics successful treatment rates were fallen. Therefore, the determination of treatment protocols has become important in the development of resistance.

Antibiotic susceptibility testing was performed for 58 strains which were isolated from 103 biopsy samples with gastrointestinal complaints and endoscopy indication referred to KSU Faculty of Medicine Hospital, gastroenterology clinic.

Amoxicillin and tetracycline resistance were determined by e-test, clarithromycin and levofloxacin resistance was determined by the E-test and molecular methods.

64 (62.1%) of patients were female, 39 (37.9%) were male and 73.8% of patients (76 patients) were found *H.pylori* positive, 26.2% (27 patients) were found *H.pylori* negative.

Cultures were grown from biopsy samples taken from 58 (out of 103) patients. Amoxicillin, clarithromycin, tetracycline and levofloxacin resistances, determined with the e-test method, were found to be 1.7%, 10.3% , 0% and 6.9% respectively.

There were no statistically significant relationships between patient gender, age, endoscopic findings and Amoxicillin, clarithromycin, tetracycline and levofloxacin resistance.

## Ç NDEK LER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ.....	iii
ÖZET.....	iv
NG L ZCE ÖZET.....	v
Ç NDEK LER.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
1. G R VE AMAÇ.....	1
2. GENEL B LG LER.....	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Epidemiyoloji.....	4
2.2.1. Prevalans.....	5
2.2.2. nfeksiyonun Bula ması.....	6
2.3. Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri.....	7
2.4. Üreme ve Kültür Özellikleri.....	8
2.5. Biyokimyasal Özellikleri.....	9
2.6. Patogenez.....	9
2.6.1. Bakteriye Ait Virulans Faktörleri.....	10
2.6.1.2. Adezyon.....	11
2.6.1.3. Konak Savunmasından Korunma Faktörleri.....	12
2.6.1.4. Doku Hasarı Olu turan Virulans Faktörleri.....	12
2.7. <i>H.pylori</i> li kili Hastalıklar.....	18
2.7.1. Gastrointestinal Sistem ile li kili Hastalıklar.....	18
2.7.2. Gastrointestinal Sistem Dı ı Hastalıklar.....	24
2.8. <i>H.pylori</i> nfeksiyonlarında Tanı.....	25
2.8.1. Invaziv yöntemler.....	26
2.8.2. Non-Invaziv Tanı Testleri.....	30
2.9. <i>H.pylori</i> 'nin Tedavisi.....	32
2.9.1. <i>H.pylori</i> Tedavisinde Kullanılan Ajanlar.....	34
2.9.2. Tedavinin Düzenlenmesi.....	37
2.10. Antimikrobiyal Direnç.....	42
3. MATERYAL VE METOD.....	45
3.1. Hastalar.....	45
3.2. Endoskopi lemi, Biyopsi Örneklerinin Alınması ve Ta ınması.....	45
3.3. Biyopsi Örneklerinin Mikrobiyolojik Açıdan ncelenmesi.....	46
3.3.1.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	47
3.3.2. Genotipik nceleme.....	48
3.4. Doku Örneklerinin Mikroskopik ncelenmesi.....	57
3.5. statiksel Analiz.....	57
4. BULGULAR.....	58
5. TARTI MA ve SONUÇLAR.....	69
6. KAYNAKLAR.....	79
7. TABLOLAR D Z N.....	97
8. ÖZGEÇM.....	98

## S İMGELER VE KISALTMALAR

A	Adenin
Bab	Blood Group Antigen Binding Adhesin
C	Sitozin
Cag	Cytotoxin Associated Gene
<i>cagPAI</i>	<i>cag</i> Patojenite Adası
CLO	<i>Campylobacter</i> -Like Microorganism
COX	Cyclooxygenase - Siklooksijenaz
DÜ	Duodenal Ülser
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ERK	Extracellular Signal-Related Kinase
FAK	Fokal Adezyon Kinaz
G	Guanin
GGT	Gamma-Glutamyl Transpeptidase
GlmM	Phosphoglucosamine Mutase
GRO-	Büyüme (Growth) Faktörü alfa
HPSA	<i>H.pylori</i> D1 k1 (Stool) Antijeni
<i>H.pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
Hsp	Heat Shock Proteins - Isı şok Proteinleri
HÜT	Hızlı Üreaz Testleri
ARC	International Agency for Research on Cancer Working Group
Ice	Inducible by Contact with Epithelium
IFAT	İmmün Floresan Antikor Testi
IFN	İnterferon
Ig	İmmunoglobulin
IL	İnterlökin
IP	İmmün Peroksidaz
LPS	Lipopolisakkarid
M	Molar
MALT	Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
MAPK	Mutasyonla Aktive Edilen Protein Kinaz
MMP	Matriks Metalloproteaz
NAAT	Nükleik Asit Amplifikasyon Teknikleri
NF- B	Nükleer Faktör kappa-B
NHL	Non-Hodgkin Lenfoma
NIH	National Institute of Health
NK	Natural Killer - Doğal katil
Nod	Nucleotide-binding Oligomerization Domain
NOS	Nitrik Oksid Radikalleri
NPV	Negatif Prediktif Değer (Value)
NÜD	Non-Ülser Dispepsi
Oip	Outer Inflammatory Protein
OMP	Outer Membrane Protein – D1 Zar Proteini
ORF	Open Reading Frame
PAI	Pathogenicity Islands - Patojenite Adaları
PAK	p21-Aktive Edilmiş Kinaz

PCR	Polymerase Chain Reaction
PPI	Proton Pompa inhibitörü
PPK	Polifosfat Kinaz
PPV	Pozitif Prediktif De er (Value)
PUD	Peptik Ülser Hastalığı
Ras	Rasemaz
R/M	Restriksiyon / Metilasyon
rRNA	Ribozomal RNA
RT-PCR	Reverse Transcriptase - PCR
SOD	Süperoksit Dismutaz
SSA	Türe (Species) Spesifik Antijen
T	Timin
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
Ure	Ureaz
ÜST	Üre Soluk Testleri
Vac	Vacuolating Cytotoxin
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme (Growth) Faktörü
WB	Western Blot
WHO	World Health Organisation – Dünya Sağlık Örgütü



## 1. G R VE AMAÇ

*Helicobacter pylori* (*H.pylori*) konak ve doku tropizmi gösteren, insanlarda gastrik mukozada antrum ve korpusta kolonize olan, asemptomatik taşıyıcılıktan nonülser dispepsiye, kronik gastritten gastrik MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lenfoma ve gastrik kanserlere kadar geniş bir spektrumda hastalık oluşturan önemli bir enfeksiyon ajanıdır. Bütün dünyada insanların en az % 50'sinin midesinde kolonize olan *H.pylori*'nin prevalansı az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde % 60-85 arasında değişmektedir. Ancak gelişmiş ülkelerde kişisel hijyene verilen önem ve yapılan başarılı eradikasyon çalışmaları ile prevalans % 10-30'lara kadar geriletilmiştir. Benzer şekilde insidans oranı da gelişmekte olan ülkelere yılda % 3-10 gibi yüksek oranlarda iken, gelişmiş ülkelerde bu oran % 0.5'lere kadar düşmüştür (1-3). Epidemiyolojik çalışmalar asemptomatik kolonize kişilerin en az % 20'sinde, kolonizasyonu takip eden 10 yıl içerisinde tedaviyi gerektirecek klinik bulguların ortaya çıkabileceğini, bunların da % 2-8'inde gastrik kanserin gelişebileceğini göstermektedir (4-5). Bu oranlar, *H.pylori* enfeksiyonları ve komplikasyonlarının öncelikli olarak gelişmekte olan ülkelerin sorunu olduğu gerçeğini ortaya koymaktadır.

*H.pylori* enfeksiyonunun eradikasyon endikasyonları ve bunun nasıl yapılacağı ilk kez 1997 yılında Avrupa *H.pylori* Çalışma Grubu (EHPSG) tarafından, sonuncusu 2005'te yapılan uzlaşı toplantıları ile Maastricht III - 2005 Konsensus Raporu adıyla yayınlanmıştır (6).

*H.pylori* enfeksiyonunun tedavisindeki amaç, mikroorganizmayı tamamen elimine etmektir. Tedavide antibiyotikler ile proton pompa inhibitörü (PPI) kombinasyonu önerilmekte ve genellikle herhangi bir duyarlılık testi yapılmaksızın ampirik olarak başlanmaktadır. *H.pylori* in-vitro olarak birçok antibiyotik'e duyarlı olmasına rağmen aslında bunların bir kısmı in-vivo olarak *H.pylori* tedavisinde kullanılabilir. *H.pylori* eradikasyonu için farklı tedavi rejimleri incelenmiştir. Konsensus grubu 3'lü tedavinin en uygun seçim olabileceğini düşünmektedir. Üçlü tedavi ilk basamak antibiyotik olarak amoksisilin ve klaritromisin ile kombine PPI'ndan oluşmaktadır. Ancak bu rejim kullanıldığında olguların % 15-40'ında tedavi başarısızlığı rapor edilmiştir (7-8). Persistan enfeksiyonlu hastalarda amoksisilin ya da klaritromisin yerine

metronidazol, tetrasiklin veya levofloksasin kullanılması ve bu tedaviye bizmut kaynaklı bir ürün eklenmesi tercih edilmektedir (9).

Son yıllarda primer ve/veya sekonder direnç gelişimi karşısında 4'lü kısa süreli tedavi rejimleri önerilmeye başlanmıştır (PPI + bizmut + iki antibiyotik) (10).

Antibiyotik duyarlılık testlerinin pahalı olması, her hastanede bulunmaması ve en önemlisi de sadece endoskopi sırasında alınan biyopsilerde uygulanabilmesi nedeniyle duyarlılık testlerinin kullanımı çok kısıtlıdır (11). *H.pylori* izolatlarında antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi için Agar Dilüsyon (AD), Disk Difüzyon (DD), psilometrik test (E-testi), Polymerase Chain Reaction (PCR), PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) yöntemleri kullanılmaktadır (12-13).

Pek çok Avrupa ülkesinde klaritromisin direnci % 2–15 oranında bulunmuştur (14). Türkiye'de ise klaritromisin direnci % 27'nin üzerindedir (15). Dünya çapında amoksisilin (<%1) ve tetrasikline (<%0,5-9) dirençli *H.pylori* suşları ile pek karşılaşmamaktadır (14).

*H.pylori*'nin eradike edilmesi ile peptik ülserli ve gastritli hastalarda tedavi başarısının artması ve mide kanserinin risk faktörünün ortadan kaldırılması nedeniyle *H. pylori* eradikasyonunun önemi gün geçtikçe artmaktadır.

*H.pylori* infeksiyonlarının prognozunu konak ve çevreye ait faktörlerin yanı sıra, bakteriye ait virulans faktörleri de etkilemektedir (16-20). Bu virulans faktörleri arasında yer alan CagA (cytotoxin associated gene), VacA (vacuolating cytotoxin), IceA (inducible by contact with epithelium), BabA ve BabB (blood group antigen binding adhesin) gibi toksik ve adeziv proteinleri kodlayan genlerle ilgili yoğun çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda, duodenal ülser, gastrik atrofi ve mide kanseri gibi ciddi patolojilerle ilişkilendirilen *H.pylori* izolatlarının Doğu Asya ve Batı kökenli suşlarda genotiplerinin farklı olduğu gösterilmiştir (21-26).

Bu çalışmaların amacı dispeptik hastalardan aldığımız mide biyopsi örneklerinde *H.pylori* prevalansını belirleyip, vacA ve cagA gibi allellerinin sıklığını ve bunların antibiyotik direnci ile olan ilişkisini ortaya koyup klinik pratiğe ve literature katkı sağlamaktır.

## 2. GENEL B LG LER

### 2.1. Tarihçe

*H.pylori*'nin sebep oldu u gastrointestinal hastalıklara tıbbın ilgisi yazılı tıbbın ilk günlerine kadar uzanmaktadır. Hipokrat'ın "epigastrik yanma ve i lik" olarak tanımladı ı gastrointestinal hastalıkların etyolojisini, bn-i Sina (980-1037) "yemek ile gastrik a rı" arasındaki ili kide aramı tır. M. Donati (1586) ülserli hastalarda mide asidine dikkat çekmi , 1688 yılında sveçli M. Johannes otopsiyle ilk duedonal ülseri rapor etmi tir. Alman bakteriyolog G. Bottcher ve arkada ı Fransız M. Letulla gastrik ülserli alanlarda bakteriyi ke fetmi , kültür ortamında üretemedikleri bu bakterilerin ülsere neden oldu unu ileri sürmü lerdir (1875) (27). Dr Jarowski W. (1889) insandan aldı ı mide yıkama suyu sedimentlerini incelemi , sıvı içerisinde çomak eklindeki bakterilerin yanı sıra, spiral ekilli basillerin varlı nı göstererek, bunlara "*Vibrio regula*" adını vermi tir. Bu ara tırcı tarihe "spiral bakteriler gastrit etkenidir" iddiasını ilk ileri süren ara tırmacı olarak geçmi tir (13). talyan ara tırmacı G. Bizzozero 1892'de köpek midesinde spiral eklindeki bakterileri ve artımı üreaz aktivitesini göstererek, gastrit ve ülserin hem etyoloji hem de patofizyolojisi hakkında oldukça faydalı bilgiler sunmu tur. Benzer mikroorganizmalar 1906'da insanların mide kanseri biyopsi örneklerinde gösterilmi tir. 1938'de 242 otopsi vakasının %43'ünün midesinde hematoksilen-eozin boyasıyla spiral eklinde bakterilerin varlı nı gösterilmi tir (2-3).

1940'da A.S. Freedberg ve L. Baron tarafından ülser ya da karsinomalı hastaların gastrik rezeksiyon örneklerinin % 37'sinde spiroketler tespit edilmi tir (28). H.W. Steer ve J. Colin (1975) midedeki ülseratif lezyonların % 80'inde spiral eklindeki bakterileri göstermi ler, fakat midenin yüksek asiditesi nedeni ile bakteriyi izole edip tanımlayamamı lardır. Sonunda R. Warren 1979'da *H.pylori* ile gastroduodenal hastalıklar arasındaki ili kiyi ke fetmi , spiral bakterileri mide mukus tabakası altında saptamı tır.

Mikroorganizma in-vitro artlarda ilk defa B.J. Marshall tarafından 1982 yılında üretilmi tir (2). B. Marshall ve R. Warren yakla ık dört yıl süren çalı malarını Lancet dergisinde yayınlanan makaleleri ile Tıp Dünyasına duyurmu lardır (28). Morfolojik özellikleri ile kampilobakterlere benzettikleri için *Campylobacter-like microorganism*

(CLO) olarak adlandırılmış, daha sonra S.C. Goodwin tarafından 1989'da yapılan çalışmada 16S rRNA yapısı, ya asitleri kompozisyonu, DNA zincir yapısı ve enzimlerindeki farklılıklardan dolayı *Campylobacter* genusuna ait olmadığını gösterilerek yeni bir genus ismi önerilmiştir. *n-vivo* artlardaki helikal görüntüsü ve sıklıkla midenin pilor bölgesinden izole edilmelerinden dolayı bu bakteriye *H.pylori* adını vermişlerdir (28).

*H.pylori* infeksiyonlarının öneminin anlaşılması üzerine, ilk olarak "Avrupa *Helicobacter pylori* Çalışma Grubu" oluşturulmuştur (1987). Bakterinin gastrik kanser ile ilişkisinin dört çalışma ile ispatlanmasından (1991) sonra da, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO - World Health Organisation) bir kolu olan Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC - International Agency for Research on Cancer Working Group) mevcut verileri yeniden gözden geçirerek *H.pylori*'yi insanlarda birinci sınıf karsinojen olarak ilan etmiştir (1994). Yine aynı yılda NIH (National Institute of Health) onsensusunda *H.pylori*'nin peptik ülser hastalığının en önemli nedeni olduğu ve ülserli hastaların bu mikroorganizmanın eradikasyonu için tedavi olmaları gerektiği kabul edilmiştir. *H.pylori* infeksiyonunun gastrik Non-Hodgkin Lenfoma (NHL), diğer lenfoproliferatif hastalıklar ve MALT lenfoma gelişmesiyle de ilişkisi bulunmuştur (1, 29-33).

Virülansın tespitine yönelik çalışmalarla *vacA* ve *cagA* toksinlerinin keşfedilmesi, türler arasında virülans farklılıklarının anlaşılmasını sağlamıştır (16,34).

Marshall B.J. ve Warren R.'ye *H.pylori* ile ilgili çalışmaları sebebiyle 2005 yılında "Fizyoloji ve Tıp bilimleri" alanında Nobel ödülü verilmiştir (35,36).

## 2.2. Epidemiyoloji

*H.pylori* ve diğer gastrointestinal ve enterohepatik helikobakterlerin ilk mikroorganizmalar kadar eski ve insanın evrimsel olarak ayrımına uğradığı yıllardan çok daha önce (yaklaşık 100 Milyon yıl) ilk primatlarda ve büyük memelilerde mide mukozasında yerleşen ve florayı oluşturan temel bakterilerden olduğu tahmin edilmektedir. Modern dünya ile temasları olmayan Güney Amerika yerlilerinde yapılan

mide biyopsi çalı malarında, Asya kökenli genotipe uygun *H.pylori* su larının gösterilmesi, bu bakterinin mide mukozasındaki kolonizasyonunun, Bering bo azından ilk göçlerin tahmini geçmi i ile ili kili olmak üzere, bilimsel anlamda, en azından 11–13.000 yıllık bir geçmi e dayandı mı göstermi tir. *H.pylori*, muhtemelen insanların Afrika boynuzundan Asya'ya oradan da dünyaya da ıldı ı ilk göçten beri, mide mukozasında yerle ik olarak bulundu u dü ünülmektedir (37).

### **2.2.1. Prevalans**

*H.pylori* halen tüm dünyada, insanların ortalama %50'sinin midesinde kolonizasyon göstermektedir. *H.pylori*'nin mide mukozasındaki prevalansı ve insidansı geli mi lik oranlarına ve ya a göre ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Geli mekte olan ve az geli mi ülkelerde % 60–85 arasında de i en prevalans, geli mi ülkelerde ki isel hijyene verilen önem ve yapılan ba arılı eradikasyon çalı maları ile % 10-30'lara kadar geriletilmi tir. Bu oran; Asya'da % 70-80, Afrika'da % 70-90, Kuzey Amerika'da % 30-40, Güney Amerika'da % 80-90, Batı Avrupa'da % 30-50 ve Do u Avrupa'da % 70 olarak bildirilmi tir (11,38-39).

Ülkemizde asemptomatik ve semptomatik gruplardaki *H.pylori* prevalansının % 45 ile % 100 arasında de i ti i, ortalama olarak da yakla ık % 85 oldu u bilinmektedir (19,40-44).

*H.pylori*'nin ya gruplarına göre da ılımı geli mekte olan ülkeler ile geli mi batı ülkeleri arasında farklılıklar göstermektedir. Geli mekte olan ülkelerde infeksiyon çocukluk ça ında hızla kazanılmakta ve adölesan ça a gelmeden toplumun büyük bir kısmı infekte olmaktadır (45-46). Batı ülkelerinde ise eri kinlerin %30-50'si infekte durumdayken, çocuklarda bu oran %0-5 civarındadır (47). Ülkemiz gibi geli mekte olan ülkelerde sosyoekonomik ko ulların yetersizli i nedeniyle 5-10 ya arasında prevalans %60-70, yeti kinlerde ise %85-90'dır (48).

*H.pylori* prevalansını etkileyen ba lıca nedenleri belirlemek amaçlı yapılmı birçok çalı ma mevcuttur. Bu çalı maların sonuçlarına göre; ya , cinsiyet, sigara kullanımı, alkol alı kanlı ı, e itim durumu, dü ük sosyoekonomik artlar, göç hikayesi olması, ailedeki birey sayısı, aile üyelerinin infekte olması, ki inin yata mı aile

üyelerinden biri/birileri ile paylaşıyor olması, kirli su tüketimi, ortak bardak-kaşık-çatal ve benzeri aletlerin kullanılması gibi nedenler hastalığın yaygınlığını, reinfeksiyon sıklığını arttırmaktadır (49-52).

Ülkemizde *H.pylori* prevalansı ile ilgili yapılmış birçok çalışmada mevcuttur. 1992 yılında yapılmış bir çalışmada 18-24 yaş arası asemptomatik bireylerde *H.pylori* sıklığı %76.8 bulunurken (53), 2003 yılında yapılan başka bir çalışmada 20-29 yaş grubunda *H.pylori* sıklığı %85.9 ve 60-69 yaş grubunda ise %88.6 bulunmuştur (54).

### **2.2.2. İnfeksiyonun bulaşması**

*H.pylori* infeksiyonlarında düşük sosyoekonomik şartlar, kalabalık aile ortamı, sanitasyon yetersizliği, anne-babanın bu bakteri ile infekte olması gibi ailesel faktörlerin etkili olduğu gösterilmiştir (46,55). *H.pylori*'nin insan ve yüksek primatlar dışında al kaynaklı veya taşıyıcısı bulunmamaktadır, fakat Ouagla ve ark. (arkadaları) çişütte %34.7 oranında *H.pylori* phosphoglucosamine mutase (glmM) geni bulunmuşlar ve Ghil ve ark. kedilerin dışkı ve salyalarında *Helicobacter spp.* izole etmişlerdir (51).

*H.pylori* infeksiyonu sıklıkla çocukluk döneminde kazanılır. Çocuklar, yeti kinler arasında infeksiyon için bir vektör olarak da rol oynamaktadır. Çocuklar arasındaki infeksiyon sıklığı, özellikle diğer aile bireyleri infekteyse daha yüksektir. İnfekte annelerin çocuklarında, infekte olmayanlara göre daha sık *H.pylori* infeksiyonu görülmüştür (50,56-58). Abasıyanık ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada düşük sosyoekonomik koşullarda yaşayanlarda ve evli çiftlerde infeksiyon prevalansı daha yüksek oranda izlenmiştir, cinsiyet, eğitim seviyesi, sigara, NSAID (nonsteroidal anti-inflammatory drug) kullanımı ile hastalık prevalansında anlamlı farklılık izlenmemiştir (59).

İnsanlar arası bulaşmada fekal-oral ve oral-oral yollar önemlidir. Hijyenik koşulların kötü olduğu ortamlarda, bakım evlerinde, kalabalık yaşam koşullarında prevalansın yüksek olması fekal-oral yolla bulaşmasını düşündürmektedir. Fekal-oral geçişte gaita ile kontamine suların ve sebze, meyvelerin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Dental plaklardan, tükürükten PCR (Polymerase Chain Reaction) ile *H.pylori*'nin izole edilmesi oral-oral bulaşma desteklemektedir. *H.pylori*'nin cinsel yol ile geçtiğini gösteren hiçbir epidemiyolojik veri yoktur (39,48,50,55).

## 2.3 Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri

*H.pylori*; virgül, “S” veya spiral ekinde görülebilen, 2.5-5.0 µm uzunluğunda, 0.5x1.0 µm genişliğinde, bir uçta sayıları 1-6 arasında değişen kılıflı 8 flagellaları ile son derece hareketli, sporsuz, kapsülsüz, mikroaerofilik ve 37°C’de üreyen gram negatif çomaktır. *H.pylori* genomu, 1.67 Mb uzunluğunda ve sirküler yapıdadır (1,60).

### 2.3.1. Görünüm ve boyanma

*H.pylori*, dokuda oksintik kanalların içerisinde, epitel hücre yüzeyinde ve lümeninde görülmektedir. Dokudan hazırlanan yaymalar ve besiyerindeki kolonilerden hazırlanan preparatlar gram boyası, Hematoksilin&Eozin, Giemza veya sulu fuksin ile boyanabilir. Ayrıca, mikroorganizmanın antibiyotikler, dezenfektanlar gibi kimyasal olumsuzluklar ve oksijen, ısı farkı gibi fiziksel olumsuzluklarla karşılaşması halinde tedavi başarısızlıklarından sonraki reaktivasyonlardan sorumlu olan, canlı ve metabolik yönden aktif oldukları halde kültür ortamlarında üretilmeyen, hücre duvarları defektli “dormant form” olarak adlandırılan kokoid formları da görülebilmektedir (61).

### 2.3.2. Hücre duvarı yapısı ve antijenik özellikleri

*H.pylori* hücre duvarı, gram negatif bakteri hücre duvarı özelliklerine sahiptir. Yapı en dışta lipopolisakkaridden (LPS) zengin, büyüklüğü 31–80 kDa arasında değişen dış membran, periplazmik alan ve 3 katmanlı iç membrandan oluşmaktadır.

Yüzey glikolipidlerinin çoğu kısmen fukozillenmiş, glikozillenmiş veya galaktozillenmiş N-acetyl lactosamine (LacNAc) O-polisakkarid yan zincirler halindedir ve insanlardaki normal hücre yüzey glikolipidler/konjugatları olan kan grubu antijenleri ABO ile homoloji gösteren Lewis ve Bab (Blood group antigen binding) antijenlerini oluştururlar. Lewis antijenleri iki tiptir, Tip I’de Lewis-a (Lea), Lewis-b (Leb) ve Tip II’de Lewis-x (Lex), Lewis-y (Ley) yer alır. Tip I gastrik epitel

yüzeyinde yer alırken, Tip II daha derindeki hücrelerde yer almaktadır. *H.pylori* ile infekte kişilerde %34 Lea, %73 Leb, %86 Lex ve %97 Ley antijenleri bulunmaktadır.

Bab-A, Bab-B ve Bab-C olmak üzere üç tip olan Bab ailesinden sadece Bab-A2 proteini, epiteldeki Lewis B kan grubu antijenlerine benzerdir. Bu antijenik benzerlik, bakteriyi konanın immün cevabına karşı korumakta veya otoimmün cevaba yol açarak patolojik olayları başlatmaktadır (62-64).

### **2.3.3. Genomik özellikler**

*H.pylori* 26695 ve J99 suşlarının tam genom dizisi analizi yapılmıştır. 26695 genomunda genomun % 91'ini oluşturan 1590 açık okuma bölgesi, J99 genomunda ise genomun % 90.8'ini oluşturan 1495 açık okuma bölgesi bulunmaktadır.

Genomda ortalama % 39 olan G+C oranı, bakterideki genetik esnekliği, yani çevre şartlarına uyum için gerekli mutasyon ve rekombinasyon yapabilme yeteneğini artırmaktadır. 26695 suşunda 5 bölgede, J99 suşunda ise 9 bölgede "Patojenite adaları" (PAI – Pathogenicity Islands) olarak adlandırılan, düşük G+C oranına (% 33-35) sahip yabancı gen dizileri gösterilmiştir. 26695 suşundaki 40 kb uzunluğundaki R2 bölgesi cagPAI (cag Patojenite Adası) bölgesi olup, virulans ile ilişkili Tip-IV sekresyon sistemi ve efektör protein CagA (Cytotoxin associated gene A) dahil 27 proteini kodlamaktadır (65).

### **2.4. Üreme ve Kültür Özellikleri**

*Helicobacterler* mikroaerofilik mikroorganizmalar olup, metabolizmaları için oksijene ihtiyaç duyarlar. Süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz, sitokrom oksidaz ve güçlü katalaz aktivitesine sahiplerdir. Bu sayede %5-10 CO<sub>2</sub> (karbondioksit) varlığında %5-20 O<sub>2</sub> (oksijen) içeren atmosferde üreyebilirler.

*H.pylori* midenin asidik ortamında üreyebilmesine rağmen asidofilik bir bakteridir ve in vivo, invitro şartlarda üremesinde pH'nın etkisi büyüktür. Optimal üreme



için pH 6.8-7.6 arasında olmasına karşın, pH 5-8 aralığında üremeye devam ederler (3,61).

Mezofilik bir bakteri olan *H.pylori* 30°C ve 37°C ısıda ve 3-7 günlük inkübasyon süresinde üremektedir. *H.pylori* küçük olan genomu ve regülatör genlerin azlığı nedeniyle optimize edilmiş besiyerlerinde son derece yavaş ve zor üreyen bir bakteridir.

*H.pylori*, % 7-10 oranında eskitilmiş at kanı, % 1 izovitaleks, % 0.25 maya ekstraktı içeren Brusella agar, Beyin Kalp enfüzyon agar ve Kolombiya agar, Skirrow agar gibi zenginleştirilmiş katı besiyerlerine % 5 O<sub>2</sub>, % 75 N<sub>2</sub> (nitrojen), % 10 H<sub>2</sub> (hidrojen) ve % 5-10 CO<sub>2</sub> içeren nemli atmosferde üretilmektedir. Besiyerlerine vankomisin, anfoterisin-B, trimetoprim, polimiksin-B, kanamisin, sefaperazon ve kolistin gibi antibiyotikler eklenerek izolasyon başarıları artırılmaktadır. *H.pylori* suşları inkübasyon süresi sonunda besiyerinin yüzeyinde 0.3-1mm çaplı gri, non-hemolitik koloniler şeklinde üremektedir (1,61).

## 2.5. Biyokimyasal Özellikleri

*H.pylori* laboratuvarında; oksidaz, katalaz ve güçlü üreaz aktivitesi, nitratı redükte edememesi, sülfürlü bileşikleri kullanarak H<sub>2</sub>S oluşturabilmesi, hippuratu hidrolize edememesi, nalidiksik aside dirençli, sefalotine duyarlı olması ile ayırt edilebilir. Bazı *H.pylori* suşlarının üreaz ve katalaz bakımından negatif olduğu bildirilmiştir. Bu suşların klinik izolat olmadığı bildirilmektedir (1,16,61).

## 2.6. Patogenez

*H.pylori*'nin neden olduğu gastroduodenal patolojide mikroorganizmaya ait çok sayıda virülans faktörünün yanı sıra, konak ve çevreye ait faktörlerin de birlikte etkili olduğu bilinmektedir. Bugüne kadar hiçbir virülans faktörü veya predispozan faktörün tek başına spesifik bir patoloji ile ilişkisi fizyopatolojik olarak açıklanamamıştır (17,18). Ancak mikroorganizmanın konağın immün cevabından kaçınılması ve kaçınılmaz etkili olan

faktörlerle konak mukozası arasındaki ilişki virulansa yönelik çalışmaların temelini oluşturmaktadır. Muhtemelen, konakta oluşan cevap, çoğu kez konakta minimal zarar verirken, bazı olgularda uzun süreçte dengeyi iyice konak aleyhine bozularak, çeşitli mide hastalıklarına neden olmaktadır (17-19,66,67).

### **2.6.1. Bakteriye ait virulans faktörleri**

*H.pylori*'nin neden olduğu gastroduodenal patolojide mikroorganizmaya ait çok sayıda virulans faktörünün yanı sıra konak ve çevreye ait faktörlerin de etkili olduğu bilinmektedir (66).

İnfeksiyonların patogenezinde; mide asit ortamına uyum sağlamasında rol alan üreaz aktivitesi, mukus tabakasını incelten musinaz, fosfolipaz A2, fosfolipaz C gibi proteazlar ve mukus içerisinde hareketi sağlayan flagellar yapı gibi kolonizasyon faktörleri, gastrik hücrelere bağlanmayı kolaylaştıran hücre duvarı protein yapıları ve LPS gibi adezyon faktörleri, sitokrom oksidaz sistemi enzimleri, demir bağlayan proteinler, konak hücre elemanları ile antijenik homoloji gösteren Hsp (Heat shock protein) ve Lewis antijenleri gibi konak savunmasından kaçınılan faktörleri ile gastrik mukozada hasara neden olan *cagA* ve *vacA* (Vacuolating toxin A) gibi efektör proteinleri içeren virulans faktörleri rol oynamaktadır (3,18,48,63,67).

#### **2.6.1.1. Kolonizasyon faktörleri**

Asidofilik bir bakteri olmamasına rağmen *H.pylori* midedeki asit sekresyonu, hareketlilik ve kalın musin tabakasının yarattığı olumsuz şartlara rağmen mukus içerisinde kolonize olmayı başarır. Midede kardial ve antral ile duodenumdaki gastrik hücre metaplazisi görülen alanlarında kolonize olan *H.pylori*, % 80-98 oranında lümen ve oksintik kanallarda mukus içerisinde, % 2-20 oranında ise gastrik hücrelerin üzerinde yerleşir. Mikroorganizma mide mukozasında epitel hücreler dışında nöroendokrin hücreler ve nötrofillere karşı da tropizm gösterir (66).

#### 2.6.1.1.1. Hareket

Midede lümen ve mukoza arasında viskoelastik bir mukus tabakası yer almaktadır. *H.pylori*'nin bu mukus tabakası içindeki hareketi, bir tarafında bulunan kılıflı flagellaları sayesinde son derece hızlı bir şekilde olmaktadır. Spiral yapı da hareketini son derece kolaylaştırmaktadır. Bu üstün hareket kabiliyeti sayesinde asidik bir ortam olan lümeden, nötr bir ortam olan mukus tabakasına hızlı bir şekilde ulaşmasını sağlar. *H.pylori*'nin hareketliliği en önemli virulans faktörü olarak kabul edilmektedir. Domuzlarda yapılan çalışmalarda en virulan suşların en hareketli suşları olduğu, flagellar mutant suşların infeksiyon yeteneğinin kaybolduğu gösterilmiştir (67,68).

#### 2.6.1.1.2. Üreaz

*H.pylori*'nin tüm proteinlerinin yaklaşık olarak % 6'sını oluşturan ve yapısında nikel bulunduran bir metalloenzim olan üreaz, bakterinin midenin asidik ortamında yaşaması için gereklidir. Üreaz enziminin eksprese edilebilmesi için kofaktör olarak nikel ihtiyacı duyulur.

Üreaz enzimi mide hücrelerinden salınan üreyi parçalar. Ürenin parçalanması esnasında açığa çıkan CO<sub>2</sub> ve NH<sub>3</sub>'ün (amonyak), bakteriyi koruduğu ve mide epitelinde hasar yarattığı gösterilmiştir. Üreaz aktivitesi ile üreden oluşturulan NH<sub>3</sub> ve CO<sub>2</sub> in vivo çalışmalarda bakterinin yaşaması için gereklidir (60,61).

#### 2.6.1.2. Adezyon

*H.pylori*'nin mide epiteline spesifik olarak yapışmasında Lewis ve Bab antijenlerinden özellikle Lewis-b ve Bab-A2'nin etkili olduğu gösterilmiştir. Bab-A proteini, epiteldeki Lewis B kan grubu antijenlerine bağlanmaktadır (48,60,62).

Bu iki temel adezin dışında, N-asetil-nörominil-laktoz yapıda fibriler hemaglutinin, hücreye bağlanmada etkili sialize epitoplara, yüzey-lokalize sıvı ok proteini Hsp-Z ve A1pA/A1pB genleri tanımlanmıştır (62-63).

#### 2.6.1.3. Konak savunmasından korunma faktörleri

*H.pylori*; midede kolonizasyonu engelleyici faktörlere karşı koyabilecek birçok yapı elemanları, enzim ve toksinlere sahiptir. Bu elemanlar; flagellalarla sağlanan güçlü hareket yeteneği, üreaz enzimi, bağlanmadan sorumlu proteinler (adezinler), musinaz gibi suda çözünür ekstraselüler mediyatör proteinler, katalaz enzimi, proliferasyonu inhibe eden proteinler, vacA ve cagA toksini ile Thioredoxin (11;18)'dir (68,69).

##### 2.6.1.3.1. Katalaz ve superoksid dismutaz

*H.pylori*'nin kendini savunma amacı ile geliştirdiği uyum mekanizmalarından en önemlisi, SOD ve katalaz üretmesidir. Bu iki enzim, *H.pylori*'nin nötrofillerin fagositik vakuolünde yok edilmesini önlemektedir. SOD, süperoksiti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye (hidrojen peroksit) dönüştürmekte ve katalaz da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi, oksijen ve suya parçalamaktadır (65).

##### 2.6.1.3.2. Thioredoxin (CD59)

*H.pylori* suşları proteinlerin disülfid bağlarını keserek denatüre edebilen Thioredoxin (CD59) enzimine sahiptir. Bu enzim sayesinde mukus tabakasındaki musinleri ve daha da önemlisi konak tarafından sekrete edilen nonspesifik ve spesifik IgA, IgG ve IgM gibi immunoglobulinleri denatüre edip vücut savunmasından korunurlar (70,71).

##### 2.6.1.4. Doku hasarı oluşturan virulans faktörleri

*H.pylori*'nin mide kolonizasyonu sıklıkla asemptomatik seyretmekte, ta ıyıcıların ancak % 15-20'sinde hayatın herhangi bir döneminde gastroduodenal patoloji ekillenmektedir. Bu dü ük insidans *H.pylori* ile gastroduodenal hastalıklar arasındaki etiyolojik ili kiyi ku kulu hale getirirse de, insanlarda yapılan geni epidemiyolojik çalı malar ve eradikasyon tedavisinin klinik sonuçlarının yanı sıra, Pigtail macaque ve Rhesus maymunları ile yapılan deneysel çalı malarda *H.pylori*'nin yüzeyel gastrite yol açtı ı ispatlanmı tır (17,65,66,72). Rhesus maymunlarında *H.pylori* infeksiyonu ile yaratılan gastritin *H.pylori* eradikasyonu ile iyile me sürecine girdi i de gösterilmi tir (65). *H.pylori* patogenezi ile ilgili çok sayıda iddia bulunmakla birlikte, bakteriye ait güçlü antijenik özelli e sahip toksin, enzim ve yapısal elemanların yarattı ı kronik inflamasyonun midedeki doku hasarından sorumlu oldu u ispatlanmı tır (72). mmunopatogenezi nde, *H.pylori* infeksiyonu esnasında 4-4.5'a kadar yükselen mide pH'ı, midede adi bakteriler ve metabolitlerinin artı ına izin vermektedir. Bu metabolitler içerisinde bulunan nitrat ve nitritler çe itli gıdalar veya ilaçlarla alınan aminler ve amidlerle birle erek karsinojen nitrozo aminler ve nitrik oksid radikalleri (NOS) gibi N-nitrozo bile iklerini olu turmaktadır. Kronik inflamasyonda yer alan polimorf nüveli lokositler, lenfositler ve makrofajların yarattı ı oksijen ve nitrik oksit radikalleri de NOS'lar gibi mukozal hücrelerde hasarı ve neoplastik transformasyonu tetikleyebilmektedir. Di er taraftan *H.pylori* ile infekte hastalarda mukozal askorbik asit miktarının dü tü ü ve lipid peroksidasyonunun arttı ı gösterilmi tir (72). Bu metabolitlerdeki de i im de karsinogenezi tetiklemektedir. Bu olaylar sonucunda *H.pylori* ile kolonize ki ilerinin % 2-4'ünde, kronik aktif gastritle ba layan gastrik kolonizasyon yakla ık 10 yıllık bir süre içerisinde mukoza hücrelerindeki hasara ba lı olarak diffüz veya intestinal tip adenokarsinoma ile sonlanabilmektedir. Nitekim *H.pylori* pozitif ki ilerde mide kanseri geli me riski, negatif hastalara göre en az 20 kat fazla bulunmu tur (72).

*H.pylori*'nin genetik yapısındaki rekombinasyon yetene i ve gen esnekli i özelli i bu bakteriye ait virulans genlerinin de önemini tartı ılır hale getirmektedir. Mesela, mide kanseri insidansının yılda 235.000 olgu veya % 0.4 gibi oldukça yüksek oranda görüldü ü Japonya ve Çin gibi ülke izolatlarında virulansla ili kilendirilemeyen *cagA* ve *vacA* gibi bazı genler Batı dünyasında gastrik adenokarsinoma ve peptik ülser için prediktif de er ta ımaktadır. Bu nedenle, virulansa etki eden bu genlerdeki

mutasyonel de i imler ve allelik farklılıkların önemini ortaya koyan ve daha geni vaka gruplarını içine alan moleküler düzeyde çalı malara ihtiyaç vardır (72).

Bakterinin virülans özellikleri içerisinde en önemlileri; *cagA*, *vacA* toksinleri, dışı inflamatuvar protein Oip-A (Outer Inflammatory Protein-A) ve epitel ile temasla indüklenen protein *ice-A*'dır (73,74).

#### 2.6.1.4.1. Cag patojenite adası (CagPAI)

CagPAI, 40 kb büyüklü ünde ve *cagA*, *cagE*, *cagG*, *cagH*, *cagI*, *cagL*, *cagM* ve *virB11* gibi 27'den fazla genden olu an bir ORF (open reading frame) bölgesidir. Bu gen adası, bakterinin ortama adaptasyonu ile ilgili, özellikle Tip-IV sekresyon sisteminde rol alan agresif proteinleri kodlar. Ancak bakterinin kona a uyum çabasının bir sonucu olarak *cagPAI*'de *cagA*'nın da dahil oldu u genlerde yüksek oranda delesyonel mutasyonlar görülmektedir (38). CagPAI taşıyan su lar *tip I* su lar olarak tanımlanırlar ve ülser, mide kanserleri gibi klinik tablolarla ili kilendirilirler. CagPAI taşımayan su lar ise *tip II* su lar olarak tanımlanırlar ve daha çok non-ülser dispepsi gibi benign gastrointestinal rahatsızlı ı olan hastalardan izole edilirler (72).

Hücre içerisine gönderilen *cagA*, konak hücre intrasitoplazmik sensörü olan Nod-I (nucleotide-binding oligomerization domain-I) tarafından algılanır. Bu sensörde nükleer faktör kappa-B'yi (NF- B) aktive ederek proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 , IL-6 ve IL-8) sekresyonunu ba latır. Özellikle IL-8 (interlökin-8) kronik aktif gastritin en önemli histopatolojik bulgusu olan inflamasyondan sorumludur. Diğer taraftan *cagPAI*, EGF (Epitelyal Growth Factor) üzerinden MMP-1'i (Matrix Metalloprotease-1) aktive ederek mide epitelinde hücreler arasındaki desmozomları parçalamakta ve mukoza bütünlü ünü bozmaktadır (72,75).

##### 2.6.1.4.1.1. *cagA* geni

Bu gen, Tip I su larında, 128 kDa (120-140 kDa) molekül a ırlı nda, 1147-1181 amino asit uzunlu unda, güçlü immunojen ve sitotoksin olan, *cagA* olarak tanımlanan, bir dışı membran proteinini kodlar. *cagA* proteini etnik, bölgesel ve klinik farklılıklar göstermekle birlikte *H.pylori* su larının % 50-100'ünde üretilmektedir (76-

79). Ülkemizde *cagA* ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı *cagA* pozitiflik oranları gösterilmiştir ve en sık gastrik ve duodenal ülserli, gastrik kanserli hastalarda pozitif bulunmuştur (77-79).

*cagA*'nın 5' ucu son derece konservatif iken 3' ucunda farklı sayı ve büyüklükte tekrarlayan diziler yer alır. Bu diziler içerisinde Tirozin'in yer aldığı EPYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) motiflerini kodlarlar ve bu sebeple de EPIYA gen kaseti olarak da adlandırılırlar. Konak hücrenin hücre sinyal sistemini tirozin fosforilasyonu yolu ile bozan bu kasetlerin büyüklükleri ve bölgesel olarak 0 ila 6 arasında değişebilen sayıları virulansla ilişkilidir. Mesela Hindistan ve Asya kökenli sularda 900-950 bp kadar büyük olan kaset Avrupa kökenli sularda 825 bp kadardır. Bu fark Asya kökenli sulardaki kasetin kodladığı proteinin yaklaşık olarak 10-12 aminoasit daha büyük olmasına yol açmaktadır. Çok sayıdaki çalışmada immünojenik aktiviteyi artıran bu büyüklük farkının Asya ülkelerinde sık görülen mide kanseri ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (80-86).

Buna karşılık, gastrik adenokarsinoma, duodenal ülser, mide ülseri, non-ülser dispepsi ve asemptomatik gruplardan izole edilen Avrupa ve Asya kökenli suların karşılaştırıldı. Çok sayıdaki çalışmada ise *cagA* genotiplerinin ileri sürüldüğü gibi prognozu etkilemediği gösterilmiştir (23,26,86,87).

Hücre sitozölü içerisindeki *cagA*, özellikle antral ve fundik mukoza hücrelerinde, PAK-1 (p21-activating kinase-1) ve MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) kinazları aktive etmektedir. MAP kinazların aktivasyonu ile NF- $\kappa$ B indüklenir ve NF- $\kappa$ B'nin uyarılması ile TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor-alpha), IL-8, GRO- $\alpha$  (Growth Regulated Oncogene-alpha), VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) ekspresyonunda artış görülmektedir. Ayrıca, *CagA*'nın Ras/MAPK üzerinden NF- $\kappa$ B'yı aktive etmesi ile IL-8 üretimi sağlanmaktadır. İnflamasyon bölgesinde biriken PMNL (polimorfonükleer lökositler), monositler, B ve T lenfositler gibi inflamatuvar hücrelerin antijenler ile ilişkisi sonucu aktive olan Th (T-helper) ve Tc (T-cytotoxic) lenfositler; IL-12, IL-18 ve IFN- $\gamma$ 'nın (interferon-gama) etkisi ile bölünerek çoğalmaya başlarlar. İnflamasyonun kronikleşmesi ile antijen sunan hücrelerde IL-12 üretimi başlar. IL-12, NK (natural killer) tarafından IFN- $\gamma$  sekresyonuna sebep olur. Bu sitokinin sekresyonu ile dolağımdaki Th hücre profili değişirerek Th2 ve T0 sayısı azalır. Buna karşılık Th1 sayısı artar. Sonuç olarak doku yıkımı ile karakterize hücrel immünite yani patolojik otoimmün cevap başlanmaktadır (72,88). Böylece bir taraftan hücrel

hasar artarken di er taraftan da T hücreler tarafından uyarılmış B-lenfositlerin plazmositlere proliferasyonu sonucu, B hücre bazlı foliküler gastrit ba lar (72).

Bu ülserle mi veya foliküler yapıdaki primer lezyonlar MALT lenfoma veya mide kanseri için prekürsör lezyonlardır. *cagA* tarafından uyarılan ERK-1 ve ERK-2 (extracellular signal-related kinase), MAP kinazlar hücrede Bcl ailesinden olan anti-apoptotik (Bcl-2, Mcl-1 ve Bclx) ve pro-apoptotik (Bax, Bak ve Bad) proteinlerin ekspresyonunu etkileyerek, özellikle Bcl-2 üretimini azaltır, bax üretimini artırır. Bcl-2 mitokondriya ba lı caspas-3'ü inaktive ederek vakuolizasyon ve apoptozu engeller. Bu engelleme hatalı hücre proliferasyonunun apoptozis yolu ile temizlenmesinin önünü keser ve neoplastik hücrelerin transformasyonunu artırır. Bütün bu verilere dayanarak *cagA*'nın bir onkoprotein oldu u söylenebilmektedir (72).

#### 2.6.1.4.2. *vacA* (vacuolating cytotoxin) geni

VacA geni, 3933 bp büyüklü ünde bir ORF'dir ve 87-93 kDa a ırlı nda vacA proteinini kodlamaktadır. *H.pylori* su larının tamamında bu gen bölgesi bulunmasına kar ılıklı, su ların yakla ık olarak % 40-60'ında gen inaktif ya da dü ük aktiviteye sahiptir (89,90).

*vacA* geni memeli hücrelerinde vakuolizasyona yol açan 87-93 kDa a ırlı nda vacA proteinini kodlar. VacA geninde bir i aret – sinyal bölgesi “s” ve bir de yüksek toksisite ile ilgili olan proteinin kodlandı ı “m” bölgesi yer almaktadır. VacA geninin 4 farklı “s” (s1a, s1b, s1c ve s2) sinyal dizisi ile 3 farklı “m” (m1a, m1b ve m2) bölge dizisi allelleri bulunmaktadır. VacA-s1a alleli, s1b' ye oranla daha aktiftir ve VacA-s1 allelleri, özellikle s1/m1 kombinasyonu, s2 allellere göre daha fazla toksin üretmektedir (21,23,25,91).

*cagA/vacA* birlikteli i sadece *vacAs1* alleline sahip su larda görülür. Kuzey Avrupa, ngiltere, rlanda ve skoçya gibi Avrupa kökenli su ların ço unda *s1a*, Merkezi ve Güney Afrika kökenli su larda *s1b* allellerinin kombinasyonları görülürken, Asya kökenli su ların % 80'inden fazlasında s1c allelinin hakim oldu u gösterilmi tir. Klinik izolatlarda yapılan çalı malarda *vacAs1/m1cagA* pozitif su lar, peptik ülser ve gastrik adenokarsinoma ile ili kili su larda daha yüksek prevalansta bulunmu tur. Buna



karılıklı, *s2/m2* allel kombinasyonu non-toksijenik su larda, *s1/m2* kombinasyonu ise nispeten düşük toksisite ile iyi huylu hastalıklarla ilişkili su larda bulunmuştur. *vacA m2* allele sahip su ların da MALT lenfomalı hastalarda predominant alt tip olduğu ileri sürülmüştür. Asya kökenli su lar arasında ise *m1* allelinin gerek çocuklarda, gerekse yetişkinlerde görülen duodenal ülserle ilişkili su larda daha yüksek prevalansta bulunmuştur (21-26,80,92).

#### 2.6.1.4.3. *iceA* geni (Inducible by Contact with Epithelium Gene)

*H.pylori*'nin önemli virulans faktörlerinden birisi de, mide epitel hücresi ile temas sonrası uyarılan *iceA* genidir. Batı toplumlarından izole edilen su larda *iceA1* varlığı peptik ülser için bir risk faktörü olarak gösterilirken, görülme sıklığı giderek artan *iceA2* ise, daha çok non-ülser dispepsili hastalardan izole edilen su larda görülmektedir (93). Ancak, Asya ve Amerika kökenli su larda *iceA* allellerinin spesifik bir patoloji ile ilişkisi gösterilememiştir (23,74,94,95). Brezilya'da yapılmış olan çalışmalarda, *iceA*'nın klinik fark göstermeksizin izolatların %90'ından fazlasında bulunduğu bildirilmiştir (74,95).

#### 2.6.1.4.4. Diğer gen bölgeleri

Mide kanserli hastalardan izole edilen su larda esnek bölge - *plasticity region* olarak tanımlanan ve *H.pylori* genomundaki en derin bölgeyi oluşturan yeni bir ORF bölgesi gösterilmiştir (96). Büyüklüğü su lar arasında derinlik gösteren (J99 su unda 45 kb ve 26695 su unda ise 68 kb) bu bölgelerde, mide kanseri olumu ile ilişkili olduğu düşünülen genler (*JHP940* ve *JHP947*) ile gastritle ilişkili olduğu düşünülen ve sadece 26695 su unda gösterilen bir gen (*HP986*) yer almaktadır (96,97). Santos A ve ark.; mide kanseri, ülser ve gastritli hastalardan izole ettikleri 200 su ile yaptıkları PCR bazlı çalışmada, sadece *JHP947* genine sahip su ların kanser ve ülserle ilişkili olduklarını, diğer iki genin ise hastalığın prognozuna etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Ancak, bu araştırmacılar *JHP947* geninin *cagA* ile birlikteline dikkat

çekmi ve bu yeni genin *vacA* ve *cagA* ile birlikte önemli bir virulans faktörü olabileceği ileri sürülmüştür (97).

## **2.7. *H.pylori* ile ilişkili Hastalıklar**

*H.pylori*'nin sebep olduğu klinik patolojileri gastrointestinal sistem hastalıkları ve gastrointestinal sistem dışı hastalıklar olarak iki ana başlığa ayırmak mümkündür.

### **2.7.1 Gastrointestinal sistem ile ilişkili hastalıklar**

*H.pylori* insanlarda gastrik kolonizasyonuna bağlı olarak asemptomatik taşıyıcılıktan ülcersiz dispepsiye, aktif kronik gastrit ve kronik gastritten, atrofik gastrite, peptik ülserden MALT lenfoma ve gastrik karsinomaya kadar değişen spektrumda gastroduodenal patolojilerden sorumlu bulunmuştur. Ayrıca, fundusdaki lokalizasyonları ile mide-özefagus reflü ve üst gastrointestinal sistem karsinomaları ile de ilişkisi gösterilmiştir (65).

#### **2.7.1.1. Akut enfeksiyon**

Akut *H.pylori* enfeksiyonu gastrointestinal huzursuzluk, mide bulantısı, üst kadranda ağrı, karında şişkinlik, nadiren de kusma, ateşe sebep olabilir (105,126,183,184). Belirtiler 3 ile 14 gün arasında kaybolur. Genellikle bir haftadan az sürer. Besin zehirlenmesi ile karışabilir. Özellikle çocuklarda diyare de bulunabilir (183,184).

### 2.7.1.2. Kronik aktif gastrit

*H.pylori* ile enfekte bireylerde hayat boyu devam eden ve genellikle asemptomatik seyreden kronik yüzeysel aktif bir gastrit olmaktadır. *H.pylori* ile enfekte kişilerin yaklaşık % 20'sinde klinik bir hastalık gelişmektedir. Kronik gastrit, mide kanserinin gelişiminde en iyi bilinen risk faktörüdür (105). Antral gastritte, duodenal ülseri gelişimi daha sık görülürken, korpus gastritinde mide ülseri, mukozal atrofi ve intestinal metaplazi gelişimi ihtimali daha yüksektir (105,185).

Sydney Klasifikasyon Sistemi (1990) ile gastrit etyopatogenezinde *H.pylori*'nin varlığı dikkate alınmış ve gastrik patolojiler, histopatolojik ve üst G S endoskopik olarak iki ayrı grupta toplanmıştır. *H.pylori*'nin gastrik dokuda yaptığı hasara ilişkin immunolojik ve patolojik deliller mevcuttur. *H.pylori*; ya çeşitli sitotoksinler ve üreaz gibi enzimlerle direkt olarak veya otoimmün cevabı yoluyla indirekt yollarla gastrit mukozada hasara yol açmaktadır (186). *H.pylori*'nin gastrik mukozada dağılımı homojen olmayıp genellikle yamalı boğça tarzında yerleşim göstermektedir. Mide biyopsi örneklerinde sıklıkla mukozal hücrelerde normal yapının kaybolduğu, hücrelerin düzensiz olarak dizildiği ve mukus içeriğinin azaldığı, bununla birlikte lamina propria'nın kronik inflamasyonu karakterize eden hücreler ile infiltrasyon gözlenmektedir (187,188).

### 2.7.1.3. Peptik ülser

*H.pylori* ile ilişkisi en güçlü şekilde gösterilmiş olan hastalık peptik ülserdir (PU) (118,188). Duodenal ülserlerin (DU) % 95'i ve gastrik ülserlerin (GU) % 70'i *H.pylori* enfeksiyonu ile ilişkilidir (108). Duodenal ülser; aspirin, NSAII kullanımı veya Zollinger-Ellison Sendromu nedeniyle oluşan ülserlerin dışında, genellikle *H.pylori* kolonizasyonuna bağlıdır (66,183). Pek çok kohort çalışması göstermiştir ki, *H.pylori* pozitif bir kişinin, *H.pylori* negatif bir kişiye oranla, yaşam boyu peptik ülser gelişim riski 3-10 kat daha fazladır (189). *H.pylori* sadece mide epitelinde yaşayabilmektedir.

Bu nedenle duodenum epitelinde ya amadan önce burada gastrik metaplazi olması gerekmektedir. *H.pylori* duodenumda aktif duodenit sonucu olu an gastrik metaplazi alanlarında kolonize olabilir. Bu da ülserasyonun öncül lezyonudur (65,183).

*H.pylori* ile enfekte bir ki ide ya am boyu peptik ülser geli me riski ABD’de % 3, Japonya’da % 25 olarak bildirilmi tir (65,98). 3-10 yıl boyunca süren bir di er progressif vaka kontrollü çalı malarda, *H.pylori* ile enfekte ki ilerde duodenal veya gastrik ülser geli me riski 4 ila 13 kat artmaktadır (98). statistiksel risk verilerine ra men *H.pylori* ile peptik ülser arasındaki ili kiye ait en güçlü delil eradikasyon tedavisi sonrası tekrar infeksiyon oranlarındaki anlamlı dü ü tür. Duodenal ülseri olan hastaların % 95’inden fazlasında *H.pylori* gastriti mevcutken *H.pylori* negatif hastalarda DU hastalı ı son derece nadirdir. Yüksek asit yüküne sahip hastalarda diffüz antral gastrit ve duodenal ülser geli me sıklı ı artmı tur. Dü ük asit yüküne sahip hastalarda ise korpus gastriti ve multifokal atrofi ve bunların yatkınlık olu turdu u gastrik ülser geli mesi daha sık olmaktadır. Duodenal mukoza ve muskularis mukozayı içine alan lokalize doku kaybı olan ülser, sık nüks görülen kronik bir hastalıktır.

*H.pylori*, GU hastaların % 70’inden fazlasında gastrik mukozada pozitif bulunmu tur. GU’lerin geri kalan % 25’inde non-steroidal antiinflamatuvar ilaç kullanımı, % 3’ünde Zollinger-Ellison sendromu ile % 2 vakada çe itli faktörler suçlanmı tur. *H.pylori* eradikasyonu ile hem GU hem de DU tekrarlama riskleri anlamlı ekilde azalmaktadır (118,190). Ba arılı eradikasyon sonrası DU’de rekürens oranı% 3-21 iken halen *H.pylori* pozitifli inin devam etti i grupta bu oran % 55-86’dır (191-193). GU rekürrensi incelendi inde, *H.pylori* halen pozitif olan grupta % 46-71 olarak saptanırken *H.pylori*’nin ba arı ile eradike edildi i grupta bu oran % 10 olarak saptanmı tur (194-196). *H.pylori* / NSAII etkile iminin uzun süre NSAII kullanan tüm hastalarda *H.pylori*’nin test edilmesi ve infeksiyon bulundu unda tedavi verilmesi gerekti i Maastricht 2-2000 ve 3-2005 konsensus raporunda bildirilmi tir (6,11).

#### 2.7.1.4. Mide kanseri

30 yıl kadar önce Correa ve arkadaşları tarafından gastritin gastrik kansere ilerleyebileceği gösterildi (197). Kronik olarak *H.pylori* ile ilişkili inflamasyonun, gastrik bezlerin yerine intestinal metaplazinin geçmesi nedeniyle, normal gastrik mukozal mimarinin sıklıkla kaybına neden olur. Bu atrofik gastrit ve intestinal metaplazi durumları *H.pylori* ile kronik olarak kolonize kişilerde yaklaşıklık yarısında gelişir (118). Her *H.pylori* ile enfekte kişilerde gastrik kanser gelişir. Etkileyen pek çok faktör tanımlanmıştır. Temel faktörler, mutasyonlara neden olabilecek oksidatif stres ve çevresel faktörlerdir. Diyet, bakteriyel faktörler, DNA hasarı ve oksidatif strese yönelebilecek konak yanıtını düzenleyen genler de önemlidir (198). Konaktaki IL-1'i kontrol eden gen bölgesinde polimorfizm olanlarda hipoklorhidri ve gastrik kanser insidansı artmıştır (199-200). Atrofinin şiddeti ve yaygınlığına göre gastrik kanser riski 5-90 kat artmıştır (201). *H.pylori* kolonizasyonunda gastrik kanser riski 10 kat artmıştır (202), bu nedenle de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından sınıf 1 karsinojen olarak tanımlanmıştır. Gastrik kanser riski sadece cagA pozitif bireylerde beklenmez, ayrıca kronik *H.pylori* kolonizasyonuna karşı IL-1'i daha yüksek oranda üretebilme yanıtını gösteren bireylerde de gastrik kanser riski artmıştır (199). Gelişmiş ülkelerde gastrik kanserin % 60-80'inde uzun dönemde *H.pylori*'ye maruziyet vardır. İğinci olarak son 10 yılda Batı toplumlarında *H.pylori* prevalansının düşmesi ile orantılı gastrik kanser vakalarında azalma mevcuttur. Ancak halen gastrik kanser dünya genelinde en sık görülen 4. kanserdir. Doğu Asya ve Güney Amerika'da halen gastrik kanser insidansı yüksektir (203). *H.pylori* ile enfekte kişilerde artmış gastrik kanser riski vardır ve gastrik kanserli hastaların % 50'sinde *H.pylori* pozitifliği bulunmaktadır (204). Prospektif çalışmalarla *H.pylori* kronik gastritinin, intestinal metaplazi ve atrofik gastrite doğrudan ilerlediği gözlemlenmiştir (205) ve bu tür patolojik lezyonlar gastrik karsinomunun öncülü olarak kabul edilmektedir (118). Düşük asit yükü ve kronik *H.pylori* enfeksiyonu olan kişilerde intestinal metaplazi ve displazi görülme sıklığı artmaktadır. Mide kanserinin malign hastalıklar arasından görülme sıklığı toplumlara ve cinsiyete göre değişmekle birlikte dünyada 4. sırada, ülkemizde ise 3. sırada yer almaktadır. *H.pylori* enfeksiyonunun arttırdığı doku yanıtı "kronik gastrit" olarak adlandırılır. Kronik gastritin mide kanseri gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Ayrıca *H.pylori* enfeksiyonunda görülen intestinal metaplazi ve atrofik

gastrit mide kanseri geli imine sebep olur (118). *H.pylori* infeksiyonunun prevalansının yüksek oldu u ülkelerde mide kanseri oranı da yüksektir. Bu ili ki mide antrum, korpus adenokarsinomlarının intestinal ve diffüz tiplerinin her ikisinde de görülür. Adenokarsinom geli im mekanizmasında kabul edilen görü : *H. pylori*'nin indükledi i doku yanıtının (yangı) kronikle mesi ile atrofik ve metaplastik histolojiye de i imdir. Kona a ve bakteriye ait faktörler de kanser geli iminde önemli rol oynar (118,183). Günümüzde bilim adamları artık gastrik kanseri önlemek için hem atrofik gastrit veya intestinal metaplazi gibi kanser öncülü lezyonları olan hem de *H.pylori* ile enfekte olan genel toplumda *H.pylori* eradikasyonu üzerine odaklanmı lardır. Pek çok plasebo kontrollü randomize çalı mada *H.pylori* eradikasyonu ile atrofide bir miktar gerileme sa lanabilmi tir (206,207). Bu çalı malarda, eradikasyon verilen ve plasebo grubu kar ıla tırılmı , iki grup arasında, tedavinin ilk yıllarında, 4-12 yıllık izlem itibariyle gastrik kanser insidansında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamı tır (208). Eradikasyon tedavisinden sonra da görülebilen bu gastrik kanserler, bu hastaların daha önceden zeminde atrofik gastrit ve intestinal metaplazi gibi kanser geli imi için geri dönü ümsüz bir noktada olmalarına ba lı olabilir. Bu durum, *H.pylori* için uygulanacak etkin eradikasyonun gastrik kanseri önleyici etkisinin atrofik gastrit veya intestinal metaplazi gibi kanser öncülü lezyonların olmadı ı durumlar için söz konusu oldu u anlamına gelebilir. Bir ba ka çalı maya göre de *H.pylori* ile enfekte olan bireylerde gastrik kanser geli me riski yakla ık olarak 5-6 kat daha fazladır (126). Yakın zamanda Japonya'da geni kapsamlı, 123576 hastanın 1990-2004 yıllarında prospektif kohort olarak izlendi i bir çalı mada, 511 gastrik kanser vakası 511 kontrol grubu ile kar ıla tırılmı . Burada *H.pylori*'ye atfedilen gastrik kanser riski oranı 5.1 saptanırken, *H.pylori* yanı sıra CagA pozitifli i de olan bireylerde bu oran 12.5 olarak saptanmı tır (209).

#### 2.7.1.5. Mide lenfoması

Mide lenfoması B lenfositlerden köken alır ve mukoza ili kili lenfoid doku lenfoması (MALToma) olarak adlandırılır. *H.pylori* enfeksiyonu gastrik MALT lenfoma riskini anlamlı derecede arttırmaktadır. Epidemiyolojik çalı malara göre, hemen tüm MALT lenfomalı hastaların *H.pylori* pozitifdir (23,65). *H.pylori* pozitif hastalarda

MALT lenfoma gelişimi için anlamlı risk artışı mevcuttur (211). Gastrit adenokarsinoma göre mide lenfoması daha az oranda görülür (118,212,213). MALT lenfoma, *H.pylori* pozitif bireylerin % 1'inde görülür (214). MALT lenfomalı hastaların yaklaşık olarak % 60-80'inde başarılı eradikasyon tedavisi sonrasında tam remisyona gözlenir. % 10 hastada minimal rezidüel hastalık izlenirken, kalan grupta da eradikasyona hiç yanıt alınmaz. Tam remisyona yanıt alınan hastaların da uzun dönem takipleri sırasında % 30-35 oranında rekürens izlenmektedir. Bu nedenle bu MALT lenfomalı hastaların uzun dönem takipleri yapılmalıdır (215,216). Eradikasyon tedavisine yanıtı belirleyen hastada t(11:18) (q21;q21) translokasyonunun bulunup bulunmadığıdır. Bu translokasyon, API2-MALT1 füzyonu ile ilişkili klonal genetik ve apoptozis olayının gelişmesini baskılamaktadır. Kabul gören mekanizma, *H.pylori*'nin neden olduğu kronik antijenik stimülasyonun poliklonal lenfoid yanıtı indüklediği ve bir klonun proliferasyonu sonucunda neoplastik transformasyona uğradığıdır (183,184). Pek çok çalışmada MALT lenfomalı hastalarda bu translokasyon olduğunda eradikasyon tedavisine ya hiç yanıt alınmamıştır ya da çok nadiren yanıt alınmıştır (217,218).

#### 2.7.1.6. Ülsersiz (non-ulcer) dispepsi

Dispepsi; GÖRH, PU hastalığı ve ilaç kullanımı gibi nedenlerle oluşabilir (117). Ülsersiz dispepsi varlığı etiyolojisi çok iyi bilinmediğinden tanımlanması yetersizdir. Birçok randomize klinik çalışmalarda ülsersiz dispepside *H.Pylori* için antibiyotiklerin etkisi değerlendirilmiştir. Genel olarak, antibiyotik tedavisi ile hastaların % 20-25'inde semptomatik düzelme görülür (126). Bu grup hastalarda bir hastada kür sağlanması için 12-15 hastanın tedavi edilmesi gerektiği ifade edilmektedir (6).

#### 2.7.1.7. Gastroözofageal reflü hastalığı (GÖRH)

*H.pylori* enfeksiyonu ve GÖRH arasındaki ilişkiyi inceleyen retrospektif ve prospektif birçok araştırma yayınlanmıştır. Bu çalışmaların bir kısmında *H.pylori*

infeksiyonunun GÖRH'e karşı koruyucu bir rolü olmadığı gösterilirken (219) bir kısmında da bu organizmaya bağlı infeksiyonun reflü hastalığını ortaya çıkarabileceği veya daha önce var olan reflü hastalığını alevlendirebileceği vurgulanmıştır (220). Batı toplumunda *H.pylori* infeksiyonu sıklığındaki azalmayla birlikte GÖRH insidansının artması, *H.pylori* infeksiyonunu GÖRH gelişimine karşı koruyucu rol oynayabileceği şeklinde bir düşüncenin ortaya çıkmasına yol açmıştır. EHPSG'nin 2005 yılı uzlaşma raporuna göre *H.pylori* eradikasyonun GÖRH neden olmadığı kabul edilmektedir (6). Reflü hastalarında rutin olarak *H.pylori* için test önerilmemektedir. Ancak uzun süre proton pompa inhibitörü (PPI) kullanacak ön görülen hastalar için *H.pylori* eradikasyonun faydalı olacağı ifade edilmiştir. PPI'lar ile derin asit baskılanması sağlandığında özellikle korpus baskın gastriti olan bireylerde gastrit bezlerindeki hasarlanmanın artabileceği, atrofik gastrit ve potansiyel olarak gastrit kansere neden olabileceği nedeniyle reflü özofajiti tanısıyla uzun dönem PPI alacak düşünülen hastalar için inflamasyonu gerilemek amacıyla öncesinde *H.pylori* için eradikasyon verilmesi faydalı olacaktır (6,221). Bugün için genelde kabul gören bir görüş GÖRH'ün şiddeti ile *H.pylori* varlığı arasında tersine bir ilişki olduğu şeklindedir. Çalımlara göre Asya toplumlarındaki GÖRH ile *H.pylori* prevalansı arasında negatif bir ilişki olduğu söylenebilirse de bu ilişkinin doğası açıklanamamaktadır (6).

### **2.7.2 Gastrointestinal sistem dışı hastalıklar**

Son yıllarda *H.pylori* ile kardiyovasküler sistem, solunum yolları, merkezi sinir sistemi, deri yumuşak doku ve otoimmün hastalıklar arasında ilişki olduğunu ima eden çok sayıda çalıma ait sonuç yayınlanmıştır (222). Bakterinin bu hastalıklardaki rolü kesinlik kazanmamakla birlikte elde edilen sonuçlar klinisyenlerin eradikasyon tedavilerine ilgisini artırmıştır (223). Bu bağlamda; iskemik kalp hastalarında yüksek oranlarda *H.pylori* infeksiyon prevalansı bildirilmiştir. Behçet, Sjögren sendromu gibi bazı otoimmün hastalıklarla *H.pylori* arasında bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca, karaciğer ve safra yolu hastalıkları, inflamatuvar barsak hastalığı, ürtiker, akne rozasea gibi deri hastalıklar, ITP, demir eksikliği anemisi, megaloblastik anemi gibi hematolojik hastalıklarla ve romatoid hastalıklar arasında da muhtemel bir ilişkinin varlığından söz



edilmiştir (224). 2006'da Japonya'dan yayınlanan ITP ve *H.pylori* ili kisini ara tıran bir çalı mada, 37 ITP hastasından 26'sında *H.pylori* pozitif 11'nde *H.pylori* negatif saptanmıştır. Bu iki grup hastaya da eradikasyon tedavisi verilmiştir, pozitifli i gösterilmiştir grupta % 62 oranında yanıt alınmıştır ken *H.pylori* negatif grupta beklendi i üzere herhangi bir de i iklik izlenmemiştir (226). Bir ba ka çalı mada *H.pylori* pozitif ve ITP'si olan 43 hastaya eradikasyon tedavisi verilmiştir, bu 43 hastadan 41'nde eradikasyon sa lanmıştır (% 95) ve bu grup hastalardan 20'sinde (% 49) kalıcı trombosit yanıtı izlenmiştir (225). Ancak elde edilen veriler, bu hastalıklarla *H.pylori* enfeksiyonu arasında ke-in bir ili ki oldu unu söylemek için yeterli olmayıp, geni kapsamlı çalı malara gerek vardır.

## **2.8. *H.pylori* nfeksiyonlarında Tanı**

*H.pylori* ile ili kili gastroduodenal hastalıkların tanısı, klinik ve laboratuvar bulgulara dayanmaktadır. nfeksiyonunun tanısına yardımcı olabilecek birçok test yöntemi geli tirilmiştir. Bu testler, direkt yani invazif testler ve indirekt testler yani non-invaziv testler olarak iki kategoriye ayrılmaktadır. *H.pylori*'nin tespitinde altın standart ara tırıcının deneyimine göre kültür, PCR veya histopatolojik inceleme olarak tanımlanabilir. Tanıyı optimize etmek için genellikle birkaç testin birlikte kullanılması önerilmektedir.

Kullanılacak olan testin seçimi, yöntemin uygulanabilirli i, testin sensitivite ve spesivitesi, ula ım imkanları, maliyeti ve hasta tarafından tolere edilebilirli i ve hastanın klinik yakınmaları ve fizik bulgular dikkate alınarak yapılır. Çe itli tanı testlerin genel özellikleri tablo 2.1'de tanımlanmıştır (106,107).

**Tablo 2.1:** *H.pylori* tanısında kullanılan testlerin özellikleri

TEST	SENSİTİVİTE (%)	SPESİFİTE (%)	MAALİYET	NVAZİYETİM	ÖZELLİK
Histoloji	90-95	95-99	+++	+	Yamasal da ılımdan etkilenir. Enflamasyonun şiddeti belirlenebilir (gastrit, atrofi vb.)
Kültür	75-90	100	++	+	Laboratuvarın deneyimi önemli. Antibiyogram için gerekli
HÜT	85-95	90-95	+	+	Hızlı sonuç verir. Yamasal da ılımdan etkilenir. Ab. ve PPI'dan etkilenir.
GB-PCR	95	100	+++	+	leri laboratuvar artları gereklidir.
<sup>13</sup> C ÜNT	95	98-100	++	-	Çocuklar ve hamilelerde kullanılabilir. Tedavinin takibinde yararlıdır.
<sup>14</sup> C ÜNT	95	90-100	++	-	Düşük doz radyasyon. Tedavinin takibinde yararlıdır.
Seroloji	80-90	85-95	+	-	Epidemiyolojik amaçlı olabilir. Tedavi takibinde önerilmez.
Dışkı HP Antijeni	94	97	++	-	Tedavi öncesi ve sonrası aktif enfeksiyonu takip etmeye uygundur.

HÜT, hızlı üreaz testi; ÜNT, üre nefes testi; GB-PCR, gastrik biyopsi PCR;

*H.pylori*'nin varlığını göstermeye yönelik pek çok yöntem mevcuttur. Tanı için hangi yöntemin kullanılacağı ise amaca, laboratuvarın alt yapısına, maliyete ve uzman varlığına göre değişir (100-102).

### 2.8.1. nvaziv yöntemler

#### 2.8.1.1. Hızlı üreaz testi

Mide biyopsi örneklerinden *H.pylori*'nin dolaylı olarak saptanmasında bakterinin fazla miktarda üreaz salgılamaya yeteneğinden yararlanılır. Üreaz temelli testlerin duyarlılığı midedeki bakteri yoğunluğu ile ilişkilidir (103). Üre içeren katı, yarıkatı veya sıvı ortamlar mevcuttur. *H.pylori* üreazı ortamdaki üreyi amonyak ve bikarbonata parçalar. Amonyum ile pH artar ve pH indikatörü ile ortamın rengi değişir (104,105). Ticari veya laboratuvarda hazırlanan üreaz testleri bulunmaktadır. "CLO test", "HUT test" ve "Hp fast" agar içeren ticari kitlere örneklerdir. Konsantre (% 10'luk) üre içeren laboratuvarda hazırlanan üreaz testi 15 dakikada, hızlı sonuç verir (104).

Gastrit ve duodenal mukozada *H.pylori* yamasal da ılım gösterebilece i için tanı için alınan örnek sayısının artması ile HÜT'ün tanı de erinin artar. Gastrik biyopsi örnek sayısının artması ile de testin duyarlılı nın arttı ı bilinmektedir. Normal ko ullarda *H.pylori* varlı nda HÜT testinin 24 saat içinde pozitifle ir. Biyopsi örnek sayısının artması ile testin takip süresi kısadır (106).

#### 2.8.1.2. Histopatolojik inceleme

*H.pylori* infeksiyonlarında histolojik tanı dokudaki inflamasyonun ve varsa prekarsinojen de i imlerin iddetini belirlemek amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu testlerin duyarlılık ve özgüllü ü çe itli faktörlerin etkisi altında olmakla beraber sırası ile <% 90 ve >% 95'dir. Bu oranlar biyopsi ve ara tırmacıya ait faktörler tarafından de i ir. Muhtemel örnekleme hataları mikroorganizmanın farklı kolonizasyon yo unlu una ba lı olabilir. nfekte midede pilorun küçük kurvatüründen alınan örneklerde pozitif bulma ansı % 90'ın üzerine çıkmaktadır. Duyarlılık antrum ve gövdeden en az iki örnek alınması ile arttırılabilir. Kullanılan boyama yöntemi de sonuçları etkiler. Sıklıkla, modifiye Giemsa, Warthin-Stary, modifiye McMullen ve Gimenez gibi histokimyasal veya IFAT ( mmün Floresan Antikor Testi) ve IP ( mmün Peroksidaz) gibi immunohistokimyasal boyalar kullanılmaktadır. mmunohistokimyasal boyalar histolojik muayenede en duyarlı ve özgül metodlar olup altın standarttır (102,107).

#### 2.8.1.3. Kültürde izolasyon

*H.pylori* tanısında kültür altın standart yöntemlerden biridir. Antimikrobiyal duyarlılık testlerine olanak sa lar ve kültürle elde edilen su tiplendirme yöntemlerinde, ileri ara tırmalarda kullanılabilir (108,109). Ancak *H.pylori*'nin inkubasyon periyodu uzundur (3-12 gün). Di er bakteriler gibi, kültürde üreyebilmesi için canlı olması gerekmektedir. Örnek toplama ve laboratuvara ula tırma da bakterinin kültürde üreyebilmesi için önemli basamaklardır. Bakteri genelde antrumda kolonize oldu undan, biyopsi örnekleri antrumdan alınır. Düzensiz da ılımı nedeniyle alınan

biyopsi örneğinde bakteriye rastlanmayabilir. Kültür için iki biyopsi örneğinin alınması ve taze hazırlanmış besiyerine ekilmesi tavsiye edilmektedir. *H.pylori* tedavisi bakterinin midedeki dağılımını değiştirebilir. Bu yüzden tedavi sonrası kontrol biyopsisi alınacaksa veya hasta anti-sekretuar ilaç kullanmışsa fundustan da biyopsi alınmalıdır. Biyopsi örneği hızla laboratuvara ulaştırılmalıdır. En uygun transport sıcaklığı 10°C'nin altıdır, bakteri oksijene duyarlıdır. 4°C'de tuzlu su veya % 20'lik glikoz çözeltisinde 4 saatten az saklanabilir. Daha uzun (24 saat) saklanacaksa Stuart, Portagerm pylori (bioMérieux, France) gibi transport ortamları kullanılmalı ve 4°C'de saklanmalıdır. Biyopsi örneği 24 saatten uzun süre saklanacaksa -70°C veya sıvı nitrojen kullanılmalıdır (109). *H.pylori*'yi kültürde üretebilmek için çeşitli seçici ve seçici olmayan besiyerleri mevcuttur. At kanı, at serumu veya koyun kanı eklenmiş beyin kalp infüzyon agar, brucella agar, Tryptone Soya agar, Columbia agar veya Skirrow's agar kültürde kullanılan besiyerleridir (61,110,111). Besiyerine, diğer mikroorganizmaların üremesini engellemek için *H.pylori* suşlarının birçokunun doğal dirençli olduğu antibiyotiklerden vankomisin, trimetoprim, amfoterisin B, sefsulodin, polimiksin eklenebilir.

#### 2.8.1.4. Moleküler tanı yöntemleri

Son yıllarda moleküler biyolojik tanı yöntemleri *H.pylori* biyolojisi, enfeksiyonlarının tanısı, spesifik virulans faktörlerinin tayini, konakta ortaya çıkan cevabın genetik temeli, antibiyotik direncinin belirlenmesi, eradikasyon tedavisinden sonraki tekrarlayan enfeksiyonların nedeninin tespit edilmesi ve kültürde üretilmeyen kokoid formların tanımlanması gibi amaçlar için yoğun olarak kullanılmaktadır. Ancak nükleik asit amplifikasyon bazlı teknikler, canlı ve ölü bakteri ayırımını yapamadıkları için yalancı pozitif sonuçlar verebileceklerinden eradikasyon tedavisinin takibinde önerilmemiştir. *H.pylori* izolatlarında moleküler tanı yöntemleri kullanılarak belirlenen gen mutasyonları, suşların coğrafik ve etnik dağılımlarının yanı sıra kolonize toplulukların etnik geçimlerini tayinde de önemli bilgiler üretmiştir. Moleküler yöntemlerle, kültür ortamlarında üretilen bakterilerin yanı sıra, tükrük ve diş plakları,

mide sıvısı ve biyopsi örnekleri ile dı kı gibi örneklerde de *H.pylori* su larına ait spesifik nükleik asit dizilerini direkt olarak ara tırmak mümkündür (107).

#### 2.8.1.4.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Moleküler yöntemler, özellikle PCR *H.pylori*'nin mide biyopsi, tükürük, dental plak, dı kı gibi klinik örneklerden tanısında kullanılır (104,112-113). Moleküler testlerin muhtemel klinik kullanım alanları; tedavi sonrası nüksü, reinfeksiyondan ayırma, bakteri sayısının az oldu u dental plak, dı kı gibi örneklerden tanımlama ve klinik önemi olan DNA mutasyonlarını saptamadır. Ayrıca *cagA*, *vacA*, *iceA* gibi virulans faktörlerinin saptanabilmesi ve canlı bakteriye gereksinim duyulmaması önemli avantajlarıdır.

#### 2.8.1.4.2. Real time polimeraz zincir tepkimesi ( RT-PCR)

“Real-time” PCR yeni bir teknik olup TaqMan yöntemi gastrik mukozadaki bakteri miktarını saptamada kullanılmı tır. “Real-time PCR”ın di er bir kullanım alanı da 23S rRNA'nın peptidiltransferaz bölgesinde bulunan A2142C, A2142G ve A2143G nokta mutasyonlarıyla olu an Klaritromisin direncinin direk olarak ve kısa sürede saptanmasıdır (114-116).

#### 2.8.1.4.3. Floresan in situ hibridizasyon (FISH)

*H.pylori* ribozomal RNA'sının çoklu kopyaları ile oligonükleotidlerinin tanımlanmasının spesifik DNA-DNA hibridizasyonuna ba lıdır. Floresan boyalarla i aretli oligonükleotidler, bakteriyel hücreye penetre olur ve hedef sekansa ba lanır. Bu

teknik ile *H.pylori*, hayvan modellerinde ya da *H.pylori* ile enfekte bireylerin gastrik biyopsi örneklerinde floresan mikroskopisi ile saptanabilmektedir.

#### 2.8.1.4.4. DNA enzim immün assay

DNA enzim immün assay; amplifiye örneklerin solid faz immobilizasyonu için spesifik biyotinlenmiş problemleri kullanan bir tekniktir.

#### 2.8.1.4.5. Moleküler tiplendirme yöntemleri

Tıbbi olarak önemli birçok bakteri türü gibi *H.pylori* de biyokimyasal testler (biyotiplendirme), yüzey yapısal özellikleri (serotiplendirme) veya moleküler parmak izi analizlerine göre alt gruplara ayrılır.

### 2.8.2. Non-Invaziv tanı testleri

#### 2.8.2.1. Üre nefes testi (ÜNT)

ÜNT, birçok çalın mada altın standart yöntemlerden biridir. Ağız yoluyla alınan <sup>13</sup>C veya <sup>14</sup>C i aretli üre, *H.pylori* ile enfekte kişilerde bakterinin üreaz enzimi ile parçalanır. Oluşan i aretli CO<sub>2</sub>'in solunum havasında tespit edilmesi esasına dayanır. Duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksek tanı testi olmasının yanı sıra; eradikasyon tedavisinin izleminde de kullanılmaktadır. Diğer bir gastrik *Helicobacter* olan *H. heilmannii* yanlış olumlu sonuçlara neden olabilir. Antibiyotik tedavisi, bizmut tuzlarının kullanımı, H<sub>2</sub> reseptör blokeri veya proton pompa inhibitörlerinin kullanımı ise yanlış olumsuz sonuçlara neden olabilir (104).

### 2.8.2.2. Serolojik yöntemler

Serolojik testler ilk uygulanan non-invaziv testlerdir. Hastaların serumunda, plazmasında ve sekresyonlarında IgG antikorlarının tespiti için geliştirilmiştir. Bu testler mikroorganizma ile teması işaret eder, ancak halen hazırda devam etmekte olan bir enfeksiyonu göstermezler. *H.pylori* antikorları tedavi edilen hastalarda bile en az bir yıl kanda ölçülebilir seviyelerde kalmaya devam eder. Buna karşılık, testlerdeki antijen kalitesi ve uygulama farklılığı gibi sebeplerle özellikle de çocuklarda serolojik testlerle olguların % 20-30'una yanlış negatif tanı konur. *H.pylori* tanısında ilk kullanılan serolojik test ELISA'dır (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Onaltı farklı ticari ELISA kiti kullanılarak yapılmış 21 çalışmaya ait metaanaliz sonuçları; bu testlerin duyarlılığının % 85, özgüllüğünün de % 79 olduğunu göstermiştir. Testlerin doğruluk oranı da % 78 (68-82) olarak bulunmuştur. Duyarlılık ve özgüllüğü artırmaya yönelik çabalar sonucu vacA ve cagA gibi klinik ve patolojik önemi olan spesifik proteinlere karşı antikor cevabını ölçebilen ELISA, Rekombinant IB ve Western Blot (WB) gibi yeni serolojik yöntemler geliştirilmiştir (102,107).

### 2.8.2.3. Dışkıda antijen arayan testler (*H.pylori* Stool Antigen Tests)

Dışkıda *H.pylori* antijenlerini tespiti yönelik testler non-invaziv testler arasında yer alan ÜNT'ye en iyi alternatif olarak görülmektedir. Dışkıda *H.pylori* antijenlerini tespit amacı ile kullanılan ve ticari olarak geliştirilmiş iki temel sistem bulunmaktadır. Bunlardan ilki tavşanlardan elde edilen poliklonal antikorların kullanıldığı "Premier Platinum HpSA" (Meridian Diagnostics, Inc., Cincinnati, Ohio) olup, poliklonal antikorlar kullanılmaktadır. Bu testin, yüksek özgüllük göstermesine karşılık, özellikle bakteri yoğunluğunun düşük olduğu örneklerde duyarlılığı genellikle düşük bulunmuştur. Diğer test ise monoklonal antikor kullanımının kullanıldığı "FemtoLab *H.pylori*" (Connex GmbH, Martinsried, Germany) test kitidir. FemtoLab *H.pylori* HpSA'dan daha duyarlı ve benzer özgüllükte bulunmuştur. Bu testlerin duyarlılıkları lot bazında değişmekte ve kullanılan antijenler bilinmemektedir. 260 kDa ağırlığındaki *H.pylori* katalaz enziminin antijen olarak kabul eden monoklonal antikorun kullanıldığı

yeni bir antijen testi daha geli tirilmi tir. Katalaz antijeninin tüm hastaların dı kısında görülen 3 antijenden birisi olması nedeni ile bu testin duyarlılık ve özgülü ünün oldukça yüksek oldu u bildirilmi tir (102,107).

## 2.9. H.pylori'nin Tedavisi

20. yüzyılın basından beri, peptik ülser patogenezinde “no acid, no ulcer” kavramı, *H.pylori*'nin ülser patogenezindeki önemli yerinin tanımlanması ile geçerlili ini yitirdi. Asit varlı ı ülserde hala önemli olsa da, *H.pylori* infeksiyonunun sa altımı ülser tedavisi için gereklidir (117). Peptik ülser tedavisinde asit baskılayıcı tedavinin yanında e er *H.pylori* mevcutsa mutlaka tedavi yapılmalıdır (6,118).

*H.pylori* infeksiyonu eradikasyonunda infeksiyonun tekrarlama oranı çok dü üktür (105). Birçok tedavi rejimi klinik olarak basit ve ba arılı olmasına ra men, tedavi başarısızlı ı gözlenebilmektedir. Bu nedenle *H.pylori* infeksiyonunun kolaylıkla eradike edilemedi i ve çoklu ilaç tedavisine gereksinim duyuldu u bildirilmektedir (117).

deal tedavi; ucuz, yüksek oranda başarı, uygulama basitli i, iyi tolere edebilme ve çok az yan etki gözlenmesi gibi özelliklere sahip olmalıdır. Tüm bu kriterlere sahip olan tedavi rejimi olmamasına ra men, tedavilerin ço u iyi tolere edilebilir ve etkilidir (117).

Hiçbir eradikasyon tedavisi %100 etkili de ildir. Tedavi ba arısı % 80 civarında olmalıdır. Bu da hastanın uyumuna, tedavinin süresine ve bakterinin antibiyotiklere direnç durumlarına ba lı olarak de i mektedir (119). *H.pylori* eradikasyonu güç olan bir mikroorganizmadır. n vitro olarak pek çok antibiyoti e duyarlı olmasına ra men, in-vivo olarak tek ilaç ile eradikasyon pek mümkün de ildir. Bunun sebepleri;

- Dirençli hatta birden fazla ilaca dirençli su ların bulunabilmesi
- Midenin bo alması ile ilaçların midede kalı sürelerinin kısalması
- Mukusun lümen ve epitel tarafındaki pH farklılıkları
- Özellikle asit pH'larda stabilitenin sa lanamaması
- Bakterinin mukusun derin tabakalarına yerle mesi

Çalı maların bir kısmında *H.pylori* infeksiyonunun GÖRH'e kar ı koruyucu bir rolü olmadı ı gösterilirken (120), bir kısmında da bu organizmaya ba lı infeksiyonun



reflü hastalığını ortaya çıkarabileceği veya daha önce var olan reflü hastalığını alevlendirebileceği vurgulanmıştır (121). Batı toplumunda *H.pylori* infeksiyonunun sıklığındaki azalmayla birlikte GÖRH insidansının artması, *H.pylori* infeksiyonunun GÖRH gelişimine karşı koruyucu rol oynayabileceği ekinde bir düüncenin ortaya çıkmasına yol açmıştır. EHPSG'nin 2005 yılı uzlaşma raporuna göre *H.pylori* eradikasyonunun gastroözofageal reflüye neden olmadığı kabul edilmektedir. Reflü hastalarında rutin olarak *H.pylori* için test önerilmemektedir. Ancak uzun süre proton pompa inhibitörü (PPI) kullanılmayan hastalar için *H.pylori* eradikasyonunun faydalı olacağı ifade edilmiştir. PPI'lar ile derin asit baskılanması sağlandığında özellikle korpus baskın gastriti olan bireylerde gastrik bezlerdeki hasarlanmanın artabileceği, atrofik gastrit ve potansiyel olarak gastrit kansere neden olabileceği nedeniyle reflü özofajiti tanısıyla uzun dönem PPI alan düüncülen hastalar için inflamasyonu geriletmek amacıyla öncesinde *H.pylori* için eradikasyon verilmesi faydalı olacaktır (6). Bugün için kabul gören bir görüş GÖRH'ün iddeti ile *H.pylori* varlığı arasında tersine bir ilişki olduğunu ekindedir. Çalışmalara göre Asya toplumlarındaki GÖRH ile *H.pylori* prevalansı arasında negatif bir ilişki olduğu söylenebilirse de bu ilişkinin doğası açıklanamamaktadır (6).

*H.pylori*'nin tedavisinde EHPSG, eradikasyon tedavisi için endikasyonlarını belirlemiştir (Tablo 2.2).

**Tablo 2.2:** Maastrich 3-2005 Konsensüs raporuna göre, *H.pylori* eradikasyon tedavisi vereceğimiz endikasyonlar

Tavsiye Edilen Endikasyonlar	Bilimsel Delil Seviyesi
1. DÜ veya GÜ (aktif veya komplikasyon içermeyen)	1
2. MALT Lenfoma ( midede)	2
3. Atrofik Gastritis	2
4. Dispepsili Hastalar	2
5. NSA	1-2
6. Birinci Derecede Ailesinde Mide Kanseri Olanlar	3
7. GÖRH	3
8. Daha Önce Mide Ameliyatı Olanlar	3
9. Hasta Bizzat Kendisi için Tedavi Arzu ediyorsa	4
10. Açıklanamayan Demir Eksikliği Anemisi	3-4

### **2.9.1. H.pylori tedavisinde kullanılan ajanlar**

*H.pylori* enfeksiyonunun tedavisindeki amaç mikroorganizmayı tamamen elimine etmektir. Bu nedenle günümüzde *H.pylori*'ye etkili antibiyotiklerin yanı sıra mide asit sekresyonunu inhibe eden ajanlarda kullanılmaktadır.

#### **2.9.1.1. Anti-sekretuar ajanlar**

Anti-sekretuar ajanlar etiyojisine bakılmaksızın ülserin iyileşmesini hızlandırır. Asit gidericiler gibi ülserle ilişkili rahatsızlıkları azaltır ve oldukça güvenilir ajanlardır (117). H<sub>2</sub>-reseptör blokerleri geniş kullanımı olan anti-sekretuar ajanlardır. Parietal hücrelerde H<sub>2</sub> reseptöründe histaminin geri dönüşümlü inhibitörleridir. H<sub>2</sub>-reseptör blokerleri *H.pylori*'ye karşı antibakteriyal aktivite göstermezler (117). Proton pompa inhibitörleri, gastrik parietal hücrelerin lümeninde hidrojen potasyum ATPaz pompasında asit sekresyonunu geri dönüşümsüz olarak bloke eder. Bu pompa, hidrojen iyonlarının gastrik lümenine salınması ve gastrik salgının düşük pH çevresel karakteristliğini yaratarak parietal hücre mikrovillus membranında karlı hidrojen ve potasyum denge imini sağlar. PPI bağlanır ve lümen içi gastrik pH'yı arttırarak ATPazı inhibe eder. PPI'ler, H<sub>2</sub>-reseptör blokerlerinden daha iyi pH kontrolü yapabilen en etkili anti-sekretuar ajanlardır (117). *In vitro* çalışmalarda omeprazol, lansoprazol ve pantoprazolün *H.pylori* üzerine bakteriyostatik etkili oldukları gösterilmiştir. Ancak etki mekanizmaları çok açık değildir.

#### **2.9.1.2. Antimikrobiyal ajanlar**

*H.pylori* enfeksiyonu tedavisinin temelini bakterinin duyarlı olduğu antimikrobiyal ajanlar oluşturur. Antibiyotiklerin etkinlikleri, mide asiditesi ile azaldığından bunların asit baskılayıcı bir ilaçla birlikte verilmesi gerekmektedir. Kiya

da daha fazla antibiyotigin birlikte kullanılması, eradikasyon başarı oranını artırır ve dirençli suşların olma riskini azaltır (105).

#### 2.9.1.2.1. Klaritromisin

*H.pylori*'ye karşı in vitro olarak en iyi antimikrobiyal etkiye sahip ajanlardan biridir. Bakteriyal ribozomlara bağlanarak protein sentezini bozan ve bakteriyal hücre ölümüne neden olan, aside en dayanıklı ve en düşük minimal inhibisyon konsantrasyonuna (MIC) sahip bir makroliddir (117). Klaritromisin gastrik mukozada yüksek konsantrasyonlarda bulunur, pH düzeyinden etkilenmez ve *H.pylori* için düşük MIC değerine sahiptir. *H.pylori* ribosomuna yüksek derecede bağlanması açısından önemli bir makroliddir.

#### 2.9.1.2.2. Amoksisilin

*In vivo* olarak bakterisidal etkili asit dayanıklı semisentetik penisilindir. Amoksisilinle, ampicilinin 2 katı kadar yüksek kan konsantrasyonu sağlanır. Bunlar tek başına kullanılırlarsa eradikasyon %20'yi geçmez. Amoksisilin antimikrobiyal aktivitesi pH bağımlıdır, pH artarsa MIC azalır. Amoksisilin konsantrasyonu antral mukozada en yüksektir, korpus mukozasında ve mukus tabakasında daha düşük düzeyde bulunur (117).

#### 2.9.1.2.3. Nitroimidazoller

*H.pylori* tedavisi için en çok metronidazol ve tinidazol kullanılır. Metronidazole direnç oranları giderek artmaktadır. Jinekolojik ve paraziter infeksiyonların tedavisinde yaygın kullanılmaları, direnç oranlarının beklenenden de yüksek olabileceğini

dü ündürmektedir (122). Metronidazol, mikroaerofilik mikroorganizmalara seçici olarak toksik etkili bir nitroimidazoldür. Metronidazol bir ön ilaçtır ve mikroorganizmanın yıkımı ve sitotoksik ürünlerin üretimine neden olan ilaçların kimyasal olarak reaktif indirgenmi bir formudur. Metronidazol aktivitesi pH ba ımsızdır (117).

#### · 2.9.1.2.4. Tetrasiklin

Tetrasiklin aktivitesi gastrik asiditeden ba ımsızdır. *H.pylori* eradikasyonunda tetrasiklin için dünya genelinde <% 1 direnç oranı bildirilmektedir (117). Sıklıkla 2. basamak tedavide 4'lü tedavi kapsamında kullanılırken, klaritromisin direncinin yüksek oldu u bölgelerde 1. basamak tedavide de kullanılabilir.

#### 2.9.1.2.5. Kinolonlar

Tek ba larına kullanıldıklarında % 10 etkilidirler ancak üçlü tedavide ba arı oranını artırır (122). Bu amaçla kinolon olarak siprofloksasin, levofloksasin, gatifloksasinin kullanıldı ı çalı malar mevcuttur. 9-16 saatlik yarılanma ömrü, renal atılımı, günde tek doz kullanım kolaylığı ve düşük yan etki profili nedeniyle sıklıkla levofloksasin tercih edilmektedir (123,124). Levofloksasin direnciyle ilgili farklı ülke ve bölgelerden farklı sonuçlar alınmıştır. Levofloksasin içeren tedavi rejimleri sıklıkla 2. ve 3. basamak tedavide kullanılırsa da 1. basamak tedavide kullanıldı ı çalı malar da mevcuttur.

#### · 2.9.1.2.6. Bizmut

*H.pylori*'ye karşı direkt olarak bakterisidal etkili topikal bir ajandır. Bizmut organizmanın üreaz aktivitesi inhibe eder ve bakterinin gastrik epitelyal hücrelerde hızla

yakalanmasına yol açabilir ve hızla bizmut tuzları ile kaplanan bakterinin lizisine neden olur (125,126). Bizmut tuzlarına karşı herhangi bir direnç geli mi yoktur (127,128).

### **2.9.2. Tedavinin düzenlenmesi**

*H.pylori* infeksiyonu tedavisi için uygun rejimin seçilmesi için ilgili ilaçlar için, maaliyetinin, kullanım artlarının, etkinli inin, yan etkilerinin, toplumdaki antibiyotik direncinin, dozunun, kullanım süresinin ve pH ba ımlı olup olmadı ının bilinmesi gereklidir.

Günümüzde peptik ülser hastalarında *H.pylori*'nin uzun dönem eradikasyonu çe itli antibiyotik kombinasyonları ile sa lanabilmektedir. Anti-sekretuar ilaçlara dirençli gastrik ve duodenal ülserde infeksiyonun tedavisiyle ülserin iyile mesi hızlanmakta, gastrik asit süpresyonuna gereksinimi azalmakta ve en önemlisi rekürrenslere ve ülser geli imine karşı koruma sa lanmaktadır. *H.pylori*, ba arılı bir şekilde eradike edildi inde gastrik ve duodenal ülser rekürrensi 1 yıl içerisinde % 10'un altına dü mektedir (129). 1994 yılında "US National Institutes of Health Consensus Conference", "Avrupa Çalışma Grubu" ve "Avrupa Gastroenteroloji Primer Tedavi Birli i" tarafından *H.pylori* ile enfekte tüm ülserli hastaların antimikrobiyallerle tedavisini önermi tir ve bunun maliyet etkinli i yönünden oldukça faydalı oldu u tanımlanmı tır. Bununla birlikte birçok ülkede ulusal tedavi rehberleri hazırlanmamı tır. İlk olarak 1997 yılında Maastricht konsensus raporuyla çe itli öneriler getirilmi ve bu öneriler Maastricht 2-2000 konsensus raporuyla yeniden düzenlenmi ve güncellenmi tir. Bu rehberlerde kimlerin nasıl tedavi edilece i tanımlanmaktadır (11). Maastricht 3-2005 konsensus raporuyla günümüzdeki son düzenleme yapılmı tır (6). Hastaların tedavisi için önerilen anahtar strateji "test et, tedavi et" yaklaşımıdır ve bu yaklaşım, alarm semptomu olmayan, NSAII kullanmamı , persistan dispepsisi olan 45 ya altı hastalarda önerilmektedir. Bu ya , bölgesel gastrik kanser görülme ya ına göre de i ebilmektedir. Bununla birlikte fonksiyonel dispepsisi olan hastalarda *H.pylori*'nin rolü ve tedavi ile ilgili tartışmalar hala devam etmektedir. Bu grup hastalarda ılımlı bazen de önemli yarar sa lanabilece i ifade edilmi tir. nfeksiyonun eradikasyonu ile uzun dönem semptomların sürmesinin önlenilece i gibi peptik ülser, atrofik gastrit ve gastrik kanser geli im riski de azalmı olacaktır (6). *H.pylori* prevalansının dü ük

oldu u (<% 20) bölgeler için PPI ile ampirik tedavi ya da “test et ve tedavi et” seçene i geçerlidir, e it etkinlikte oldu u ifade edilmi tir (6).

#### 2.9.2.1. Birinci basamak tedavi

*H.pylori*'nin gastrik mukoza ve mukus tabakasına yerle imi nedeniyle tedavisinde çeşitli zorluklarla kar ıla ılmaktadır. Birçok antibiyotik gastrik mukozadan çok zayıf sekrete edilmekte veya midenin asit pH'sında inaktive olmaktadır. Bu nedenle in-vitrodaki aktivite bazı durumlarda *in-vivo*'da görülmemektedir. Son 15 yıl boyunca antibiyotik, PPI ve bizmut içeren çeşitli ilaçların birçok kombinasyonu denenmi tir. Birçok durumda da oldu u gibi ideal tedavinin, uygulaması kolay, ucuz, minimum yan etkiye ve yüksek eradikasyon oranına sahip olması arzu edilmektedir. Bu kriterlere dayanarak Maastricht 3-2005 konsensus raporunda antibiyotiklerle beraber PPI'ın kullanıldı ı çe itli kombinasyon tedavileri önerilmi tir (6).

Standart doz PPI (2x1) + amoksisilin (2x1000mg) veya Metronidazol (2x400-500mg) + Klaritromisin (2x500mg) 10-14 günlük tedavi rejimidir. Ancak bu tedavinin, Klaritromisin direncinin % 15-20'den az oldu u toplumlarda kullanılması önerilmektedir. Metronidazol direncinin % 40'ın altında oldu u toplumlarda PPI + Klaritromisin + Metronidazol de (daha çok penisilin alerjisi olanlarda önerilebilir) kullanılabilir.

Ancak, direnç sorunu nedeniyle pek çok ülkede ve bölgede direnç profili ve etkinlik ile ilgili çalı malar halen sürmektedir. deal alternatif tedavi rejimleri olu turulmaya çalı ılmaktadır. Bizmut bazlı dörtlü tedavi rejimi de birinci sıra tedavi olarak kullanılabilir. Bizmut subsalisilat (4x525mg) + Metronidazol (4x250-500mg) + Tetrasiklin (4x500mg) + standart doz PPI (2x1) 10-14 gün süreyle kullanılabilir. Bu durum ülkemiz için de geçerlidir.

Bir meta-analizin sonuçlarına, ilk konsensus raporlarında 7 gün olarak belirlenen tedavi rejimini süresinin artık 14 gün olarak belirlenmesiyle eradikasyon oranında yakla ık olarak % 12'lik bir artı elde edilebilmektedir (130)

Eradikasyon ba arısının giderek dü mesi ve dünya genelinde kar ıla ılan antibiyotik direnci problemi nedeniyle ardı ık tedavi rejimleri gündeme gelmi tir. Ardı ık tedavide standart doz PPI (2x1) + amoksisilin (2x1000mg) 5 gün süreyle verildikten sonra standart doz PPI (2x1) + klaritromisin (2x500mg) + tinidazol

(2x500mg) olarak verilmektedir (131). Bu ardı ık tedavi ile klaritromisin yerine levofloksasinin (2x250mg) kullanıldı ı tedavi rejimleri de mevcuttur. Yapılan bazı çalı malarda levofloksasin içeren ardı ık tedavinin eradikasyon oranının klaritromisin içeren tedavinin eradikasyon oranına göre daha üstün oldu u gösterilmi tir (131,132).

Üçlü standart birinci basamak tedavi ile hastaların yakla ık % 50'sinde yan etkiler gözlenmi tir ancak % 10'dan azında yan etkiler nedeniyle ilacın kesilmesi gündeme gelmi tir (133). En sık kar ıla ılan yan etkiler sıklıkla tat duyusunda farklıla ma ve diyaredir. Amoksisilin, sıklıkla cilt döküntüsü ile birlikte olabilen allerjik reaksiyona ve diyareye neden olabilir. Klaritromisin, tat duyusunda de i iklik yapmanın yanı sıra, bulantı, kusma, karın a rısı ve nadiren de QT uzaması durumuna neden olabilir (134). Metronidazol ile nöbet, periferik nöropati, etanol ile geli en disülfram reaksiyonu geli ebilir. Metronidazol ile antikoagülan, lityum ve fenitoin gibi ilaçların kan düzeylerinin artabilece i bilinmelidir (134).

Retrospektif olarak 3637 hastanın dahil edildi i ülke genelindeki bir çalı mada 1996 ile 2005 yılları arasında eradikasyon oranları % 79.4, % 83.7, % 81, % 81, % 75, % 61, % 65, % 65, % 55 ve % 61 olarak saptanmı tir. Bu dönemdeki eradikasyon süreleri 7-10-14 gündür. Genel popülasyonda tedavi süresinin eradikasyon ba arısı üzerinde belirgin etkili olmadı ı sonucuna varılmı ; ancak 14 günlük tedavinin kullanıldı ı dönemler 2003-2005 arasındadır. 14 günlük tedaviler, daha çok eradikasyon ba arısının dü tü ü son yıllarda yapılmı tir. Subgrup analizinde son yıllar içinde 14 günlük ve 7 günlük tedavi rejimleri kar ıla tırıldı nda eradikasyon oranları sırasıyla % 62.5 ile % 47.7'dir. Eradikasyon sırasında kullanılan PPI'nin (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, esomeprazol kullanılmı ) ya da eradikasyon gerekçesinin eradikasyon ba arısında etkin olmadı ı görülmektedir. Bu 10 yıllık epidemiyolojik verilerinin derlenmesi sonucunda 2000 yılından sonra Türkiye'de eradikasyon ba arısının ciddi ekilde dü tü ü gözlenmektedir (135).

Alternatif tedavi olarak pek çok tedavi yakla ımı denenmi tir. Çin'de 1926 hasta üzerinde, 11 klinik ara tırmanın verileri incelendi inde birinci sıra tedavide klaritromisin yerine levofloksasin verilmi . Levofloksasin içeren rejimin daha üstün oldu u, etkin ve güvenli oldu u gösterilmi tir (136,137). Moksifloksasin'in kullanıldı ı birinci basamak tedavi ile klaritromisinin kullanıldı ı tedavi rejimleri kar ıla tırıldı nda moksifloksasin kullanan grupta eradikasyon ba arısı % 84 iken klaritromisin içeren grupta bu oran % 73.6 olarak saptanmı tir. Furazolidonlar ise birinci tedavi için ucuz ve etkin bir seçenektir. Furazolidonlar, standart 3'lü tedavi ile

kar ıla tırıldı nda eradikasyon ba arısı oranları sırasıyla % 81.4 ile % 71.7 olara saptanmı tır. Ancak bu nitrofuran türevine ula mak her zaman mümkün de ildir (138). Daha çok talya'dan gelen çalı malar do rultusunda 10 günlük ardı ık tedavinin standart 3'lü tedaviye üstün oldu u gösterilmi se de bunun do rulu unun di er toplumlarda da gösterilmesi için daha fazla çalı maya ihtiyaç vardır (139-141). Bizmut içeren 4'lü rejimin standart tedaviden daha üstün ama ardı ık tedaviden daha az etkin oldu u söylenebilir (142,143).

Fluorokinolonların in vitro ortamda *H.pylori*'nin büyümesini etkin ekilde inhibe etti i gösterilmi tir. Levofloksasin içeren tedavi rejimlerinin birinci sıra tedavide kullanıldı ı pek çok çalı ma vardır. *H.pylori* eradikasyonunda kullanılabilen di er fluorokinolonlar ise garenoksasin, gatifloksasin, moksifloksasin, trovafloksasin gibi ajanlardır (144,145).

2009'da Taiwan'da 432 hasta üzerinde yapılan 7 günlük levofloksasin ve 7 günlük klaritromisin içeren tedavilerin etkinliklerinin kar ıla tırıldı ı bir randomize çalı mada eradikasyon ba arı oranları sırasıyla % 74 ve % 83 saptanırken, bu tedavi rejimleri 2.basamak tedavi olarak kullanıldıklarında bu oranlar sırasıyla % 76 ve % 60 olarak saptanmı tır (146). 2007-2008'de Hong Kong'da 300 hasta üzerinde yapılan bir çalı mada 7 günlük klaritromisin içeren üçlü tedavi ile levofloksasin içeren üçlü tedavi kar ıla tırılmı , bu çalı mada levofloksasin 1x500 mg dozunda kullanılmı sırasıyla eradikasyon ba arı oranları sırasıyla % 92 ve % 85 olarak saptanmı tır (147). talya'da 2008-2009'da yapılan 375 hasta üzerinde yapılan bir ba ka çalı mada levofloksasin içeren ardı ık tedavi rejiminin ba arısı 250 mg levofloksasin ve 500 mg levofloksasin ile sırasıyla %96 ve 98 olarak saptanmı tır (131). 2010' da Zagreb, Hırvatistan'da 150 *H.pylori* pozitif hastaya birinci basamak tedavi olarak moksifloksasin içeren 3'lü tedavi 7 ve 10 günlük rejim planıyla verilmi , 138 hasta çalı mayı tamamlamı . Eradikasyon ba arıları sırasıyla % 84 ve % 90 olarak saptanmı tır. Bu çalı mada primer moksifloksasin direnci % 6 olarak saptanmı tır (148).

2008'de Türkiye'de Ege Bölgesinde 63 hasta üzerinde yapılan bir çalı mada Levofloksasin içeren 14 günlük ardı ık tedavi rejimi ile eradikasyon oranı % 82 olarak saptanmı tır (149). 2010 yılında Türkiye'den yayınlanan, Ankara'da 91 hasta üzerinde yapılan bir çalı mada birinci basamak tedavi için levofloksasin içeren üçlü tedavi 7 ve 14 olmak üzere hastalara verilmi , eradikasyon ba arı oranları sırasıyla % 34 ve % 72 olarak saptanmı tır (150). Levofloksasin içeren üçlü tedavinin daha çok birinci



basamakta ba arısızlık olması durumunda kullanılmasını öneren çalı malar da mevcuttur (146).

#### 2.9.2.2. kinici basamak tedavi

u anki etkin tedavi rejimlerine ra men hastaların % 20-30'unda *H.pylori* eradikasyonu ba arısız olmaktadır. Ba arısızlık genellikle bakteriyel direnç veya hastanın tedaviye zayıf uyumu nedeniyle olmaktadır. Birinci basamak tedavinin ba arısız oldu u durumlarda kullanılacak tedavi ekli u an kesinlik kazanmamı tır. Fakat Maastricht 3-2005 raporunda, PPI ve bizmut, metronidazol ve tetrasiklin içeren 4'lü tedavi önerilmektedir (6). Hem klaritromisin hem de metronidazole direnç varlı ı ikincil tedavideki en büyük sorundur. Metronidazole kar ı gösterilebilen in vitro direncin sıklıkla in vivo direnci yansıtmayaca ı unutulmamalıdır. Bu nedenle klaritromisin için geçerli olabilen tedavi öncesi metronidazol direnci bakılması önerilmemektedir. Bizmutun pek çok ÷lkede bulunamıyor olması sorunun ba ka bir boyutudur. Bu durumda bizmutun kullanılmadı ı PPI (2x1) + Tetrasiklin (4x500) + Metronidazol (4x250-500mg) kullanılabilir.

#### 2.9.2.3. Üçüncü basamak (kurtarma) tedavisi

Kurtarma tedavileri antibiyotik direnç profillerine göre belirlenmelidir. Öncelikle levofloksasin olmak üzere fluorokinolonların, furozolidin, rifabutin veya rifampisin kullanıldı ı tedavi rejimleri mevcuttur. Burada, bir anti-tüberkükoz etkinli i olan rifabutin, tüberkülozun yaygın oldu u bölgelerde öncelikle tercih edilmemesi, kullanılacaksa dikkatli olunması vurgulanmaktadır. Levofloksasin ile ilgili iyi eradikasyon oranları bildirilse de (151,152) daha sonra levofloksasin ile yapılan bazı çalı malarda levofloksasin direncinin % 20'lere ula tı ını göstermi tir. Probiyotiklerin *H.pylori* tedavisine alternatif olarak kullanıldı ı birçok çalı ma yapılmı fakat yeterli düzeyde ba arılı bulunmamı tır (153).

**Tablo 2.3 :** Helicobacter pylori için önerilen tedavi rejimleri

<p style="text-align: center;"><b><u>B R NC BASAMAK TEDAV</u></b></p> <p style="text-align: center;">Standart doz PPI (2x1) Amoksisilin (2x1000mg) veya Metronidazol (2x400-500mg) Klaritromisin (2x500 mg) 10-14 gün</p> <p style="text-align: center;"><b><u>Ardı ık Tedavi (Birinci Sırada Alternatif)</u></b></p> <p style="text-align: center;">Standart doz PPI (2x1) + Amoksisilin (2x1000 mg) 5 gün süreyle Ardından standart doz PPI (2x1) + Klaritromisin (2x500mg) + Tinidazol (2x500mg) 5 gün süreyle.</p> <p style="text-align: center;"><b><u>K NC BASAMAK TEDAV **</u></b></p> <p style="text-align: center;">Bizmut subsalisilat (4x525mg) Metronidazol (4x250-500mg) Tetrasiklin (4x500mg) Standart doz PPI (2x1) 10-14 gün süreyle</p> <p style="text-align: center;"><b><u>Üçüncü Basamak Tedavi (Kurtarma Tedavisi)</u></b></p> <p style="text-align: center;">Antibiyotik duyarlılık testleri sonrasında belirlenmesi uygundur *</p>
---

## 2.10. Antimikrobiyal Direnç

*H.pylori*, glikopeptidlere, cefsulidine, polimiksinlere, nalidiksik aside, trimetoprim, sulfonomidlere, nistatine, amfoterisin B'ye, sikloheksimide do al olarak dirençliyen sefsulidin dı ı beta laktamlara, fosfomisine, makrolidlere, aminoglikozidlere, tetrasikline, kloramfenikole, rifampisine, fluorokinolonlara, 5-nitroimidazollere duyarlıdır (154).

Avrupa Helicobacter Çalı ma Grubu'nun 1997'de önerdi i eradikasyon rejimi ile ba langıçta % 80-90 olan eradikasyon ba arısı artık günümüzde % 70-80'lere, hatta bazı ülkelerde ve bölgelerde % 60 düzeyine dek inmi tir (135,155).

Di er infeksiyonlar için de sık kullanılan, klaritromisin ve metronidazol ba ta olmak üzere antibiyotikler için geli en direnç sorunu eradikasyon ba arısının azalmasıdaki en büyük etkidir. Eradikasyon ba arısını azaltan di er nedenler ise;

hasta uyumsuzluğu, yetersiz süre ve dozda ilaç kullanımınıdır. *H.pylori*'nin antibiyotik duyarlılığı genellikle E-test, agar dilüsyon ve disk difüzyon gibi kültür temelli metotlarla antibiyotiklerin MIC düzeylerinin saptanmasında kullanılmaktadır. Ancak zaman alıcıdır ve sonuçları dikkatli gösterir. Hücre geçirgenliği, inokülasyon miktarı, inkübasyon şartları ve büyüme ortamı gibi faktörler sonucu etkileyebilir. Moleküler temelli metodlar bu faktörlerden bağımsızdır ve alternatif yöntemlerdir. Bu testler tekrarlanabilir sonuçlar verir ve kolaylıkla standardize edilir. Ayrıca, kültür temelli testlerden daha hızlıdır ve gastrik biyopsi örneklerine direkt olarak uygulanabilir. Zaman, sonuç üst G S endoskopinin yapıldığı gün elde edilebilir (154). *H.pylori*'de antibiyotik direnci oldukça yaygındır, prevalansı ülkelere, bölgelere göre farklılık gösterirken, direnç oranları artışı göstermektedir.

Metronidazol direnci *H.pylori*'de en yaygın antimikrobiyal dirençtir. Gelişmekte olan ülkelerde *H.pylori*'de metronidazol direnç oranı yüksek olmasına karşın, endüstriyel ülkelere *H.pylori* suşlarının yaklaşık %35'i metronidazol dirençlidir ve bazı bölgelerde ise çoğu *H.pylori* suşları metronidazol dirençlidir. Bu jinekolojik, dental ve paraziter hastalıklarda nitroimidazol ve Metronidazolün yaygın kullanımıyla ilişkili kildir (154,156). Makrolidlerin toplumda yaygın olarak kullanılıyor olması direnç gelişimi için kolaylaştırıcı bir faktördür. Japonya'da 1993-2000 yılları arasında eritromisin kullanımında 4 kat artış bildirilirken eş zamanlı *H.pylori* direncinin de bu yıllarda 4 kat kadar arttığı bilinmektedir. Levofloksasin direnci de klaritromisin gibi o bölgenin ilaç kullanım alışkanlıklarından, farklılıklardan etkilenir. Burada DNA gyraz A genindeki mutasyonların direncin ana nedeni olduğu düşünülmektedir(65).

*H.pylori*'de klaritromisin direncinin prevalansı Metronidazol direncine göre daha yüksektir. Endüstriyel ülkelere *H.pylori* suşlarının yaklaşık % 10'u klaritromisin dirençlidir. Gelişmekte olan ülkelere, klaritromisine karşı direnç oranı daha yüksektir ve % 25-50 arasında değişmektedir (154). Klaritromisin direnci Amerika'da % 5-14, Avrupa'da % 10'un üzerinde bildirilmektedir (117,157). Son yıllarda ülkemizde bu direnç oranı, bir çalıda % 16,8, diğer çalılarda ise % 52-56 olarak bildirilmiştir (158-160).

Taiwan'da 2007 yılında yapılan bir çalıda primer amoksisilin, klaritromisin ve metronidazol dirençleri çalılımlı ve sırasıyla % 36,1, % 13,5 ve % 51,9 olarak saptanmıştır (161). Metronidazol direnci Avrupa genelinde % 15-40 arasında iken USA'da % 20-35, Meksika'da % 76, Brezilya'da % 53, Japonya'da % 9-12 ve Kore'de % 40 düzeyindedir (163-171). Dünya genelinde amoksisilin ve tetrasiklin direnci %

1'den azdır (163-171). *H.pylori*'de amoksisilin direnci ve tetrasiklin direncinin 20. yüzyılın sonlarına kadar olmadığı ya da çok ender olduğu bildirilmiştir. *H.pylori*'de amoksisilin ve tetrasiklin direncinin insidansının özellikle bu antibiyotiklerin reçetesiz elde edilebildiği belli coğrafik bölgelerde arttığı görülmektedir. 2006'da, 65 hastanın biyopsi örneklerinde primer antibiyotik dirençlerinin incelendiği Kore'de yapılan bir çalışmada amoksisilin direnci % 18.5, klaritromisin direnci % 13.8, tetrasiklin direnci % 12.3, siprofloksasin direnci % 33, levofloksasin direnci % 21.5, moksifloksasin direnci %21 olarak saptanmıştır (192). Belçika'da, Fransa'da, İtalya'da ve Almanya'da primer siprofloksasin ve levofloksasin direnci % 16.8-23 arasında bulunmuştur (61,111,173,174). 2010'da İran'ın Kuzey bölgesinde 132 hastanın biyopsi örnekleri incelenmiştir, klaritromisin direnci % 30, amoksisilin direnci % 6.8, tetrasiklin direnci ise % 9 olarak saptanmıştır (175). Çin'de 2000-2009 yılları arasında 293 izolatın incelendiği bir çalışmada; klaritromisin (% 8.6, % 9 ve % 20.7) ve levofloksasin (%10.3, % 24, %32.5) için giderek artan dirence dikkat çekilmiştir (176).

### **2.10.1 Türkiye'de antimikrobiyal direnç durumu**

Türkiye'de ise *H.pylori*'nin epidemiyolojik özellikleri ve direnç durumları ile ilgili yapılan bir çalışmada *H.pylori*'nin daha çok erken yaşlarda kazanıldığı, erişkin nüfusun yaklaşık olarak % 70-80'inde *H.pylori* enfeksiyonunun olduğu bildirilirken 1999-2001'de e-test yöntemiyle 66 *H.pylori* izolatında klaritromisin direnci % 24 saptanmıştır. 2001 yılından sonraki dönemde bu oranın % 37'ye yükseldiği gösterilmiştir (58,177). 1997-2005 yılları arasında bir başka çalışmada klaritromisin direnci % 8.8.-24.2 olarak saptanmıştır (177). Ege Bölgesi'nde yapılan bir çalışmada 2005 yılında Real-time PCR (RT-PCR) ile klaritromisin direnci % 35 olarak saptanırken bu çalışmada standart eradikasyon tedavisi ile eradikasyon başarısı oranı % 81.3 olarak saptanmıştır (178). Yine Ege Bölgesinde RT-PCR ile 110 hasta üzerinde klaritromisin direnci % 48.2 olarak saptanmıştır (179). 2009'da Bursa'da yapılan bir çalışmada 31 *H.pylori* suşuna ait antibiyotik direnç profili incelenmiştir, amoksisilin, klaritromisin, tetrasiklin ve siprofloksasin için direnç durumu sırasıyla %3.2, %41, % 3.2 ve % 45 olarak saptanmıştır (180). 2005-2006 arasında Mersin'de 37 *H.pylori* izolatından PCR yöntemi ile klaritromisin direnci çalışılmış ve % 40.5 olarak saptanmıştır (181).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Hastalar

Çalı maya alınan hastalar, Sütçü mam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dalı poliklini ine Ocak 2013 - Haziran 2013 tarihleri arasındaki 6 aylık süre içerisinde dispeptik yakınmalar ile başvuran hastalardan, daha önce *H.pylori* için eradikasyon tedavisi almamı , üst G S endoskopi gereklili ine karar verilmi hastalar arasından dahil edilme ve dı lanma kriterlerine uygun olarak seçildi.

Çalı maya, KSÜTF etik kurul onayı alındıktan sonra ba landı. Çalı maya alınan tüm hastalardan bilgilendirilmi onam formu alındı.

#### Çalı maya dahil edilme kriterleri a a ıdaki gibidir:

- Dispepsi nedeniyle üst G S endoskopisi planlanan
- Eri kin ya taki (>17ya ),
- Daha önce *H.pylori* için eradikasyon tedavisi almamı hastalar

#### Çalı madan dı lanma kriterleri a a ıdaki gibidir:

- Üst gastrointestinal sistem kanaması bulunan,
- Gebelik ya da emzirme döneminde olan,
- Gastroduodenal cerrahi öyküsü olan
- *H.pylori* eradikasyonunda kullanılması planlanan antibiyotiklerden herhangi birine kar ı alerji öyküsü bulunan,
- Çalı madan 12 hafta öncesine kadar antibiyotik ve/veya proton pompa inhibitörü (PPI) kullanmı olan ve daha önce *H.pylori* eradikasyonu uygulanmı olan hastalar.

#### 3.2. Endoskopi İlemi, Biyopsi Örneklerinin Alınması ve Ta nması

Çalı maya alınan hastaların üst G S endoskopileri yapıldı. Her i lemden önce fiberoptik endoskop ve biyopsi forsepsleri %2 lik gluteraldehit solusyonunda 5-20 dk.

süreyle dezenfekte edildi. Gluteraldehit *H.pylori*'nin canlılığını yitirmesine neden olabileceğinden endoskop ve forseps iyice distile su ile yıkanarak gluteraldehitten arındırıldı. Üst G S endoskopi bulguları not edildikten sonra, hastalardan kültür ve duyarlılık testi için midenin antrum ve korpus bölgesinden birer örnek alınırken, PCR için de birer örnek alındı. Ayrıca HPL inceleme amacıyla da bir olmak üzere toplamda 5 adet biyopsi alındı.

Biyopsi örnekleri % 3 gliserin içeren Beyin Kalp infüzyon Buyyonu (BHIB) içerisine alınarak en geç 2 saatte laboratuvara ulaştırıldı ve *H.pylori* genotiplenmesi için kullanılmak üzere ekstrakte edilene kadar -20 °C'de saklandı.

### **3.2.1. Beyin kalp infüzyon buyyonu**

Biyopsi örneklerinin laboratuvara taşınması amacıyla kullanıldı (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England). Hazır toz besiyerinden 37 gram alınıp 1000 ml distile suda çözülerek, otoklavda 121 °C'de 15 dakikada steril edildi. Üzerine otoklavda steril edilmiş gliserinin alt fazından son konsantrasyonu % 3 olacak şekilde eklenerek karıştırıldıktan sonra tüplere iki her ml döküldü.

## **3.3. Biyopsi örneklerinin Mikrobiyolojik Açıdan İncelenmesi**

### **3.3.1. Fenotipik inceleme**

Antrum ve korpus örneklerinden birer tanesi *H.pylori*'nin kültür ortamında izolasyonu ve antibiyotik duyarlılık tespiti için kullanılırken, ikinci örneklerden ekstrakte edilen DNA genotipik incelemede kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı.

#### **3.3.1.1. Kültür ortamında *H.pylori* izolasyonu**

Fenotipik inceleme için ayrılmış biyopsi örnekleri steril cam baget yardımı ile mekanik olarak parçalandıktan sonra *H.pylori* izolasyonu için, %7 at kanı, Helicobacter

*pylori* selective supplement “Dent” (Oxoid, Hampshire, England) ve Vitox supplement (Oxoid, Hampshire, England) içeren modifiye Columbia Agar (HIMEDIA, India) besiyerlerine ekildi. Besiyerleri % 80 N, % 15 CO<sub>2</sub> ve % 5 O<sub>2</sub> içeren mikroaerofilik atmosfer sağlayan GasPak Campy container system (Becton, Dickinson and Company, USA) ilaveli kavanozda 37 °C’de 4-7 gün süre ile inkübe edildi. inkübasyon periodu sonunda, besiyerlerinde üreyen 0.3-0.5 mm çaplı, gri, opak, non-hemolitik, S tipi koloni oluşturan gram negatif vibriolar oksidaz ve üreaz enzim aktiviteleri yönünden araştırılarak *H.pylori* tanısına gidildi.

### 3.3.1.2. Antibiyotik duyarlılık tespiti

Kültürde izole edilen *H.pylori* suşlarına bir antibiyotik duyarlılık testi olan E-test yapıldı. E-test, üzerine konulan agar içerdiği antibiyotik konsantrasyonunun hızlı, düzenli ve stabil olarak difüze olmasını sağlayan bir strip’tir. Strip’in üzerinde antibiyotik konsantrasyonunu gösteren bir çizelge bulunur. inkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonunun, E-test strip’ini kestiği noktada çizelge üzerinde yazan konsantrasyon değeri, MİK değeri gösterir.

Çalışmamızda amoksisilin, klaritromisin, tetrasiklin ve levofloksasin E-test strip’leri kullanıldı. Saf olarak elde edilen *H.pylori* kültürlerinden alınan kolonilerle Brucella sıvı besiyeri içinde McFarland 3 bulanıklığına göre hazırlanan bakteri süspansiyonundan %7 at kanlı Mueller Hinton Agar yüzeyine steril eküvyonla sürülerek ekim yapıldı. Test edilen dört antibiyotik için ayrı birer plak kullanıldı. Steril penset yardımıyla alınan E-test strip’leri plaklara yerleştirildi. Bütün işlemler bakteri süspansiyonu hazırlandıktan sonra 15 dakika içinde tamamlandı. Plaklar mikroaerofilik ortamın (% 5 O<sub>2</sub>, % 10 CO<sub>2</sub>, % 85 N<sub>2</sub>) CampyGen ile sağlandı, jarlara konularak 37°C’de 3-5 gün inkübe edildi. Kontaminasyon içeren plaklar çalışmadan çıkartıldı. inkübasyon sonunda elips şeklindeki inhibisyon zonunun E-test strip’i ile kesitiği noktaya karşılık gelen antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edildi. E-test yöntemi henüz standardize edilememiştir. Bu çalışmada British Society for Antimicrobial Chemotherapy’nin (BSAC) 2013 yılında belirlediği direnç sınırları kabul edildi (tablo 3.1).

**Tablo 3.1:** Kullanılan antibiyotikler ile ilgili referans alınan MIC değerleri

Antimikrobiyal Ajan	Duyarlı (S)	Orta Derecede Duyarlı (I)	Dirençli (R)
AMOX.	<b>0.12</b>	-	<b>0.12</b>
CLA.	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>0.25</b>
LEVO.	<b>1</b>	-	<b>1</b>
TETR.	<b>1</b>	-	<b>1</b>

AMOX, amoksisilin; CLA, Klaritromisin; LEVO, Levofloksasin; TETR, tetrasiklin.  
(BSAC 2013' e göre)

### **3.3.2. Genotipik inceleme**

Mide biyopsi örneklerinden DNA ekstraksiyonu yapıldı ve bu ekstraktlar önce *glmM* gen dizisinin tespiti yönünden spesifik primerler yardımı ile PCR yöntemi ile incelendi. *glmM* geni pozitif bulunan örnekler *H.pylori* pozitif kabul edilerek, onların DNA ekstraktları genotip tayini yönünden *cagA* ve *vacA* genlerinin tespiti için PCR, klaritromisin direncinin tespiti için PCR-RFLP, levofloksasin direncinin tespiti için de DNA Dizi Analizi yöntemleri ile değerlendirildi.

#### **3.3.2.1. Biyopsi örneklerinden DNA ekstraksiyonu**

Bu çalışmada biyopsi örneklerinden *H.pylori* DNA'sının ekstraksiyonu için QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) doku ekstraksiyon kiti kullanıldı.

##### **3.3.2.1.1. Uygulama**

1. Yaklaşık 25 mg doku örnekleri 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine alındı. Bunların üzerine 180 µl ATL buffer (doku lizis tamponu) ve 20 µl pK (proteinaz K) eklenip vortekslendi ve 56 °C'de bir gece bekletilerek tam olarak erimesi sağlandı.



2. inkübasyondan sonra kısaca santrifüj (short spin) edildi (kapakta sıvı kalmaması için). Üzerine 200 µl AL buffer (guanidine hydrochloride + guanidine tuzları) eklenip 15 sn pulse vorteks yapıldı ve 70 °C'de 10 dk bekletildi. Kısaca santrifüj (short spin) edildi.
3. Üzerine 200 µl etanol (% 96-100) eklenip 15 sn pulse vorteks yapıldı. Kısaca santrifüj (short spin) edildi.
4. Karım 2 ml'lik toplama tüpü içindeki QIAamp spin kolonlara kenarlarını ıslatmadan boşaltıldı ve 6000 x G'de 1 dk santrifüj edildi (HERAEUS Biofuge Primo R). Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, içi sıvı dolu olan tüp atıldı.
5. Filtrenin üzerine kenarlarını ıslatmadan 500 µl AW1 buffer (yıkama solusyonu: guanidium isothiocyanate + ethanol) eklenip 6000 x G'de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, içi sıvı dolu olan tüp atıldı.
6. Filtrenin üzerine kenarlarını ıslatmadan 500 µl AW2 buffer (yıkama solusyonu: yüksek konsantrasyonda tuz + ethanol + sodium azide) eklenip 20000 x G'de 3 dk santrifüj edildi (Eğer istenirse, spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarılır, içi sıvı dolu olan tüp atılır ve bu adıma tekrar edilir).
7. Spin kolon yeni temiz bir 1.5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarıldı. Üzerine 200 µl AE buffer veya distile su eklendi ve oda ısısında 1 dk bekletilip, 6000 x G'de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon atıldı ve tüpteki sıvıda DNA kaldı (istenirse, bu adıma tekrarlanabilir).

Ekstrakte edilmiş DNA içeren tüpler, Optimum-One UV-VIS spektrofotometre (Chebios, Rome, Italy) ile 260 nm dalga boyunda DNA yoğunluğundan incelendi ve yoğunluklarının amplifikasyonlar için yeterli olduğu (>3 µg/ml) tespit edildi. Daha sonra bu tüpler araştırılacak olan gen bölgelerinin amplifikasyonları tamamlanmaya kadar -20 °C'de saklandı.

### 3.3.2.2. PCR yöntemi ile *H. pylori* ve genotip tespiti

#### 3.3.2.2.1. Amplifikasyon

Amplifikasyon adımlarının gerçekleştirilmesi için Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems, CA, USA 2720 Thermal Cycler) kullanıldı.

### 3.3.2.2.1.1. H.pylori glmM geninin amplifikasyonu

*glmM* geninin varlığını PCR ile göstermek için bu gene ait 294 bp uzunluğundaki fragmenti hedef alan glmM1-F (5'-AAG CTT TTA GGG GTG TTA GGG GTT T-3') ve glmM2-R (5'-AAG CTT ACT TTC TAA CAC TAA CGC-3') primerleri kullanıldı (Tablo 3.2). Amplifikasyon 10 mM Tris-HCl [pH 8.3], 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, herbir dNTP'den 200 µM, herbir primerden 25 pmol, 2.5 U *Taq* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon şartları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

1. 94 °C'de 4 dak. - ilk denaturasyon
  2. 93 °C'de 1 dak. - denaturasyon
  - 55 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing)
  - 72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)
  3. 72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)
- } 35 döngü

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi ve *glmM* geni pozitif bulunan örnekler *H. pylori* pozitif kabul edilerek genotipik incelemelerde kullanıldı.

### 3.3.2.2.1.2. cagA geninin amplifikasyonu

*cagA* varlığını PCR ile göstermek için bu gene ait 349 bp uzunluğundaki gen bölgesini hedef alan *cagA*-F1 (5'-GAT AAC AGG CAA GCT TTT GAG G-3') ve *cagA*-B1 (5'-CTG CAA AAG ATT GTT TGG CAG A-3') primerleri kullanıldı (Tablo ...). Amplifikasyon 10 mM Tris-HCl [pH 8.3], 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, herbir dNTP'den 200 µM, herbir primerden 25 pmol, 2.5 U *Taq* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon şartları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

1. 95 °C'de 4 dak. - ilk denaturasyon
  2. 94 °C'de 1 dak. - denaturasyon
  - 55 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing)
  - 72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)
  3. 72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)
- } 35 döngü

### 3.3.2.2.1.3. *vacA* geninin amplifikasyonu

*vacA* varlığını PCR ile göstermek amacıyla bu gene ait 259 bp veya 286 bp uzunluğundaki gen bölgesini hedef alan ve bu gen için son derece spesifik olan VacAva1-F (5'-ATG GAA ATA CAA CAA ACA CAC-3') ve VacAva1-R (5'-CTG CTT GAA TGC GCC AAA C-3') primerleri kullanıldı (Tablo ...). Amplifikasyon 10 mM Tris-HCl [pH 8.3], 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, her bir dNTP'den 200 µM, her bir primerden 25 pmol, 2.5 U *Taq* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon amaçları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

1. 95 °C'de 4 dak. - ilk denatürasyon
  2. 94 °C'de 1 dak. - denatürasyon
  - 52 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing)
  - 72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)
  3. 72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)
- } 35 döngü

Tablo 3.2. Çalışmamızda kullanılan primerler.

Gen	Primer	Primer Dizisi <sup>a</sup> (5' – 3' yönünde)	PCR Ürününün Boyutu (Konum)
<i>glmM</i>	glmM1-F glmM2-R	AAG CTT TTA GGG GTG TTA GGG GTT T AAG CTT ACT TTC TAA CAC TAA CGC	294 bp (784-1077)
<i>cagA</i>	CagA-F1 CagA-B1	GAT AAC AGG CAA GCT TTT GAG G CTG CAA AAG ATT GTT TGG CAG A	349 bp (1228-1576)
<i>vacA</i>	VA1-F VA1-R	ATG GAA ATA CAA CAA ACA CAC CTG CTT GAA TGC GCC AAA C	259 bp (797-1055) 286 bp (284-569)
<i>23S rRNA</i>	CRF-4 F CRR-1 R	AGTGGAGGTGAAAATTCC TAAGAGCCAAAGCCCTTAC	135 bp (2108-2242)
<i>gyrA</i>	gyrA-F gyrA-R	TTTRGCTTATTCMATGAGCGT GCAGACGGCTTGGTARAATA	428 bp (75-502)

### 3.3.2.2.2. Agaroz jel elektroforezi

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile ara tırıldı. Hem tank tamponu olarak, hem de agaroz jelinin hazırlanmasında TBE tamponu kullanıldı. TBE (Tris, Borik asit, EDTA) konsantre ekinde (10xTBE) stok solusyon olarak hazırlandı ve gerektiğçe, 1xTBE olacak ekilde sulandırıldı.

#### 3.3.2.2.2.1. 10xTBE tamponunun hazırlanması

108 gr Tris-Base

55 gr Borik asit

8.3 gr EDTA

eritilip distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı (pH: 8.8).

#### 3.3.2.2.2.2. Uygulama

1. 10xTBE 1xTBE ekinde sulandırıldı.
2. Eridi inde % 2'lik jel olu turacak ekilde agaroz tartılıp bir balon içerisine konuldu.
3. Üzerine 1xTBE tamponu (% 2'lik jel olu turacak hacimde) ilave edilerek mikrodalga fırında eritildi.
4. Bir süre bekleterek (60 °C'nin altına dü meyecek ekilde) so utuldu.
5. çerisine etidyum bromid (30 ml'lik jel için 3-4 µl (10 mg/ml'lik stok) yeterlidir) eklenerek karı tırıldı.
6. Önceden hazırlanmı ve tarakları uygun olarak yerle tirilmi jel kalıp tepsisinin üzerine yava ç dökülüdü.
7. Oda sıcaklı nda 20-30 dk bekletilerek katıla ması sa landı.
8. Jel kalıbı tanka (OWL Separation Systems Model B2 Mini Gel Electrophoresis System) yerle tirilerek taraklar yava ç çıkarıldı.
9. Örneklerden 5'er µl alınarak parafilm üzerinde 3 µl yükleme tamponu (% 20 sükröz, % 0.25 brom fenol mavisi (1xTBE ile hazırlanmı )) ile karı tırılarak, açılan her kuyuya bir örnek olacak ekilde konuldu ( lk kuyuya DNA markeri yüklenir).
10. Tankın güç kayna ı (LABNET International Power Station 300) ( ekil 3.1) çalı tırılarak 80 mA – 120 V akım verildi.
11. Brom fenol mavisinin migrasyonu takip edilerek jelin 2/3'lik kısmına ula tı nda elektroforez durduruldu.

12. Jel tanktan çıkarıldı ve Jel Logic 1500 Imaging System (Kodak, New) jel görüntüleme sistemi ile görüntülenerek incelendi.

### 3.3.2.3. Klaritromisin direncinin PCR-RFLP yöntemi ile tespiti

Klaritromisin direncinden sorumlu tutulan nokta mutasyonlarını PCR-RFLP yöntemi ile belirlemek için, *H. pylori* pozitif DNA örnekleri önce *23S rRNA* gen bölgesine özgül oligonükleotid primerlerle amplifiye edildikten sonra *MboII* and *Eco3II* restriksiyon enzimleri ile kesildi ve bant profiline göre de erlendirildi.

#### 3.3.2.3.1. *H.pylori 23S rRNA* gen bölgesinin amplifikasyonu

Klaritromisin direncinden sorumlu tutulan nokta mutasyonlarını PCR-RFLP yöntemi ile belirlemek için önce *23S rRNA* gen bölgesinde 135 bp uzunlu undaki bir kısmı hedef alan CRF-4 F (5 -AGTGGAGGGTGAAAATTCC-3 ) ve CRR-1 R (5 -TAAGAGCCAAAGCCCTTAC-3 ) primerleri kullanılarak daha önce tanımlandı ı ekilde amplifikasyon yapıldı. Amplifikasyon 10 mM Tris-HCl [pH 8.3], 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, herbir dNTP'den 200 µM, herbir primerden 50 pmol, 2.5 U *Taq* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karı ımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon a amaları a a ıdaki ekilde tamamlandı:

4. 95 °C'de 5 dak. - ilk denaturasyon
  5. 94 °C'de 1 dak. - denaturasyon
  - 53 °C'de 1 dak. - ba lanma (annealing)
  - 72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)
  6. 72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)
- } 40 döngü

### 3.3.2.3.2. Restriksiyon enzimleri ile muamele

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendikten sonra A2142G and A2143G nokta mutasyonlarını tespit etmek için sırasıyla *MboII* and *Eco31I* restriksiyon enzimleri (Fermentas, USA) ile muamele edildi. *MboII* enzimi A2142G mutasyonuna sahip PCR ürünlerini 51 ve 84 bp'lik, *Eco31I* ise A2143G mutasyonuna sahip PCR ürünlerini 34 ve 101 bp'lik iki parçaya kesmek amacı ile kullanıldı. Restriksiyon ürünleri etidyum bromürlü % 3.5'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi.

### 3.3.2.4. Levofloxasin direncinin DNA dizi analizi yöntemi ile tespiti

Fenotipik olarak levofloxasin direnci tespit edilen ve *glmM*-PCR ile pozitif bulunan DNA örnekleri (antrum ve korpus) ile fenotipik olarak levofloxasin direnci tespit edilemeyen ve *glmM*-PCR ile pozitif bulunan DNA örnekleri (antrum ve korpus) levofloxasin direncinden sorumlu tutulan nokta mutasyonlarını tespit amacı ile DNA Dizi Analizi Yöntemi ile incelendi.

#### 3.3.2.4.1. *H.pylori gyrA* gen bölgesinin amplifikasyonu

*H. pylori gyrA* genine ait 428 bp uzunlu undaki fragmenti hedef alan *gyrA*-F (5'-TTT RGC TTA TTC MAT GAG CGT-3') ve *gyrA*-R (5'-GCA GAC GGC TTG GTA RAA TA-3') primerleri kullanıldı. Amplifikasyon 10 mM Tris-HCl [pH 8.3], 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, herbir dNTP'den 200 µM, herbir primerden 25 pmol, 2.5 U *Taq* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon amaçları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

7. 94 °C'de 4 dak. - ilk denaturasyon
  8. 93 °C'de 1 dak. - denaturasyon
  - 54 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing)
  - 72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)
  9. 72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)
- } 35 döngü

#### 3.3.2.4.2. PCR ürünlerinin safla tırılması

PCR ürünlerinin safla tırılmasında, dizi analizi tepkimelerini etkileyen, ortamda kullanılmayan nükleotit ve primerlerin uzakla tırılması amaçlanmıştır. *GyrA*-PCR ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile doğrulandıktan sonra "SentroPure® PCR ürünü safla tırma & jelden DNA ekstraksiyon Kiti" (Sentromer) safla tırma sistemi ile protokol'de önerildiği şekilde safla tırıldı.

1. Steril 1,5 ml tüp içerisine, her 1µl PCR ürünü için 4µl SG solüsyonu (DNA immobilizasyonunu sağlar, pH 6,6) eklendi ve 15 saniye vortekslendi.

2. Karışım SentroSpin kolonuna (Aritma filtresi içeren ve toplama tüpünün içine yerleştirilen kolon) aktarıldı, MiniSpin Plus (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) cihazında 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi ve toplama tüpünde toplanan sıvı döklüldü.

3. Sentrospin kolonuna 500µl Solüsyon SW (DNA'nın arıtılmasını sağlar, pH 7,5) eklendi, 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi ve toplama tüpünde toplanan sıvı döklüldü. İşlem tekrarlandı.

4. Arıtma işleminden sonra SentroSpin kolonu 13000 rpm'de 1 dakika boş olarak santrifüj edilerek kalan etanol uzakla tırıldı.

5. Sentrospin kolonu 1,5 ml'lik temiz bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilerek başlangıç PCR ürünü miktarı kadar Solüsyon SE (DNA'nın toplanmasını sağlar, pH 8,5) eklendi. SE solüsyonu kolonun tam ortasına eklendi. Oda sıcaklığında 3 dakika bekletildi ve 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek saf DNA toplandı.

Bu safla tırılma DNA örnekleri spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda DNA kantitasyonu (3-10 ng) yapıldıktan sonra dizi analizi çalışmalarında kullanılmaya kadar -20°C'de saklandı.

#### 3.3.2.4.3. Dizi analizi çalışmaları

Burada örneklerin, "ABI Prism 310 Genetic Analyzer" (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) otomatize sistemi kullanılarak, "F.Sanger'in dideoksi zincir sonlandırma yöntemi" prensiplerine göre dizi analizi yapıldı.

### 3.3.2.4.3.1. F. Sanger'in dideoksi zincir sonlandırma yöntemi

Bu yöntemde dizisi belirlenecek olan DNA ipliği yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılır. DNA'nın çoğaltılmasında Taq DNA polimeraz, ters transkriptaz veya sequenaz enzimlerinden birisi kullanılabilir.

Yöntemin temeli DNA polimerazın dNTP'lerin (deoksiribonükleozit trifosfat) yanısıra deoksiribozun 3' pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP'leri de (dideoksiribonükleozit trifosfat) substrat olarak kullanabilmesine dayanır. ddNTP'ler 3' uçlarında hidroksil grubu yerine H atomu içerdiğinden DNA polimerazın aktivitesinin durmasına neden olur ve bu da hibridizasyon sırasında zincir uzamasının durmasına yol açar.

Otomatize DNA dizi analizi şu aşamalardan oluşmaktadır:

1. Özgül primerin dizi analizi yapılacak hedef DNA kalıbına tutunması
2. Floresan boyalı ddNTP ve dNTP'lerin karışımına ilave edilerek DNA polimeraz aktivitesiyle yeni kalıp DNA'ya komplementer DNA zincirinin sentezi
3. Yeni sentezlenen DNA iplikçisi'nin sekans-spesifik bir ddNTP ile sonlanması
4. Oluşan ürünlerin kapiller elektroforezde yürütülmesi

Zincir sonlandırma yöntemine dayanan otomatize DNA dizi analizinde PCR ile çoğaltılan saf haldeki hedef DNA ve bu DNA kalıbına tutunacak bir primer (5 pmol/μl olacak şekilde sulandırılmış olan forward veya reverse primer) kullanılmaktadır. DNA polimeraz enzimi bu karışıma eklendiğinde primerin tutunduğu kalıp deoksiribonükleotid trifosfat (dNTP) varlığında sentez reaksiyonunu başlatır. Reaksiyon tüpünde ayrıca herbiri farklı floresan boyalarla etiketlenmiş ddNTP'ler bulunmaktadır. Hibridizasyon sırasında ddNTP'ler yeni sentezlenen iplikçisi eklendiğinde sentez duracağından DNA zincirinin daha fazla uzaması engellenir. Sekans spesifik olarak sonlandırılan DNA dizileri kapiller elektroforez ile yürütülür. Bu işlem sırasında sonlanan her bir dizide bulunan ddNTP'lerin yaydığı farklı dalga boyundaki floresanslar sistemde bulunan dedektör tarafından kaydedilerek bilgisayar ortamında DNA dizilerine çevrilir.



#### **3.3.2.4.4. Dizi Analizi sonuçlarının de erlendirilmesi**

Dizi analizi ile elde edilen veriler, GenBank eri im numarası AE000511.1 olan *H.pylori* 26695 su unun ilgili bölgesi ile kar ıla tırıldı ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/6626253?from=752512&to=754995&sat=4&sat\\_key=72127904&report=gbwithparts](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/6626253?from=752512&to=754995&sat=4&sat_key=72127904&report=gbwithparts)).

#### **3.4. Doku Örneklerinin Mikroskopik ncelmesi**

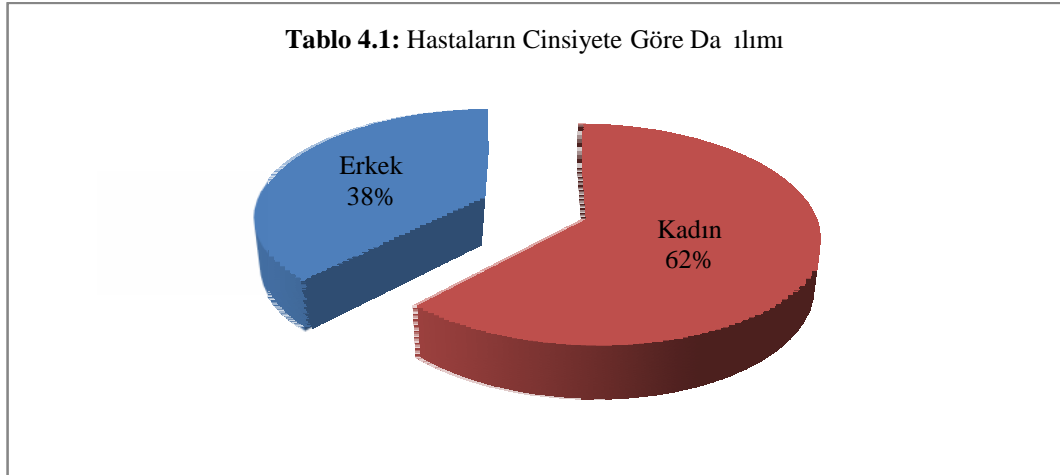
Biyopsi örneklerinden Giemsa boyama yöntemi ile *H.pylori* ara tırmak için iki adet temiz lamda ezilerek preparat hazırlandı. Preparatlar 2-3 dak. metil alkolde tespit edilerek Giemsa ile boyandı. Boyalı preparatlar mikroskopta 100x büyütmede incelendi. *H. pylori* koyu mavi boyanmış , spiral, martı kanadı veya S ekindeki kıvrık bakteriler ekinde görüldü.

#### **3.8. istatistiksel Analizler**

Ya ortalamalarının kar ıla tırılmasında student-T testi uygulandı. Cinsiyet, endoskopik ve genotipik bulguların da ılımının kar ıla tırılmasında ki-kare testi uygulandı. istatistiki de erlendirmeler, SPSS 21.0 paket programı ile yapıldı. P de eri, 0.05'in altındaki de erler anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

*H.pylori* genotiplerinin antibiyotik direnci ile ilişkiyi belirlemeyi amaçlayan çalışmamızda Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dalı polikliniğine Ocak 2013 - Haziran 2013 tarihleri arasındaki 6 aylık süre içerisinde dispeptik yakınmalar ile başvuran 64'ü (% 62.1) kadın, 39'u (% 37.9) erkek olmak üzere toplam 103 hastanın mide antrum ve korpusundan alınan biyopsi örnekleri değerlendirildi (Tablo 4.1). Hastaların yaşları 18 ile 77 arasında değişmekte olup yaş ortalaması  $47.7 \pm 15.9$  olarak saptanmıştır. Erkek hastaların yaş ortalaması 50.9 kadınların yaş ortalaması 44.4 idi.



Çalışmaya dahil olan hastalardan alınan biyopsi örneklerinin kültür yöntemiyle incelenmesi sonucunda 103 hastanın 58'inde (% 56.3) antrum ve/veya korpus örneğinde *H.pylori* pozitifliği saptandı.

*H.pylori* genini (294 bp uzunluğundaki spesifik fragmentini) hedefleyen PCR testi ile 47'si (% 73.4) kadın, 29'u (% 74.3) erkek olmak üzere toplam 76 (% 73.8) olguda örneklerin en az birinde *H.pylori*'nin mide kolonizasyonunu gösteren PCR pozitifliği tespit edildi.

*H.pylori* saptanmasında PCR duyarlılığı daha yüksek olduğu için istatistiksel değerlendirilmeler PCR sonuçlarına göre yapıldı. Cinsiyet yönünden *H.pylori* pozitif ve *H.pylori* negatif gruplar arasında istatistiksel fark saptanmadı. ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2:** Kadın ve erkek hastaların mide biyopsisi örneklerinden en az birinde glmM genini hedefleyen PCR testi ile *H.pylori* da ılımı.

Cinsiyet	glmM-PCR(+)		glmM-PCR(-)		Toplam
	Sayı	(%)	Sayı	(%)	
<b>Kadın</b>	47	(73.4)	17	(26.6)	64
<b>Erkek</b>	29	(74.3)	10	(25.7)	39
<b>Toplam</b>	76	(73.8)	27	(26.2)	103

Kültür yöntemi ile 44 (% 42.7) hastanın antrum örneğinden *H.pylori* izole edilirken, glmM genini hedefleyen PCR testi ile 65 (% 63.1) antrum örneğinde *H.pylori* için özgül DNA dizilerinin varlığı tespit edildi. Kültür ile antrum örneklerinde pozitiflik tespit edilen hastaların tamamında PCR de pozitif olarak bulundu ve sonuçta antrum örneklerinde kültür ve PCR ile *H.pylori* tespiti arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0.001$ ). Korpus biyopsi örneklerinde ise kültür yöntemi ile 40 (% 38.8), glmM PCR testi ile 63 (% 61.2) hastada *H.pylori* pozitifliği elde edildi (tablo 4.3).

Kültür ve PCR yöntemleri arasında antrum örneklerinde de olduğu gibi *H.pylori* pozitifliği için anlamlı fark saptandı ( $p<0.001$ ).

**Tablo 4.3:** Antrum ve korpus biyopsi örneklerinde kültür ve glmM-PCR ile saptanan *H.pylori* pozitifliğinin dağılımı

	Kültür (+)		GlmM-PCR (+)		p değeri
	Sayı	%	Sayı	%	
Antrum	44	42.7	65	63.1	$p<0.001$
Korpus	40	38.8	63	61.2	

### Hastaların Endoskopik Bulgularının Değerlendirilmesi

Endoskopik olarak örnek alınan hastaların çoğunda birden fazla endoskopik tanı bir aradaydı (Örneğin; pangastrit + bulbit + gastrik ülser + özofajit, gibi). Bu durumda istatistiksel olarak karmaşık olma durumu için endoskopik tanıların lokalizasyon ve

yaygınlığına göre 2 ana başlık üzerinden de değerlendirildi. Gastrik-duodenal ülser veya gastrik-duodenal mukozal hasarı olan hastalar (Grup A), herhangi bir gastroduodenal mukozal lezyonu olmayan sağlıklı mukozalı hastalar (Grup B). Araştırma bu tanı grupları üzerinden karşılaştırılmalı olarak yapıldı.

Endoskopik olarak incelenen 103 hastanın 40'ı (% 38.9) Grup A, 63'ü (% 61.1) ise Grup B olarak belirlendi. Genel olarak değerlendirildiğinde endoskopik bulguları Grup A olarak saptanan 40 hastanın 30'unda (% 75.0) *H.pylori* pozitif olarak, Grup B endoskopik bulguları olan 63 hastanın 46'sında (% 73.1) *H.pylori* pozitif olarak saptandı. Toplamda ise 103 hastanın 76'sında (% 73.7) *H.pylori* pozitifliği saptandı. (Tablo 4.4). Endoskopik bulgular ile *H.pylori* pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.4:** *H.pylori* pozitif ve negatif hastaların endoskopik tanıları yönünden dağılımları

Endoskopik Tanılar	<i>H.pylori</i>		Toplam n (%)	p
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)		
Grup A	30 (%75.0)	10 (%25.0)	40 (%100)	p>0.05
Grup B	46 (%73.1)	17 (%26.9)	63 (%100)	

\*Grup A; Gastrik-duodenal ülser veya gastrik duodenal mukozal hasarı olan hastalar

\*Grup B; Herhangi bir gastroduodenal lezyonu olmayan sağlıklı mukozalı hastalar

### Genotipik dağılım

Genotip dağılımı, alınan mide antrum ve/veya korpus biyopsilerinden PCR'da *H.pylori* pozitif saptanan hastalar üzerinden de değerlendirildi. Bu hastalar *cagA* ve *vacA* pozitif veya negatif olmasına göre de değerlendirildi.

Mide biyopsisi örneklerinden en az birinde glmM-PCR pozitif olan toplam 76 hastadan 73'ünde (% 96.0) *vacA* için spesifik olan 349 bp uzunlu undaki DNA fragmenti, 46 hastada (% 60.5) ise *cagA* için spesifik olan 259 bp veya 286 bp uzunlu undaki DNA fragmenti PCR testi ile biyopsi örneklerinden en az birinde pozitif olarak bulundu. Çalı maya alınan hastaların 46'sında ise hem *cagA* hemde *vacA* birlikte pozitif saptandı. *cagA* pozitif tüm olgularda *vacA* pozitifli i tespit edildi (tablo 4.5).

**Tablo 4.5:** PCR ile *H.pylori* pozitif saptanan olgularda virülans faktörleri

<b>Virulans Faktörleri</b>	<b>Pozitif n (%)</b>
<i>cagA</i>	46 (60.5)
<i>vacA</i>	73 (96.0)
<i>cagA</i> + <i>vacA</i>	46 (60.5)

*H.pylori* su larının 46'sının (% 60,5) *cagA* geni ta ımakta olan Tip I genotipinde (*cagA*+, *vacA*+) yer aldıkları, 24'ünde *vacA*<sup>+</sup>*cagA*<sup>-</sup> su ların, 6'sında da *cagA* ve *vacA* negatif su ların kolonize olduklarını göstermektedir. Toplamda 30 hastanın (% 39.5) Tip II genotipinde (*cagA*- ve *vacA*+/-) yer aldı ı belirlendi.

*H.pylori* pozitif olarak saptanan 30 Grup A endoskopik bulgulu hastadan 21'inde (% 70.0) *cagA* ve 29'unda (% 96.6) ise *vacA* örneklerden en az birinde pozitif iken, *H.pylori* pozitif 46 Grup B endoskopik bulgulu hastadan 25'inde (% 54.3) *cagA* ve 44'ünün (% 95.6) *vacA* yönünden örneklerden en az birinde pozitif oldu u görüldü (Tablo 4.6). Endoskopik bulgularla virulans faktörleri arasında istatikselsel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05).

**Tablo 4.6:** Endoskopik bulgularla virulans faktörleri arasındaki ili ki

	cagA		vacA	
	Sayı	(%)	Sayı	(%)
Grup A	21	70.0	29	96.6
Grup B	25	54.3	44	95.6

\*Grup A; Gastrik-duodenal ülser veya gastrik duodenal mukozal hasarı olan hastalar

\*Grup B; Herhangi bir gastroduodenal lezyonu olmayan sağlam mukozalı hastalar

### Histopatolojik Verilerin De erlendirilmesi

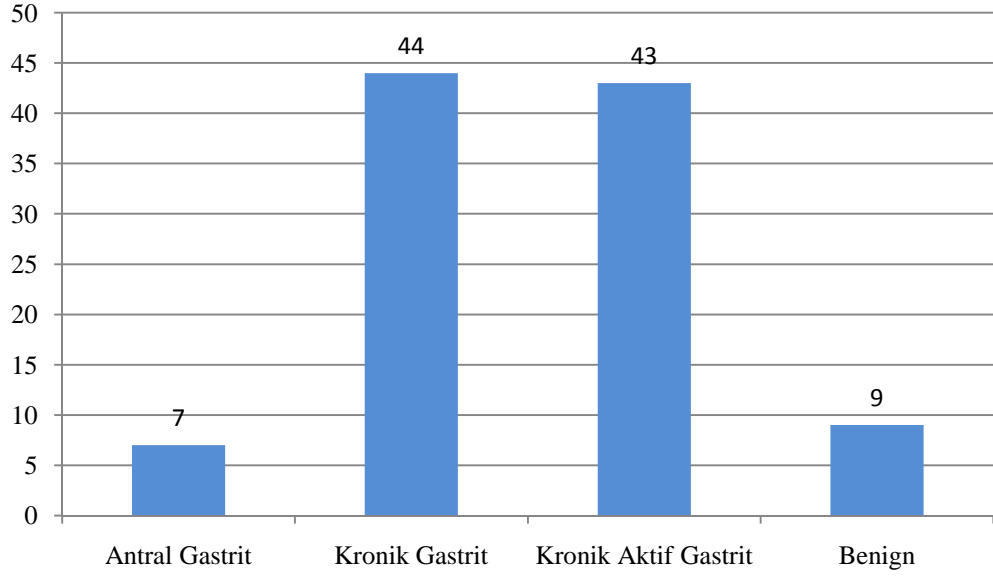
Patolojiye gönderilen 103 hastanın örneklerinden histolojik olarak *H.pylori* 75 (%72.8) hastada pozitif olarak gösterilirken, 26 hastada (%27.2) gösterilemedi (tablo 4.7).

**Tablo 4.7:** Patolojik inceleme sonucu *H.pylori* sıklı ı

	n	%
H.pylori +	75	72.8
H.pylori -	28	27.2
Toplam	103	100

HPL örnekleme için hastaların lezyonlarından alınan biyopsiler incelendi inde akut gastrit 7 hastada (%6.8), kronik gastrit 44 hastada (%42.7), kronik aktif gastrit 43 hastada (%41.7) saptanırken 9 hastanın (%8.7) patolojik incelemesi benign olarak bulundu (tablo 4.8).

**Tablo 4.8:** Hastaların Patolojik Tanıları



HPL inceleme yapılan hastaların tanıları ile *H.pylori* varlığı araştırıldı. İstatistiksel olarak *H. pylori* varlığı açısından anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ) (tablo 4.9).

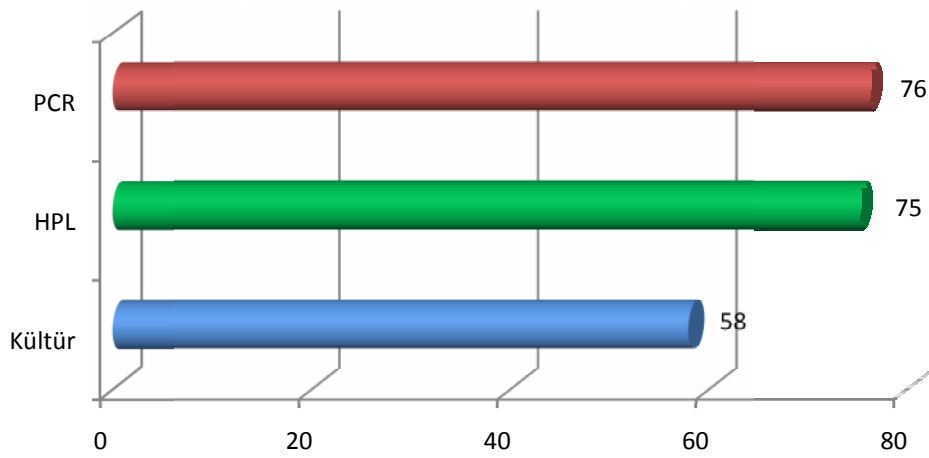
**Tablo 4.9:** Histopatolojide belirtilen alt tiplere göre *H.pylori* sıklığının dağılımı

Patolojik Tanı	<i>H.pylori</i> Pozitif	<i>H.pylori</i> Negatif	Toplam
Antral Gastrit	5 (%4.9)	2 (%1.9)	7 (%6.8)
Kronik Gastrit	31 (%30.0)	13 (%12.8)	44 (%42.8)
Kronik Aktif Gastrit	38 (%37.0)	5 (%4.7)	43 (%41.7)
Benign	1 (%0.9)	8 (%7.8)	9 (%8.7)
Toplam	75 (%72.8)	28 (%27.2)	103 (%100)

## Çeşitli Yöntemlere Göre *H.pylori* Saptanma Sıklığı

Endoskopik biyopsi alınan 103 hastanın histopatolojik incelemesinde 75 hastada (%72.8) hafif, orta veya yoğun ıddette *H.pylori* saptandı. Kültür ile 58 hastada %56.3 ve PCR ile 76 hastada %73.8 oranında *H.pylori* mevcudiyeti saptandı (Tablo 4.10).

**Tablo 4.10:** Farklı Yöntemlerle Elde Edilen *H.pylori* Pozitiflik Sıklığı (n=103).



glmM-PCR pozitifliği tespit edilen 76 hastanın 58'inde kültür; 67'sinde ise histopatolojik inceleme pozitif bulunmuştur. *H. pylori* suşları için son derece özgül ve duyarlı olduğu bilinen glmM-PCR sonuçları altın standart olarak kabul edildiğinde kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla, kültür için % 89.2 ve % 52.6; histopatoloji için % 90.5 ve % 68.9 olarak hesaplanmıştır.

## Kültür ve Antibiyogram Duyarlılık Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çalınmaya alınan 103 hastanın 58'inde antrum ve korpustan alınan biyopsilerden en az birinde *H.pylori* kültür pozitifliği saptandı (%56.3). Kültürde *H.pylori* saptanan hastalarda antibiyogram ile amoksisilin, klaritromisin, levofloksasin ve tetrasiklin



direnci bakıldı. Elde edilen *H.pylori* su ları ile yapılan antibiyotik duyarlılık çalı ması sonucunda bulunan de erler tablo 4.11’de gösterilmi tir.

**Tablo 4.11:** Çalı mada elde edilen *H. pylori* su ları ile yapılan antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

ilaçlar	Duyarlı		Dirençli	
	Sayı	%	Sayı	%
Amoksisilin	57	98.3	1	1.7
Klaritromisin	52	89.7	6	10.3
Tetrasiklin	58	100	0	0
Levofloksasin	54	93.1	4	6.9

Bu çalı ma sonuçlarına göre direnç oranları sınıflandırıldı nda; tetrasikline direnç saptanamamı ken, amoksisiline %1.7, klaritromisine %10.3 ve levofloksasine %6.9 oranında antibiyotik direnci saptanmı tır.

E-test yöntemiyle antibiyotik direnci çalı ılan bu 58 hastanın 22’si (%37.9) erkek iken, 36’sı (%62.1) kadındı. Hastaların cinsiyetleri ile antibiyotik direnci arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Cinsiyete göre antibiyotik direnç oranları tablo 4.12’dedir.

**Tablo 4.12:** Cinsiyete göre antibiyotik direnç oranları

Cinsiyet	Amoksisilin		Klaritromisin		Tetrasiklin		Levofloksasin		p
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Kadın (n=36)	0	0	3	8.3	0	0	2	5.5	p>0.05
Erkek (n=22)	1	4.5	3	13.6	0	0	2	9.0	
Toplam(n=58)	1	1.7	6	10.3	0	0	4	6.9	

Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 58 hastanın 23’ü Grup A, 35’i Grup B eklindeydi. Hastaların endoskopik tanıları ile ilaçlara kar ı geli tirdikleri direnç arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Grup A ve Grup B’ye göre antibiyotik dirençleri tablo 4.13’te verilmi tir.

**Tablo 4.13:** Endoskopik bulgulara göre antibiyotik dirençleri

	Amoksisilin		Klaritromisin		Tetrasiklin		Levofloksasin	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Grup A n=23	0	0	2	8.6	0	0	1	4.3
Grup B n=35	1	2.8	4	11.4	0	0	3	8.5
Toplam n=58	1	1.7	6	10.3	0	0	4	6.9

\*Grup A; Gastrik-duodenal ülser veya gastrik duodenal mukozal hasarı olan hastalar

\*Grup B; Herhangi bir gastroduodenal lezyonu olmayan sağlam mukozalı hastalar

### Virülans Faktörleri ile Antibiyotik Dirençli Kişi

Virülans faktörlerinin antibiyotik direnç üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla amoksisilin, klaritromisin, tetrasiklin ve levofloksasin direnç virülans faktörleri ile değerlendirildi. CagA pozitif yani Tip1 genotipte olan hastalarda amoksisilin direnç 1 hastada (%2.2), klaritromisin direnç 4 hastada (%8.6) ve levofloksasin direnç ise 3 hastada (%6.5) saptandı. cagA'nın negatif olduğu yani Tip 2 genotipteki hastalarda ise amoksisilin direnç saptanmazken, klaritromisin direnç 2 hastada (%3.5), levofloksasin direnç ise 1 hastada (%1.7) bulunmuştur. Genotiplerle antibiyotik direnç arasındaki ilişki incelendiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (tablo 4.14, tablo 4.15).

**Tablo 4.14:** Antibiyotik Duyarlılığı ile Virülans Faktörlerinin İlişkisi

Virülans Faktörü		Amoksisilin		Klaritromisin		Levofloksasin	
		Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
cagA	Negatif	57 (%100)	0 (%0)	55 (%96.5)	2 (%3.5)	56 (%98.3)	1 (%1.7)
	Pozitif	45 (%97.8)	1 (%2.2)	42 (%91.4)	4 (%8.6)	43 (%93.5)	3 (%6.5)
vacA	Negatif	30 (%100)	0 (%0)	30 (%100)	0 (%0)	30 (%100)	0 (%0)
	Pozitif	72 (%98.7)	1 (%1.3)	67 (%91.8)	6 (%8.2)	69 (%94.6)	4 (%5.4)

Tablo 4.15: Genotiplerle Antibiyotik Direnci Arasındaki İlişki

	Tip 1 (n=46)		Tip 2 (n=30)	
	Sayı	%	Sayı	%
Amoksisilin	1	2.2	0	0
Klaritromisin	4	8.6	2	6.7
Tetrasiklin	0	0	0	0
Levofloksasin	3	6.5	1	1.7

### Genotipik Yöntemlerle Antibiyotik Direnç Oranları

PCR yöntemi ile antrum ve/veya corpus örneklerinde H.pylori pozitif saptanan 76 hastada RFLP yöntemiyle klaritromisin direnci araştırılmıştır. Antrum örnekleri incelendiğinde glmM-PCR pozitif 65 (%63,1) su tan 6'sında (%9,23), corpus örneklerinin incelenmesi sonucunda da glmM-PCR pozitif 63 (%61,1) su tan 7'sinde (%11,1) klaritromisine karşı nokta mutasyon saptanmıştır. Antrum veya corpus örneklerinden herhangi biri glmM-PCR ile pozitif saptanan 76 su nun ise toplam 7'sinde (%9,20) mutasyon saptanmıştır.

Nokta mutasyonlar incelendiğinde A2142G ve A2143G olmak üzere iki şekilde saptanmıştır. A2142G mutasyonu bir hastanın hem antrum hem de corpus örneğinde saptanmışken bir hastanın ise sadece corpus örneğinde saptanmıştır. A2143G mutasyonu ise beş hastanın hem antrum hem de corpus örneğinde saptanmıştır.

Sonuç olarak PCR-RFLP yöntemiyle klaritromisin dirençli saptanan 7 su nun 5'inde (%71,4) A2143G mutasyonu, 2'sinde (%28,6) ise A2142G nokta mutasyonu saptanmıştır (Tablo 4.16).

**Tablo 4.16:** Klaritromisin Nokta Mutasyon Sıklığı

Klaritromisin mutasyonları	Antrum ± Corpus PCR RFLP	
	Sayı	%
A2142G	2	28,6
A2143G	5	71,4
Toplam	7	100

Antibiyoqram ile antrum ve corpus örneklerinde klaritromisin direnci saptanan 4 hastada RFLP metoduyla da nokta mutasyon bulundu. Bir hastada sadece antibiyoqram ile direnç saptanabilirken, 2 hastada ise kültürde saf koloniler elde edilemediği için RFLP yöntemiyle klaritromisin direnci saptandı.

Levofloksasin direncinin moleküler yollarla belirlenmesi amacıyla e-test metoduyla dirençli saptanan 4 hasta ve farklı MIC değerlerinden olan 10 hasta olmak üzere toplam 14 hastanın örneklerinde gyrA nokta mutasyonu araştırıldı.

İncelenen 4 hastanın örneklerinde nokta mutasyon saptandı. Mutasyon saptanan hastaların hepsinde e-test ile de levofloksasin direnci saptandı. Saptanan mutasyonlara bakıldığında 3 hastada Asp-91, 1 hastada ise Asn-87 nokta mutasyonu belirlendi.

E-test ile MIC değeri 1mg/lt olan örneklerde levofloksasin direnci olduğu kabul edildi. Moleküler yöntemlerle levofloksasin direnci bulunan 4 örneğin tamamı da e-test ile direnç saptanan hastalarda bulundu.

## 5. TARTI MA

*H.pylori*, insanlar ve primatlarda mide mukozasına kolonize olarak, asemptomatik ta ıyıcılıktan peptik ülsere, atrofik gastritten gastrik karsinomalara kadar de i en patolojilere sebep olan gram negatif, mikroaerofilik bir mikroorganizmadır. Dünya nüfusunun yakla ık olarak % 50'sinden fazlasını infekte eden *H.pylori*, infekte ki ilerin % 10-15'inde semptomatik infeksiyon olu tururken, bu olguların % 2-4'ünde gastroduodenal patoloji intestinal veya diffuz tip mide kanseri ile sonlanmaktadır (3,29,65). *H.pylori* infeksiyonlarının prognozunu mikroorganizma ve kona a ait çok sayıda faktörün etkiledi i ileri sürülmü tür (65). Patojenitenin mekanizmasını tespিতে yönelik olarak yapılan moleküler bazlı çalı malarda, mide mukozasındaki doku hasarından, konak mide mukozasında kronik ve güçlü inflamatuvar cevap olu turan, özellikle cagA ve vacA gibi mikrobiyal ürünler ile kona ın mikroorganizmanın antijenik özellikteki ürünlerine kar ı verdi i güçlü ancak bakteri eradikasyonunu sa lamak için yeterli olmayan immun cevabının sorumlu oldu u ileri sürülmü tür (24,72). Bu sebeple, etkili antimikrobiyallerin kullanılmaması halinde, *H.pylori* infekte etti i mide mukozasında ömür boyu kolonize olabilmektedir. Ancak, 1990'lı yıllarda bir proton pompa inhibitörü (PPI) ile kombine edilerek kullanılan antibiyotik kombinasyonları % 98-100 oranında klinik ve bakteriyolojik kürü sa larken, son yıllarda özellikle *H.pylori* infeksiyonlarının epidemik seyretti i geli mekte olan ülkelerde ilk seçenек antibiyotiklere kar ı geli en direnç sebebi ile eradikasyon tedavilerinde ba arı oranlarının % 40-60'lara kadar geriledi i bildirilmektedir (5,65). Bu sebeple, *H.pylori* ile ili kili çalı malar bir taraftan patogenezi aydınlatmaya yönelik olarak devam ederken, di er taraftan bu mikroorganizmanın antibiyotik direnci ve dirence yol açan mutasyonların tespiti konusunda yo unla arak devam etmektedir. Biz, bu çalı mada dispeptik semptomlarla gelen hastalara yapılan endoskopik muayene ile *H.pylori*'nin gastrik kolonizasyon sıklı ını, cinsiyet faktörünün kolonizasyona olan etkisini, histolojik lokalizasyonun ve kolonize su ların cagA ve vacA genleri sıklı ının klinik prognoza etkisini, bölgemizde *H.pylori*'ye olan antibiyotik direncini ara tırdık.

*H. pylori*'nin antibiyotiklere kar ı duyarlılık derecesinin bilinmesi önemlidir. n- vitro artlarda çok sayıda antibiyotik bakteriye etkili bulunmu tur ancak gastrik mukozaya penetrasyonun zor olması ve ortam pH'sının dü ük olması antibiyotiklerin klinik etkilerini sınırlamaktadır. *H.pylori* zor ve yava üreyen bir mikroorganizma olu u

nedeniyle, tedavide kullanılacak antibiyotikleri daha da seçici yapmaktadır. Antibiyotikler tek kullanıldıklarında etkilerini tam gösteremezler ve direnç gelişimi artar. Bu durum tedavide kombinasyonların gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır (117).

Mide biyopsisi örnekleri ve mide sıvısı gibi klinik örneklerden *H.pylori* tanısı amacı ile modifiye besiyerlerinin kullanıldığı kültür bazlı yöntemler ile bakteri genomundaki özgül ve korunmuş dizilerin çoğaltılmasını hedefleyen PCR bazlı tekniklerin karışılması çok sayıda çalışmada yapılmıştır. *H.pylori* tanısında bakterinin genomundaki özgül ve korunmuş gen bölgelerinin amplifikasyonunu esas alan PCR bazlı yöntemler histokimyasal boyama, kültür veya serolojik temelli klasik tanı yöntemlerine göre hızlılık, yüksek duyarlılık ve özgüllük gibi önemli avantajlara sahiptir.

Mishra K. ve arkadaşları dispeptik yakınmalı hastaların gastrik biyopsi örnekleri ile yaptıkları ve tanıda yine glmM-PCR ve kültür yöntemlerini kullandıkları çalışmalarında; *H.pylori* pozitiflik oranları sırası ile % 53 ve % 48 olarak tespit etmişlerdir (231). Bu çalışmada gastrik biyopsi örneklerinde tüm yöntemlerle beklenen oranların altında *H. pylori* pozitifliği bildirilmiştir. Bu durum kullanılan yöntemlerin duyarlılığının yanı sıra, uygulayıcının tecrübesi, biyopsi örneklerinin alınması ve tanıması ile sosyal çevreden kaynaklanabilir. Ancak sonuç olarak bu araştırmacılar, glmM-PCR testinin sensitivitesinin % 95, spesifitesinin de % 100 olduğunu belirterek, glmM-PCR yönteminin kültüre göre daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Benzer bir çalışmada da, Bickley J. ve arkadaşları 62 gastrik biyopsi örneğinde kültür ve PCR'ın tanı değerlerini karşılaştırmaları, glmM-PCR'ın *H.pylori* tanısında kültür kadar özgül olmasına karşılık, % 96 kadar yüksek bir duyarlılık oranına sahip olduğunu belirtmişlerdir (232).

Bizim çalışmamızda da antrum ve/veya korpus örneklerinde glmM-PCR ile *H.pylori* pozitifliği % 73.8 bulunmuşken; kültür yöntemiyle bu oran % 56.3 bulunmuş olup iki yöntem karşılaştırıldığında PCR yönteminin kültüre göre *H.pylori* tespitinde daha başarılı olduğu görülmüştür ( $p<0.01$ ).

Yetkin M. 3 yıl süren çalışmasında, kültür yöntemi ile değerlendirildiği 194'ü kadın, 293'ü erkek hastalara ait olmak üzere toplam 487 biyopsi örneğinden, % 76.2'si kadın ve % 81.2'si de erkek hastalara ait olmak üzere % 79.2'sinde *H.pylori* varlığını

tespit etmi tir (233). O uz D. ve arkada ları ile Özden A., *H.pylori*'nin semptomatik gruplardaki gastrik kolonizasyon oranının farklı gruplarda % 60-81 arasında de i ti ini bildirerek, asemptomatik ta ıyıcılı ın yüksek oranlarda oldu una dikkat çekmi lerdir (19,40). Kantarçeken B. ve arkada ları, Malatya bölgesinde MÜ'li hastalara ait antral biyopsi örneklerini kültür ve PCR bazlı yöntemler kullanarak de erlendirdikleri bir çalı mada; 142 biyopsi örne inden % 75.4'ünde en az bir yöntemle *H.pylori* kolonizasyonu tespit ettiklerini bildirmi lerdir (234). Yine, Bolek B. ve arkada ları stanbul'da yaptıkları bir çalı mada; PCR yöntemi ile de erlendirdikleri biyopsi örneklerinden % 84.6'sında *H.pylori* glmM genine ait hedef fragmentin varlı ını tespit etmi lerdir (235).

Bizim bulgularımızla birlikte farklı bölgelerden bildirilen ve küçük sapmalarla % 75 gibi bir ortalama de ere ula an *H.pylori* prevalansı hastalı ın epidemik seyretti i ülkeler için ön görülen de erlerle örtü mektedir.

Çalı maya alınan erkek hastalarda PCR ile *H.pylori* tespit edilme oranı %74.3, kadın hastalarda ise %73.4 olarak belirlendi ve bu oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Bizim çalı mamız cinsiyetin *H.pylori* enfeksiyonu için bir risk faktörü olmadı ını gösteren çalı maları desteklemektedir (236).

*H.pylori* ile infekte ki ilerinin hemen hepsinde gastrit ve midede fonksiyonel de i iklik, %15-20'sinde peptik ülser, %2-12'sinde ülser komplikasyonu, %1-3'ünde mide kanseri, %0,1'inde primer gastrik lenfoma, az oranda da fonksiyonel dispepsi geli me riski vardır. Sonuç olarak, infekte ki ilerinin %20-30'unda ya amı tehdit edebilen duodenal ülser, gastrik ülser, mide karsinomu ve MALToma gibi hastalıklar geli ebilmektedir (3,29,65).

Çalı mamızda HPL inceleme için gastrik lezyonlardan alınan biyopsi örneklerini inceledi imizde *H.pylori* sıklı ını % 72.8 olarak saptadık. Hastalardan alınan örnekler incelendi inde kr. aktif gastriti olan hastaların % 37'sinde, kr. gastriti olan hastaların % 30'unda, antral gastrit olan hastaların ise % 4.9'unda *H.pylori* pozitifli i bulundu. Ancak inceleme sonucu konulan patolojik tanılarla *H.pylori* sıklı ı arasında anlamlı ili ki bulunmadı.

anlurfa' da yapılan bir çalı mada kr. gastriti olan hastaların %89.8'de *H.pylori* pozitif bulunmu ken (237), 2006'da ran'da 1000 hasta ile yapılan bir çalı mada kr.

aktif gastriti olan hastaların %81'inde *H.pylori* pozitifliği bulunmuştur (238). 2010 yılında Bursa'da Konakçı ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise 218 hastanın patolojik bulguları incelenmiş, bunların % 50.5'inde *H.pylori* pozitif bulunmuştur (239).

Birçok çalışmada HPL yöntemiyle *H.pylori* saptamada farklı sonuçların ortaya çıkmasında *H.pylori*'nin mide mukozasında yamalı dağınıklık göstermesi, lezyon bölgesinden biyopsi alınmaması, ortamda üreaz üreten başka bakterilerin varlığı olabilir.

Endüstrileşmiş ülkelerde, *H.pylori* suşlarının yaklaşık % 10-20'si klaritromisin dirençlidir. Gelişmekte olan ülkelerde ise, klaritromisine karşı direnç oranı daha yüksektir ve % 25-50 arasında değişmektedir (154). Klaritromisin direnci Amerika'da % 5-14, Avrupa'da % 10'un üzerinde bildirilmektedir (117,157). Son yıllarda ülkemizde bu direnç oranı, bir çalışmada % 16.8, diğer çalışmalarda ise % 52-56 olarak bildirilmiştir (158-160). Bizim çalışmamızda ise % 10.3 oranında klaritromisine direnç bulundu. Bu oran, endüstrileşmiş ülkelerdeki klaritromisin antibiyotik direnç aralığında yer almaktadır.

Klaritromisin kullanımı son dönemlerde, üst ve alt solunum yolları infeksiyonları başta olmak üzere farklı endikasyonlarda kullanımı oldukça artmıştır. Çocuklarda kullanımı da oldukça yaygındır. Ayrıca *H.pylori* eradikasyon tedavisi adı altında klaritromisinin de dahil olduğu kombine preparatlar da sıkça kullanılmaktadır. Birinci basamak sağlık kuruluşlarında bile *H.pylori* varlığını gösteren herhangi bir test yapılmadan bu tedavi başlanmaktadır. Tolere edilmesi zor olması sebebiyle hastaların bir kısmı bu tedaviyi yarım bırakmaktadır. Dirençli suşların gelişiminde bu da önemli bir etken olabilir. Özellikle çocuklarda klaritromisin kullanımı kısıtlanmalıdır. Çünkü *H.pylori* tedavisinde kullanabileceğimiz az sayıda antibiyotik mevcuttur. Son yıllarda ilaç direnci daha büyük bir problem haline gelebilecektir.

Amoksisilin direncinin saptanmadığı ya da yüksek saptandığı farklı çalışmaları mevcuttur (163-165). 1996-2000 yılları arasında Boyanova ve arkadaşları e-test ve disk difüzyon yöntemleri ile amoksisilin direncini % 0,9 olarak saptamışlardır (166). İsveç'te 2006'da yapılan bir çalışmada amoksiline direnç saptanmamıştır (167). 2010'da İran'ın Kuzey bölgesinde 132 hastanın biyopsi örnekleri incelenmiş, amoksisilin direnci % 6.8 olarak saptanmıştır (175).



Ülkemizde Kantarçeken ve arkadaşları disk difüzyon yöntemiyle 51 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada amoksisiline direnç saptanmamıştır (168). 2009'da Bursa'da yapılan bir çalışmada 31 *H.pylori* suşuna ait antibiyotik direnç profili incelenmiş, amoksisilin direnci % 3.2 olarak saptanmıştır (180). Çalışmamızda da 58 *H.pylori* suşundan birinde (% 1.7) amoksisiline karşı direnç saptanmıştır.

*H.pylori*'de tetrasiklin direncinin 20. yüzyılın sonlarına kadar olmadığı ya da çok ender olduğu bildirilmiştir. *H.pylori* de tetrasiklin direncinin insidansının özellikle bu antibiyotiklerin reçetesiz elde edilebildiği belli coğrafik bölgelerde arttığı görülmektedir. Tek başına *H.pylori* eradikasyonunda etkisizdir. Bu nedenle üçlü tedavide kullanılmaktadır. Tetrasikline karşı direnç oranları bildirilmiştir. Romano M. ve arkadaşları %2 oranında (156), Roland N. ve arkadaşları %56 oranında direnç bildirmişlerdir (227). Bartoleme ve arkadaşları tetrasikline direnç bulamamışlardır (228). Ülkemizde Göral ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada % 9.4 oranında (229), Kantarçeken ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada %3.9 oranında tetrasikline direnç bildirmişlerdir (168). Engin ve arkadaşları tetrasikline direnç bulamamışlardır (230). Bizim çalışmamızda da tetrasikline direnç tespit edilememiştir.

Kinolonlar, *H.pylori*'ye karşı invitro etkili olmasına rağmen invivo olarak etkinliği sınırlıdır. Dirençli vakalarda üçlü tedavide kullanılabilirler. 2000 yılında Kantarçeken ve arkadaşları disk difüzyon yöntemiyle yaptıkları çalışmada siprofloksasin direncini % 5,9 olarak bulmuşlardır (168). 2004'te Antalya'da yapılan bir çalışmada levofloksasin direnci % 22,4 bulunmuştur (169). Çalışmamızda ise levofloksasiline direnç % 6,9 olarak saptanmıştır.

Klaritromisin direnci doğrudan mide biyopsi örneklerinden PCR-RFLP yöntemi ile araştırılabilmektedir. Bunun yanı sıra dirence neden olan mutasyonlar da saptanabilmektedir. Klaritromisine karşı direnç 23S rRNA'nın peptidil transferazı kodlayan bölgesindeki spontan tek nokta mutasyonuna bağlıdır. 23S rRNA'nın peptidil transferaz bölgesinde 2 pozisyonda (2142, 2143) 3 büyük nokta mutasyonu tanımlanmıştır.

*H.pylori* suslarında, direncin genetik mekanizmasını tespit amacı ile PCR-RFLP yöntemi ile yaptığımız çalışmada antrum veya corpus örneklerinden herhangi biri için M-PCR ile pozitif saptanan 76 suşunun 7'sinde (%9,20) PCR-RFLP yöntemiyle klaritromisin direncini gösteren mutasyon saptanmıştır. Mutasyon saptanan 7 suşun

5'inde (%71,4) A2143G mutasyonu, 2'sinde (%28,6) ise A2142G nokta mutasyonu saptanmıştır.

Alvarez ve arkadaşları tarafından *H.pylori* tedavisinde amoksisilin, metronidazol ve klaritromisin gibi antimikrobiklerin yaygın olarak kullanıldığı Kolombiya'da 106 hasta üzerinde yapılan çalışmada PCR-RFLP tekniği ile klaritromisin direnci % 3.8 olarak belirlenmiş olup klaritromisin direnci olan dört suşun üçünde A2143G nokta mutasyonu, birinde ise A2142G mutasyonu saptanmıştır (240).

Malezya'da yapılan bir çalışmada, 4 hastada PCR-RFLP tekniği ile klaritromisin direnci saptanırken suşların ikisinde A2142G nokta mutasyonu, diğer ikisinde A2143G nokta mutasyonu saptanmıştır (241). İspanya'da 30 dirençli suş ile yapılan çalışmada izolatlardan 20'sinde (% 69) A2143G mutasyonu tespit etmişlerdir (242). Japonya'da klaritromisin dirençli 12 çocuk izolatı ile yapılan çalışmada, izolatların 11'inde (% 92) A2143G mutasyonunu bildirmişlerdir (243). Adana'da 2006 yılında PCR-RFLP yöntemi ile klaritromisin dirençli suşların % 78'inde A2142G ve % 12'sinde A2143G nokta mutasyonu saptanmıştır (233).

Dirençli suşlardaki mutasyon dağılım oranlarımız İspanya ve Japonya'da bildirilen mutasyon dağılım oranları ile büyük ölçüde benzerlik göstermektedir (242,243). Mutasyonların dağılımı hakkında etkileyen faktörlere yönelik yorum yapılmamıştır, bunun bölgesel suşlara bağlı bir özellik olduğu söylenmiştir.

Florokinolonlar; *gyrA* ve *gyrB* genleri tarafından kodlanan iki alt üiteden oluşan DNA gyrase enzimini inhibe ederek bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerdir. *H.pylori*'de florokinolon direnci *gyrA* geninde 87, 88, 91 ve 97. aminoasitlerin kodlandığı bölgelerde gelişen nokta mutasyonlar sonucu gelişmektedir. Asn-87 ve Asp-91 levofloksasinin bağlanması için en önemli hedef kodonlardır.

Çalışmamızda *gyrA* mutasyonu 4 hastanın 3'ünde Asp-91, 1'inde ise Asn-87 kodonunda saptanmıştır. Çin'de 2009 yılında yapılan bir çalışmada *gyrA* geninde mutasyon saptanan 27 suşun 16'sında Asn-87, 11'inde ise Asp-91 mutasyonu saptanmıştır (244), 2013 yılında Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada *gyrA* geninde mutasyon saptanan 17 hastanın 8'inde (% 47.5) Asn-87 kodonunda mutasyon saptanmıştır, 1 hastada (% 5.8) Asp-91 kodonunda mutasyon saptanmıştır (245).

Çalı malarda levofloksasin için bulunan bu farklı moleküler direnç oranları co rafi da ılım farklılıkları ile ili kili olabilir.

Çalı mamızda e-test ve moleküler yöntemlerle aynı 4 hastada levofloksasin direnci saptadık. Bu bize gyrA geninde Asn-87 ve Asp-91 mutasyonlarının belirlenmesinde e-test yönteminde direnç için kabul etti imiz MIC 1 mg/lt de erinin makul bir de er oldu unu dü ündürmektedir. Yine levofloksasin direncinin belirlenmesinde DNA bazlı taramanın geleneksel kültür yöntemlerine alternatif olabilece ini dü ündürmektedir.

Çalı mamızda cinsiyet ile antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi. Qinjuan ve arkada larının yaptıkları çalı mada metronidazol, klaritromisin ve amoksisilin dirençlerine bakıldı. Buldukları oranlarla cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edemediklerini bildirmi lerdir (246). Ülkemizde Önder ve arkada larının *H.pylori*'nin antibiyotik direncini belirledikleri çalı mada cinsiyet ile antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edemediklerini bildirmi lerdir (247).

*H.pylori*'nin virülans faktörleri arasında, vakuollerini aktive edici sitotoksin (*vacA*) ve sitotoksin ile ili kili gen (*cagA*) önemli rol oynamaktadır. Çalı mamızda *cagA* pozitifli i % 60.5, *vacA* pozitifli i ise % 96.0 oranında saptandı.

Ülkemizde yapılan çalı malarda *cagA* geni pozitiflik oranlarını, Sarıba ak ve arkada ları % 78; Sarıba ve arkada ları % 58.6; Karaman ve arkada ları ise % 65.5 olarak bildirmektedir (77,248,249). Çalı mamızda saptanan % 60.5'lik *cagA* geni pozitifli i, Sarıba ve Karaman'ın verilerine uyum göstermektedir.

Bizim bulgularımızın ülkemizdeki farklı bölgelerden elde edilen çalı malardaki sonuçlarla bire bir örtü memesi, kullanılan yöntem, çalı mayı yapan ki ilerin tecrübesi gibi laboratuvarlar arasında tolere edilebilir teknik farklılıklar kadar, bölgesel beslenme alı kanlıkları, sosyoekonomik artlar gibi hasta gruplarının çe itlili inden de kaynaklanabilir.

*VacA* proteini *H.pylori* su larının tamamında bulunmasına kar ılık, su ların yakla ık olarak % 40-60'ında gen inaktif ya da dü ük aktiviteye sahiptir (89,90). Ülkemizde, bakterinin virülans faktörleri ile ilgili serolojik ve moleküler yöntemler

kullanılarak çe itli çalı malar yapılmı ve bu faktörlerin klinik seyir üzerindeki etkileri ile ilgili ara tırmalara gereksinim oldu u vurgulanmı tır (234,250,251).

*H.pylori* tedavisinde yetersizlik ve antibiyotik direnci geli mesinde virülans faktörlerinin etkisi konusunda çe itli çalı malarda farklı sonuçlar bildirilmi tir. Çalı mamızda antibiyotik direnci ve duyarlılı ı ile *H.pylori* virulans faktörleri arasında anlamlı ili ki saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Godoy ve arkadaşlarının yaptıkları çalı mada virülans genleri ile patojenite, antibiyotik direnci veya duyarlılı ı arasında bir ili ki saptanmadı ı bildirilmi tir (69). Yakoob ve arkadaşları ile van Doorn ve arkadaşlarının çalı malarında tedavi yetersizli i ile *cagA* negatifli i arasında anlamlı birliktelik bildirilmi tir (92,252). *cagA* pozitif olgularda tedavi cevabı daha iyi iken, *cagA* negatif olgularda tedavi ba arı ansının daha dü ük oldu u belirtilmi tir.

Suzuki ve arkadaşları 14 çalı mayı de erlendirdikleri meta-analizde *cagA*'nın pozitifli inde eradikasyon oranının % 84, *cagA*'nın negatif olması durumunda eradikasyon oranının % 73'e dü tü ünü belirleyerek *cagA*'nın pozitif olmasının *H.pylori* eradikasyon tedavisi için önemli bir faktör oldu unu bildirmişlerdir (253).

*cagA* pozitifli i ve virülan genotiplerin tedavi yanıtı üzerine etkisinin patogenetik mekanizmasına ili kin farklı yorumlar yapılmı tır. *cagA*'nın inflamatuvar sitokinlerin salınımında artışa yol açarak gastrik inflamasyona ve kan akımının artmasına sebep oldu unu ve antibiyotiklerin inflamatuvar dokuya daha iyi nüfuz ederek etkinliklerinin arttı ı bildirilmi tir. Di er bir yorumda ise *cagA* pozitif olgularda bakteriyel yükün ve bakteriyel proliferasyonun daha yüksek oldu u, antibiyotiklerin ise ço alma dönemindeki bakterilere daha iyi etkide buldukları ve tedavi yanıtının daha iyi oldu u belirtilmi tir (24,253).

Ülkemizde *H.pylori*'nin seroprevalansı ile ilgili çalı malar olmasına kar ın, genotipleri ve bunların hastalık patogenezi ile ili kisi konusunda bilgilerimiz sınırlıdır. Son yıllarda *H.pylori* ile enfekte bireylerin bazılarında kronik atrofik gastritin yanı sıra gastrik adenokarsinom ve MALT lenfoma geli irken bazılarında geli memesi, bu bakteriye özgü virülans faktörlerini gündeme getirmi tir. Çalı mamızda endoskopik olarak mukozal hasarın olup olmamasına göre Grup A ve Grup B olarak sınıfladı ımız hastalarda *H.pylori* *cagA* ve *vacA* virulans faktörleriyle ili kisini de de erlendirdik.

Malatya'da 2003 yılında yapılan bir çalı mada dispeptik ikayetleri olan 142 hastanın 107'sinde (% 75,4) histopatolojik olarak *H.pylori* saptanmı , bu hastaların 66'sında (% 61.7) cagA gen varlı ını gösterilmi tir (234). Çalı mada cagA'nın gastrik ve duodenal ülser ile anlamlı olarak ili kisi saptandı ı halde NÜD ile ili kisinin olmadı ını bildirilmi tir. Salih ve arkada ları ise 2007 yılında 35 hastada yaptıkları çalı mada PCR ile *H.pylori* su larında cagA genini gastritli hastaların %57.1'inde ve peptik ülserli hastaların ise % 92.9'unda tespit etmi lerdir (254). Bolek ve arkada ları antrum örneklerini de erlendirdikleri çalı malarında, duodenal ülserli hastaların % 86,6, mide ülserli hastaların % 71.4, gastritli hastaların ise % 57'sinin cagA pozitif oldu unu bildirmi lerdir (235). Allelik vacAs1m1 su u duodenal ülserlilerde % 80.7 ve gastrik ülserlilerde % 60 oranında görülürken, gastritlilerde % 75 oranında s1m2 su u saptanmı tır. Aydın ve arkada ları 47 ülserli ve 52 NÜD'li hastalarında cagA pozitifli ini sırasıyla % 72.3 ve % 44.4 oldu unu ve en sık görülen vacA genotipinin s1a (% 88,8) oldu unu belirtmi lerdir (255).

Çalı mamızda endoskopik olarak Grup A lezyonu olan hastalarda cagA pozitifli ini % 70, Grup B lezyonu olanlarda ise % 54.3 olarak bulduk. Bulunan oranlar eroziv lezyonların de erlendirildi i çalı malara benzemekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı de ildi ( $p>0.05$ ). Bunun sebebi çalı mamızda örnek aldı ımız hastalarda gastrik ya da duodenal ülser oranının az olu u, malignite tanısının olmaması ve hastaların büyük kısmının endoskopik bulgular açısından tek tanı almı olması, bu sonuçta etkili olabilir.

Çalı mamızda Grup A ve Grup B ile antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Ülkemizde Önder ve arkada larının yaptıkları çalı mada koydukları endoskopik tanı ile antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadıklarını bildirmi lerdir (247).

Sonuç olarak *H.pylori* antibiyotik duyarlılı ının belirlenmesi önemlidir. Bölgemizde ve ülkemizde *H.pylori*'nin direnç durumunu takip etmek, do ru ve etkin tedaviyle gereksiz antibiyotik kullanımını önlemek için kültür yapılarak antibiyotik duyarlılı ı ara tırılmalıdır. Amoksisilin ve klaritromisin dü ük MIK de eri ve uygun farmakokinetik özellikleri nedeniyle *H.pylori* eradikasyonunda hala en çok tercih edilen antimikrobiktir. Ancak günümüzde özellikle klaritromisine kar ı direnç artmakta ve eradikasyon tedavisinin ba arısını azaltmaktadır. Amoksisiline direnç henüz bir

sorun olu turmadı ından tedavide ilk seçenek olarak tercih edilebilir ve klaritromisinle birlikte kombine edilebilir. Fakat yıllar içinde direnç geli iminde anlamlı artı lar oldu u ve gelecekte de olaca ı öngörüsüyle özellikle birinci basamak tedavide dikkatli olunmalıdır.

Yine antibiyotik direncinin moleküler metodlarla saptanması sonucunda tüm dünyada farklı mutasyon sıklıklarının bulunması klaritromisin ve levofloksasin direncinde co rafi farklılıkların belirleyici oldu unu dü ündürmektedir.

Biyopsi örneklerinde H.pylori tanısında mikroorganizmanın glmM genine ait özgül ve korunmu dizilerin amplifikasyonuna dayalı yöntemin mikroorganizmanın izolasyonuna yönelik selektif kültür yöntemlerine göre daha yüksek duyarlılı a sahip oldu u görülmü ve endoskopik muayenede lezyon tespit edilen hastalarda kültür yerine glmM-PCR'ın tanı yöntemi olarak tercih edilmesi gerekti i kanaatine varılmı tır.

## 6.KAYNAKLAR

1. **Dunn BE, Cohen B, Blaser MJ.** Helicobacter pylori. Clin Microbiol Rev, 1997; 10(4):720-741.
2. **Dooley, C.P.:** Background and historical considerations of H.pylori. Gastroenterol Clin of North Am, 22:1–5, 1993.
3. **Köksal, F., Topçu, A., Söyletir, G. ve Do anay, M.:** nfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi stanbul, 1643–1647, 2002.
4. **Al-Qurashi A, El-Morsy F, Al Quorain A.:** Evolution of Metronidazole and Tetracycline susceptibility pattern in Helicobacter pylori at a hospital in Saudi Arabia. nternational Journal of Antimicrobial Agents, 2001; 17:233-236.
5. **Alarcon T, Domingo D, Brea ML.:** Antibiotic resistance problems with Helicobacter pylori. nternational Journal of Antimicrobial Agents, 1999; 12:19-26.
6. **Malfertheiner P, Megraud F, O’Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers EJ..** Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007 Jun;56(6):772-81. Epub 2006 Dec 14.
7. **McLoughlin R., Racz I, Buckley M., O’Connor HJ. and O’Morain C.:** Therapy of Helicobacter pylori. Helicobacter, 9(Supl. 1):42-48, 2004.
8. **Vilaichone, R.K., Mahachai, V. and Graham, DY.:** Helicobacter pylori diagnosis and management. Gastroenterol Clin N Am, 35:229-247, 2006 .
9. **Saad R, Schoenfeld P, Hyungjin MK, et al.** Levofloxacin-based triple therapy versus bismuth-based quadruple therapy for persistent Helicobacter pylori infection: a meta-analysis. Am J Gastroenterol 2006;3:488–96.
10. **Kasapo lu B. ve Türkay C.:** Helicobacter pylori’de tedavi ve direnç. Güncel Gastroenteroloji, 12/3:141-145, 2008.
11. **Megraud F, Malfertheiner P, Morain C, Hungin A, Jones R, Axon et al.,** Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther, 2002; 16:167–180.
12. **The European Helicobacter pylori Study Group :** Current European concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht Consensus Report Gut, 41:8–13, 1997.
13. **Altundis M. ve Özdemir M.:** H. pylori ve tanısı. Kocatepe Tıp Derg, 2:1-12, 2003.
14. **Megraud F.,** H. pylori antibiotic resistance: prevalence, importance and advances in testing, Gut 2004; 53: 1374–1384

- 15. Bağlan PH, Bozdayi G, Ozkan M, Ahmed K, Bozdayi AM, Ozden A.:** Clarithromycin resistance prevalence and *Icea* gene status in *Helicobacter Pylori* clinical isolates in Turkish patients with duodenal ulcer and functional dyspepsia. *J Microbiol.* 2006 Aug;44(4):409-16.
- 16. Köksal F.** *Helicobacter pylori* Tanısında Kullanılan Moleküler Yöntemler. 3. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, 28 Haziran-01 Temmuz, Ankara, Program ve Bildiri Özet Kitabı, 2004; 99-111.
- 17. Peek RM, Blaser MJ.** Pathophysiology of *Helicobacter pylori*-Induced Gastritis and Peptic Ulcer Disease. *Am J Med,* 1997; 102:200-207.
- 18. Hocker M, Hohenberger P.** *Helicobacter pylori* Virulence Factors - one Part of a Big Picture. *Lancet,* 2003; 362(9391):1231-1233.
- 19. Özden A.** Midenizdeki Yabancı. *Türk Gastroenteroloji Vakfı yayınları,* 2003; 1-160.
- 20. Ikenoue T, Maeda S, Ogura K, Akanuma M et al.** Determination of *Helicobacter pylori* Virulence by Simple Gene Analysis of the *cag* Pathogenicity Island. *Clin Diagn Lab Immunol,* 2001; 8 (1):181-186.
- 21. Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, et al.** Expanding allelic diversity of *Helicobacter pylori vacA.* *J Clin Microbiol.* 1998 Sep;36(9):2597-603.
- 22. Cover TL, Tummuru MK, Cao P, Thompson SA, Blaser MJ.** Divergence of genetic sequences for the vacuolating cytotoxin among *Helicobacter* strains. *J Biol Chem,* 1994; 269:10566–10573.
- 23. Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham DY.** Relationship between *Helicobacter pylori iceA, cagA,* and *vacA* status and clinical outcome: studies in four different countries. *J Clin Microbiol,* 1999; 37:2274–2279.
- 24. Atherton JC, Cao P, Peek RM, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL.** Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori.* Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem,* 1995; 270:17771–17771.
- 25. Mukhopadhyay AK, Kersulyte D, Jeong JY et al.** Distinctiveness of genotypes of *Helicobacter pylori* in Calcutta. *India J Bacteriol,* 2000; 182:3219–3227.
- 26. Yamazaki S, Yamakawa A, Okuda T, Ohtani M et al.** Distinct Diversity of *vacA, cagA,* and *cagE* Genes of *Helicobacter pylori* Associated with Peptic Ulcer in Japan. *Journal Of Clinical Microbiology,* 2005; 43(8):3906–3916.
- 27. Warren, J.R.:** Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet,* 1273, 1983
- 28. Marshall B.J. and Warren J.R.:** Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet,* 21:1311–1315, 1984.



- 29. Forman D.** The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther*, 1995; 9(2):71-76
- 30. Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb A, Warnke R.** *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *N Engl J Med*, 1994; 330:1267-71.
- 31. Ahmed N, Sechi LA.** *Helicobacter pylori* and Gastroduodenal Pathology: New Threats of the Old Friend. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2005; 4 (1):1-10.
- 32. Zhang ZF, Robert C, Kurtz D, Klimstra S et al.** *Helicobacter pylori* Infection on the Risk of Stomach Cancer and Chronic Atrophic Gastritis. *Cancer Detection and Prevention*, 1999; 23(5):357.
- 33. Duynhoven YTHP, de Jonge R.** Transmission of *Helicobacter pylori*: a Role for Food? *Bultein of the World Health Organization*, 2001; 79:455-460
- 34. Kikuchi S, Jean E, Crabtree DF, Kurosawa M.** Association between Infections with *cag A* - positive or -negative Strains of *Helicobacter pylori* and Risk for Gastric Cancer in Young Adults. *American Journal of Gastroenterology*, 1999; 94(12):3455.
- 35. Pincock S.** Nobel Prize winners Robin Warren and Barry Marshall. *The Lancet*, 2005; 366(9495):1429.
- 36. Megraud F.** A Humble Bacterium Sweeps This Year's Nobel Prize. *Cell*, 2005; 123(6):975-976).
- 37. Yamaoka Y, Orito E, Mizokami M, Gutierrez O et al.** *Helicobacter pylori* in North and South America before Columbus. *FEBS Letters*, 2002; 517:180-184.
- 38. Kauser F, Khan AA, Hussain MA, Carroll IM et al.** The *cag* Pathogenicity Island of *Helicobacter pylori* Is Disrupted in the Majority of Patient Isolates from Different Human Populations. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004; 42(11):5302-5308.
- 39. Goodman KJ.** Transmission of *Helicobacter pylori* among sibling. *Lancet*, 2000; 355:358-362.
- 40. O uz D, Eskio lu E, Köseo lu T, Unver E et al.** Üst Gastrointestinal Sistem Hastalıklarında *Helicobacter pylori*. *Türk Gastroenterol Derg*, 1995; 6:440-446. 84
- 41. Sandikci MU, Doran F, Koksal F et al.** *Helicobacter pylori* prevalence in a routine upper gastrointestinal endoscopy population. *Br J Clin Pract*, 1993; 47(4): 187-189.
- 42. Erkisi M, Colakoglu S, Koksal F et al.** Relationship of *Helicobacter pylori* infection to several malignant and non-malignant gastrointestinal diseases. *J Exp Clin Cancer Res*, 1997; 16(3):289- 293.
- 43. Us D and Hasçelik G.** Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in an asymptomatic Turkish population. *Journal of Infection*, 1998; 37:148-150.
- 44. Durmaz-Çetin B, Gündüz A, Erdem L, Seber E, Sökmen M.** *Helicobacter pylori* Enfeksiyonları ve Dı kı Antijen Testinin Tanıdaki De eri. *Klimik Dergisi*, 2004; 17(3): 177-180.

- 45. Alborzi A, Soltani J, Pourabbas B, et al.** Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children (south of Iran). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006 Apr;54(4):259-61.
- 46. Malaty HM.** Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2007;21(2):205-14.
- 47. Lehours P, Yilmaz O.** Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2007 Oct;12 Suppl 1:1-3.
- 48. Tunger O.** *Helicobacter pylori* infections. *Turkish Journal of infection.* 2008;22(2):107-115.
- 49. Akin L, Tezcan S, Hascelik G, Cakir B.** Seroprevalence and some correlates of *Helicobacter pylori* at adult ages in Gulveren Health District, Ankara, Turkey. *Epidemiol Infect.* 2004 Oct;132(5):847-56.
- 50. Salih BA.** *Helicobacter pylori* infection in developing countries: the burden for how long? *Saudi J Gastroenterol.* 2009 Jul-Sep;15(3):201-7.
- 51. Azevedo NF, Huntington J, Goodman KJ.** The epidemiology of *Helicobacter pylori* and public health implications. *Helicobacter.* 2009 Sep;14 Suppl 1:1-7.
- 52. Sen C.** Prevalence of *Helicobacter pylori* in Turkish population living in Germany. *Turk J Gastroenterol* 1996;7:61-64.
- 53. Ozden A, Dumlu , Dönderici Ö, ve ark.** *Helicobacter pylori* infeksiyonunun ülkemizde seroepidemiolojisi. *Gastroenteroloji.* 1992;4:665-8.
- 54. Karaaslan H, Bekta M, Soykan I, Bozkaya H.** Türkiye’de gönüllü kan donörlerinde *Helicobacter pylori* seroprevalansı. *Turk J Gastroenterol* 2003;14 Suppl 1:SB03/1.
- 55. Gomes B, Martinis E.** The significance of *Helicobacter pylori* in water, food and environmental samples. *Food Control.* 2004; 15:397-403.
- 56. Kato S, Fujimura S, Udagawa H, et al.** Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains in Japanese children. *J Clin Microbiol.* 2002 Feb;40(2):649-53.
- 57. Malaty HM, Graham DY, Isaksson I, Engstrand L, Pedersen NL.** Are genetic influences on peptic ulcer dependent or independent of genetic influences for *Helicobacter pylori* infection? *Arch Intern Med.* 2000 Jan 10;160(1):105-9.
- 58. Yilmaz E, Dogan Y, Gurgoze MK, Unal S.** Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection among children and their parents in eastern Turkey. *J Paediatr Child Health.* 2002 Apr;38(2):183-6.
- 59. Abasiyanik MF, Tunc M, Salih BA.** Enzyme immunoassay and immunoblotting analysis of *Helicobacter pylori* infection in Turkish asymptomatic subjects. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004 Nov;50(3):173-7

- 60. McColl KE.** Clinical practice. Helicobacter pylori infection. N Engl J Med. 2010 Apr 29;362(17):1597-1604.
- 61. Goodwin CS, Worsley BW.** Microbiology of Helicobacter pylori. Gastroenterol Clin North Am. 1993 Mar;22(1):5-19.
- 62. Wirth HP, Yang M, Peek RM, Tham KT, Blaser MJ.** Helicobacter pylori Lewis expression is related to the host Lewis phenotype. Gastroenterology. 1997 Oct;113(4):1091-8.
- 63. Sheu BS, Yang HB, Yeh YC, Wu JJ.** Helicobacter pylori colonization of the human gastric epithelium: a bug's first step is a novel target for us. J Gastroenterol Hepatol. Jan;25(1):26-32.
- 64. Alm RA, Ling LS, Moir DT, et al.** Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen Helicobacter pylori. Nature. 1999 Jan 14;397(6715):176-80.
- 65. Suerbaum S and Michetti P.** Helicobacter pylori infections. New Engl J M, 2002; 347:1175–1186.
- 66. Dunn BE.** Pathogenic mechanisms of Helicobacter pylori. Gastroenterol Clin North Am, 1993; 22(1):43-57.
- 67. Moran AD.** Pathogenic properties of Helicobacter pylori. Scand J Gastroenterol, 1996; 31(215):22-31.
- 68. Luciano LG, Ellen KF, Katia RL et al.** cagA, vacA alleles and babA2 genotypes of Helicobacter pylori associated with gastric disease in Brazilian adult patients. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2005; 51:231-235.
- 69. Marcelo LR, Godoy APO, Benvenuto YHB et al.** Clinical relevance of the cagA, vacA and iceA genotypes of Helicobacter pylori in Brazilian clinical isolates. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 2003; 36:181-185.
- 70. Hongxiang L, Hongtao Y, Agnes RF et al.** T(11;18) is a marker for all stage gastric MALT lymphomas that will not respond to H. pylori eradication. Gastroenterology, 2002; 122:1286-1294.
- 71. Yamaoka Y, Kikuchi S, El-Zimaity HM, Gutierrez O, Osato MS and Graham DY.** Importance of Helicobacter pylori oipA in clinical presentation, gastric inflammation, and mucosal interleukin 8 production Gastroenterology, 2002; 123:414-424.
- 72. Hatakeyama M and Brzozowski T.** Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Helicobacter, 2006; 11(1):14–20.
- 73. Rieder G, Merchant JL, Haas R.** Helicobacter pylori cag-type IV secretion system facilitates corpus colonization to induce precancerous conditions in Mongolian gerbils. Gastroenterology. 2005 May;128(5):1229-42.
- 74. Ribeiro ML, Godoy AP, Benvenuto YH, Mendonca S, Pedrazzoli J.** Clinical relevance of the cagA, vacA and iceA genotypes of Helicobacter pylori in Brazilian clinical isolates. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003 May 25;36(3):181-5.

- 75. Sozzi M, Tomasini ML, Vindigni C, et al.** Heterogeneity of *cag* genotypes and clinical outcome of *Helicobacter pylori* infection. *J Lab Clin Med.* 2005 Nov;146(5):262-70.
- 76. Correa P, Piazuelo MB.** Natural history of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Liver Dis.* 2008 Jul;40(7):490-496.
- 77. Saribasak H, Salih BA, Yamaoka Y, Sander E.** Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. *J Clin Microbiol.* 2004 Apr;42(4):1648-51.
- 78. Safak B, Ciftci IH, Dilek FH, et al.** Prevalence of *cagA* and *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* isolated from Turkish patients with active or non-active chronic gastritis. *Scand J Infect Dis.* 2010 Jul;42(6-7):435-8.
- 79. Nagiyev T, Yula E, Abayli B, Koksall F.** Prevalence and genotypes of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens from patients with gastroduodenal pathologies in the Cukurova Region of Turkey. *J Clin Microbiol.* 2009 Dec;47(12):4150-3
- 80. Kersulyte D, Mukhopadhyay AK, Velapatino B et al.** Differences in Genotypes of *Helicobacter pylori* from Different Human Populations. *Journal of Bacteriology*, **2000**; 182(11):3210-3218.
- 81. Blaser MJ, Perez-Perez, GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM et al.** Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res*, 1995; 55:2111–2115.
- 82. Bach S, Makristathis A, Pinto A, Quina M, Rotter M and Hirschl AM.** *Helicobacter pylori* type I strains among Austrian and Portuguese patients with gastritis, peptic ulcer or gastric cancer. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **1999**; 18:807–810.
- 83. Miehke S, Kirsch C, Agha-Amiri K, Gunther T et al.** The *Helicobacter pylori vacA s1, m1* genotype and *cagA* is associated with gastric carcinoma in Germany. *Int J Cancer*, **2000**; 87:322–327.
- 84. Abasiyanik MF, Sander E and Salih BA.** *Helicobacter pylori* anti-CagA antibodies: prevalence in symptomatic and asymptomatic subjects in Turkey. *Can J Gastroenterol*, **2002**; 16:527–532.
- 85. Nomura AM, Perez-Perez GI, Lee J, Stemmermann G and Blaser MJ.** Relation between *Helicobacter pylori cagA* status and risk of peptic ulcer disease. *Am J Epidemiol*, **2002**; 155:1054–1059.
- 86. Van Doorn LJ, Figueiredo C, Rossau R, Jannes G et al.** Typing of *Helicobacter pylori vacA* gene detection and *cagA* gene by PCR and reverse hybridization. *J Clin Microbiol*, 1998; 36:1271-1276.
- 87. Zhou J, Zhang J, Xu C and He L.** *cagA* genotype and variants in Chinese *Helicobacter pylori* strains and relationship to gastroduodenal diseases. *Journal of Medical Microbiology*, 2004; 53:231–235.
- 88. Mario MDE, Leif PA.** Inflammation, Immunity, and Vaccines for *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2009;14 Suppl 1:21-28
- 89. Cover TL.** The vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol.* 1996 Apr;20(2):241-6.

- 90.** Cover TL, Cao P, Lind CD, Tham KT, Blaser MJ. Correlation between vacuolating cytotoxin production by *Helicobacter pylori* isolates in vitro and in vivo. *Infect Immun.* 1993. Dec;61(12):5008-12.
- 91.** Correa P, Piazzuelo MB. Natural history of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Liver Dis.* 2008 Jul;40(7):490-6.
- 92.** Van Doorn LJ, Figueiredo C, Megraud F, Pena AS, Midolo P et al. Geographic distribution of vacA allelic types of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 1999; 116:823–830.
- 93.** Figueiredo C, Quint WGV, Sanna R, Sablon E, Donahue JP, Xu Q, Miller GG, Peek RM, Blaser MJ, van Doorn LJ. Genetic organization and heterogeneity of the iceA locus of *Helicobacter pylori*. *Gene*, 2000; 246:59–68.
- 94.** Raymond P, Diane P, Podzorski S, Ann W and Vasundhara T. Analysis of the vacA, cagA, cagE, iceA, and babA2 genes in *Helicobacter pylori* from sixty-one pediatric patients from the Midwestern United States. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2003; 46:83-88.
- 95.** Marcelo LR, Godoy APO, Benvenuto YHB et al. Clinical relevance of the cagA, vacA and iceA genotypes of *Helicobacter pylori* in Brazilian clinical isolates. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2003; 36:181-185.
- 96.** Occhialini A, Marais A, Alm R, Garcia F, Sierra R and Megraud F. Distribution of Open Reading Frames of Plasticity Region of Strain J99 in *Helicobacter pylori* Strains Isolated from Gastric Carcinoma and Gastritis Patients in Costa Rica. *Infection and Immunity*, 2000; 68(11):6240–6249.
- 97.** Santos A, Queiroz DMM, Menard A, Marais A et al. New Pathogenicity Marker Found in the Plasticity Region of the *Helicobacter pylori* Genome. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003; 41(4):1651–1655.
- 98.** Yula E. Bölgemizden izole edilen *Helicobacter pylori* su larının moleküler epidemiyolojik özelliklerinin tesbiti. Uzmanlık tezi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. 2009.
- 99.** Aygul K. Uzmanlık tezi. *Helicobacter pylori*'nin antral biyopsi Örneklerinden izolasyonu ve Antimikrobiklere duyarlılığı. 100. Yıl Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. 2006.
- 100.** Demiray E. *Helicobacter pylori* ve klaritromisin direncinin parafin bloklarda FISH yöntemi ile belirlenmesi. Yüksek Lisans tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2006.
- 101.** Kenneth W Tsang and Shu-Kum Lam. *Helicobacter pylori* and extradigestive diseases *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1999; 14, 844–850.
- 102.** Yılmaz YA: *Helicobacter pylori*: Mikrobiyolojik tanı yöntemleri, *Hacettepe Tıp Derg*; 35: 182-6, 2004.
- 103.** Binder HJ. Should we treated *H. pylori* infection to prevent gastric cancer? *Gastroenterology* 1997;112: 1044-1050.

- 104.** Sen N. Helicobacter pylori antijen ve DNA'sının dıskıda, IgG antikorunun serumda saptanması, invaziv ve invaziv olmayan tanı yöntemlerinin karşılaştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık tezi, 2004;10-41.
- 105.** Ovalı Ö, Baylan O. Klinik ve mikrobiyolojik açıdan Helicobacter pylori. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2004;34: 135-146.
- 106.** Siddique I, Al-Mekhaizeem K, Alateeqi N, Memon A, Hasan F. Diagnosis of Helicobacter pylori: improving the sensitivity of CLOtest by increasing the number of gastric antral biopsies. J Clin Gastroenterol. 2008 Apr;42(4):356-60.
- 107.** Vaira D, Gatta L, Ricci C and Miglioli M. Review article: diagnosis of Helicobacter pylori infection. Aliment Pharmacol Ther, 2002; 16(1):16–23.
- 108.** Jones DM, AM Less IIs, and J Eldridge. Campylobacter-like organisms on the gastric mucosa: culture, histological and serological studies. J. Clin. Pathol. 1984; 37:1002–1006.
- 109.** Tee W, Hinds S, Montgomery J and Dyall-Smith ML. A Probable New Helicobacter Species Isolated from a Patient with Bacteremia. Journal Of Clinical Microbiology, 2000; 38(10):3846–3848.
- 110.** Falush D, Wirth T, et al. Traces of human migrations in Helicobacter pylori populations. Science, 2003; 299, 1582-5.
- 111.** Valkonen KH, Wadstrom T, Moran A P. Identification of the N-acetylneuraminylactose specific laminin-binding protein of Helicobacter pylori. Infect. Immun. 1997; 65: 916–923.
- 112.** Kabir S. Detection of Helicobacter pylori in faeces by culture, PCR and enzyme immunoassay. J Med Microbiol 2001;50: 1021-1029.
- 113.** Kadayıfçı A, Savas MC. Helikobakter pilori: patogenezi, tanı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar. Güncel Gastroenteroloji 1997;1: 7-12.
- 114.** Schabereiter-Gyrtner C, Hirschl AM, Dragosics B, Hufnagl P et al. Novel real-time PCR assay for detection of Helicobacter pylori infection and simultaneous clarithromycin susceptibility testing of stool and biopsy specimens. J Clin Microbiol 2004;42: 4512-4518.
- 115.** Oleastro M, Menard A, Santos A, Lamouliatte H et al. Real-time PCR assay for rapid and accurate detection of point mutations conferring resistance to clarithromycin in Helicobacter pylori. J Clin Microbiol 2003;41: 397-402.
- 116.** Lascols C, Lamarque D, Costa J-M, Copie-Bergman C et al. Fast and Accurate Quantitative Detection of Helicobacter pylori and Identification of Clarithromycin Resistance Mutations in H. pylori Isolates from Gastric Biopsy Specimens by Real-Time PCR. J Clin Microbiol 2003;41: 4573– 4577.
- 117.** Graham SK, Graham DY. Contemporary diagnosis and management of H. Pylori associated gastrointestinal diseases. Second edition, USA, Handbooks in Health Care Co,2002; 40-125.

- 118. Suzuki H, Hibi T, Marshall BJ.** Helicobacter pylori: present status and future prospects in Japan. *J Gastroenterol.* 2007 Jan;42(1):1-15. Epub 2007 Feb 16. Review.
- 119. Bytzer P and O'Morian C.** Treatment of Helicobacter pylori, *Helicobacter*; 10(Supp 1): 40-6, 2005.
- 120. Labenz J, Malfertheiner P.** H.pylori in gastrooesophageal reflux disease: Causal agent, independent or protective factor? *Gut.* 1997; 41:277-80.
- 121. Vicari J, FaIk GW, Richter JE.** H.pylori and acid peptic disorders of the esophagus: Is it conceivable? *Am J Gastroenterol.* 1997; 92:1097-102.
- 122. Dökmeçi G.** Helicobacter pylori' nin tedavisinde kullanılan ilaçlar, Özden A(Ed): te Helicobacter pylori, gastrit, peptik ülser, Türk Gastroenteroloji Dernegi Yayını, 114-126, Ankara,1995.
- 123. Sprandel KA, Rodvold KA.** Safety and tolerability of fluoroquinolones. *Clin Cornerstone* 2003; 3 S29-36.
- 124. Balfour JA, Lamb HM.** Moxifloxacin: a review of its clinical potential in the management of community-acquired respiratory tract infections. *Drugs* 2000; 59: 115–39.
- 125. Heatley RV.** Helicobacter pylori el kitabı. kinci Baskı, stanbul, Blackwell Science, CSA, 1998; 1-35.
- 126. Wilson WR, Sande MA.** Current Diagnosis&Treatment in Infectious Diseases. International edition, USA, McGraw-Hill & Lange, 2001; 581-586.
- 127. Kempf VAJ, Trebesius K, Autenrieth IB.** Fluorescent in situ hybridization allows rapid identification of microorganisms in blood cultures. *J Clin Microbiol* 2000;38: 830-838.
- 128. Harris AW, and Misiewicz JJ:** Eradication of Helicobacter pylori, *Bailiere's Clinical Gastroenteroloji International practice and research, Calam J*, 9:3: 584-613, 1995.
- 129. Tytgat GNJ.** Review article: treatments that impact favourably upon the eradication of Helicobacter pylori and ulcer recurrence. Volume 8, 1994; Issue 4, Pages 359-368.
- 130. Ford A, Moayyedi P.** How can the current strategies for Helicobacter pylori eradication therapy be improved? *Can J Gastroenterol* 2003;17(SupplB):36–40B.
- 131. Marco Romano, Antonio Cuomo, Antonietta G Gravina, et al.** Empirical levofloxacin-containing versus clarithromycin-containing sequential therapy for Helicobacter pylori eradication: a randomise trial . *Gut* 2010 59: 1465-1470.
- 132. Molina-Infante J, Perez-Gallardo B, Fernandez-Bermejo M, Hernandez-Alonso M, Vinagre G, Dueñas C, Mateos-Rodriguez JM, Gonzalez-Garcia G, Abadia EG, Gisbert JP.** Clinical trial: clarithromycin vs. levofloxacin in first-line triple and sequential regimens for Helicobacter pylori eradication. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010 May;31(10):1077-84.

- 133. de Boer WA, Tytgat GN.** The best therapy for *Helicobacter pylori* infection: should efficacy or side-effect profile determine our choice? *Scand J Gastroenterol.* 1995 May;30(5):401-7.
- 134. Suzuki H, Hibi T, Marshall BJ.** *Helicobacter pylori*: present status and future prospects in Japan. *J Gastroenterol.* 2007 Jan;42(1):1-15. Epub 2007 Feb 16. Review.
- 135. Kadayifci A, Büyükhapoglu H, Cemil S, Simsek .** Eradication of *Helicobacter Pylori* with Triple Therapy: An Epidemiologic Analysis of Trends in Turkey over 10 years. *Clinical Therapeutics* Volume 28, Number 11, 2006
- 136. Zhao F, Wang J, Yang Y, Wang X, Shi R, Xu Z, Huang Z,Zhang G.** Effect of CYP2C19 genetic polymorphisms on the efficacy of proton pump inhibitor-based triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis. *Helicobacter*2008; 13: 532-541 *Gastroenterol* 1995;30:401-7.
- 137. Zhang ZF, Zhao G, Liu LN.** [Effectiveness and safety of proton pump inhibitor and levofloxacin based first-line triple therapy in the eradication of *Helicobacter pylori*: a metaanalysis] *Zhonghua Yixue Zazhi* 2008; 88: 2722-2725.
- 138. Buzás GM, Józán J.** Nitrofurantoin-based regimens for the eradication of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1571-1581.
- 139. Jafri NS, Hornung CA, Howden CW.** Meta-analysis: sequential therapy appears superior to standard therapy for *Helicobacter pylori* infection in patients naive to treatment. *Ann Intern Med* 2008; 148: 923-931.
- 140. Tong JL, Ran ZH, Shen J, Xiao SD.** Sequential therapy vs. standard triple therapies for *Helicobacter pylori* infection: a meta-analysis. *J Clin Pharm Ther* 2009; 34: 41-53.
- 141. Gatta L, Vakil N, Leandro G, Di Mario F, Vaira D.** Sequential therapy or triple therapy for *Helicobacter pylori* infection: systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials in adults and children. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 3069-3079.
- 142. Luther J, Higgins PD, Schoenfeld PS, Moayyedi P, Vakil N, Chey WD.** Empiric quadruple vs. triple therapy for primary treatment of *Helicobacter pylori* infection: Systematic review and meta-analysis of efficacy and tolerability. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:65-73.
- 143. Graham DY.** Efficient identification and evaluation of effective *Helicobacter pylori* therapies. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 145-148.
- 144. Bauernfeind A.** Comparison of the antibacterial activities of the quinolones Bay 12-8039, gatifloxacin (AM 1155), trovafloxacin, clinafloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:639-51.
- 145. Nista EC, Candelli M, Zocco MA et al.** Moxifloxacin-based strategies for first-line treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:1241-7.



- 146.** Liou JM, Lin JT, Chang CY, Chen MJ, Cheng TY, Lee YC, Chen CC, Sheng WH, Wang HP, Wu MS. Levofloxacin-based and clarithromycin-based triple therapies as first-line and second-line treatments for *Helicobacter pylori* infection: a randomised comparative trial with crossover design. *Gut*. 2010 May;59(5):572-8.
- 147.** Hung IF, Chan P, Leung S, Chan FS, Hsu A, But D, Seto WK, Wong SY, Chan CK, Gu Q, Tong TS, Cheung TK, Chu KM, Wong BC. Clarithromycin-amoxicillin-containing triple therapy: a valid empirical first-line treatment for *Helicobacter pylori* eradication in Hong Kong? *Helicobacter*. 2009 Dec;14(6):505-11.
- 148.** Bago J, Majstorovi K, Belosi -Halle Z, Ku isec N, Bakula V, Tomi M, Bago P, Troskot RAnn . Antimicrobial resistance of *H. pylori* to the outcome of 10-days vs. 7-days Moxifloxacin based therapy for the eradication: a randomized controlled trial. *Clin Microbiol Antimicrob*. 2010 Apr 15;9:13.
- 149.** Aydin A, Oruc N, Turan I, Ozutemiz O, Tuncyurek M, Musoglu A. The modified sequential treatment regimen containing levofloxacin for *Helicobacter pylori* eradication in Turkey. *Helicobacter*. 2009 Dec;14(6):520-4.
- 150.** Erçin CN, Uygun A, Toros AB, Kantarcio lu M, Kilciler G, Polat Z, Ba ci S. Comparison of 7- and 14-day first-line therapies including levofloxacin in patients with *Helicobacter pylori* positive non-ulcer dyspepsia. *Turk J Gastroenterol*. 2010 Mar;21(1):12-6.
- 151.** Gisbert JP, Morena F. Systematic review and meta-analysis: levofloxacin-based rescue regimens after *Helicobacter pylori* treatment failure. *Aliment Pharmacol. Ther* 2006;23:35–44
- 152.** Saad R, Schoenfeld P, Hyungjin MK, et al. Levofloxacin-based triple therapy versus bismuth-based quadruple therapy for persistent *Helicobacter pylori* infection: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2006;3:488–96.
- 153.** Cremonini, F. Canducci F. et al. *Helicobacter pylori* treatment: a role of probiotics? *Dig Dis*, 2001; 19, 144-7.
- 154.** Gerrits MM. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Erasmus MC, Netherlands* 2004; 21-28.
- 155.** Ciacci C, Sabbatini F, Cavallaro R, et al. *Helicobacter pylori* impairs iron absorption in infected individuals. *Dig Liver Dis* 2004;36:455–60.
- 156.** Romano, M., Iovene, M.R., Russo, M.I. et al. Failure of first-line eradication treatment significantly increases prevalence of antimicrobial-resistant *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Clin Pathol*, 61:1112–1115, 2008.
- 157.** Jüttner S, Vieth M, Miehke S, Schneider-Barchert W et al. Reliable detection of macrolide-resistant *Helicobacter pylori* via fluorescence in situ hybridization in formalin-fixed tissue. *Mod Pathol* 2004;17: 684-689.
- 158.** Çırak MY, Ünal S, Turet S, Dumlu GS ve ark. Klaritromisine dirençli ve duyarlı *Helicobacter pylori* suslarının midedeki dağılımı. 21. Ulusal Gastroenteroloji Haftası 31 Ağustos-5 Eylül 2004, Antalya SB 07/9. *The Turkish Journal of Gastroenterology* 2004;15:41.

- 159. Önder GF, Aydın A, Akarca US, Özütemiz Ö ve ark.** Ülkemizde *Helicobacter pylori*'nin klaritromisine direncinin real time PCR yöntemi ile araştırılması. 21. Ulusal Gastroenteroloji Haftası 31 Ağustos-5 Eylül 2004, Antalya SB07/5. The Turkish Journal of Gastroenterology 2004;15: 40.
- 160. Özden A, Bozdayı G, Bağlan P, Azap A ve ark.** *Helicobacter pylori*'nin klaritromisine karşı direncinin sıklığı. 21. Ulusal Gastroenteroloji Haftası 31 Ağustos-5 Eylül 2004, Antalya SB07/6. The Turkish Journal of Gastroenterology 2004;15: 40.
- 161. Hu CT, Wu CC, Lin CY et al.** Resistance rate to antibiotics of *Helicobacter pylori* isolates in eastern Taiwan. J GastroenterolHepatol 2007;22:720-3.
- 162. Megraud F, Lehours P.** *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. Clin Microbiol Rev 2007; 20: 280-322.
- 163. Storskrubb T, Aro P, Ronkainen J, Wreiber K, et al.** Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* strains in a random adult Swedish population. Helicobacter 2006; 11:224-30.
- 164. Özçay F, Koçak N, Temizel IN, Demir H, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection in Turkish children: comparison of diagnostic tests, evaluation of eradication rate, and changes in symptoms after eradication. Helicobacter 2004;9(3):242-8179
- 165. Hu CT, Wu CC, Lin CY, Cheng CC, et al.** Resistance rate to antibiotics of *Helicobacter pylori* isolates in eastern Taiwan. J Gastroenterol Hepatol. 2007; 22(5):720-3
- 166. Boyanova L, Mentis A, Gubina M, Rozynek E, et al.** The status of antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in eastern Europe. Clin Microbial Infect 2002; 8:388-96
- 167. Storskrubb T, Aro P, Ronkainen J, Wreiber K, et al.** Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* strains in a random adult Swedish population. Helicobacter 2006; 11:224-30.
- 168. Kantarçeken B, Yıldırım B, Karıncao lu M, Alada M, Hilmio lu F.** *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance. Turk J Gastroenterol 2000; 11(2):141-5
- 169. Branca G, Spanu T, Cammarota G, Schito AM, et al.** High levels of dual resistance to clarithromycin and metronidazole and in vitro activity of levofloxacin against *Helicobacter pylori* isolates after failure of therapy, Int J Antimicrob Agents 2004; 24:433-8
- 170. Kato M, Yamaoka Y, Kim JJ, Reddy R, Asaka M, Kashima K, et al.** Regional differences in metronidazol resistance and increasing clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* isolates from Japan. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 2214-6.
- 171. Kim JJ, Reddy R, Lee M, Kim JM, Osato MS, Graham DY, et al.** Analysis of metronidazole, clarithromycin and tetracycline resistance of *Helicobacter pylori* isolates from Korea. J Antimicrob Chemother 2001; 47:459-61.

- 172. Kim JM, Kim JS, Kim N, Kim SG, Jung HC, Song IS.** Comparison of primary and secondary antimicrobial minimum inhibitory concentrations for *Helicobacter pylori* isolated from Korean patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2006 Jul;28(1):6-13. Epub 2006 Jun 5.
- 173. Van Doorn LJ, Glupczynski Y, Kusters JG, Megraud F et al.** Accurate prediction of macrolide resistance in *Helicobacter pylori* by a PCR line probe assay for detection of mutations in the 23S rRNA gene: multicenter validation study. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;5: 1500–1504.
- 174. Mégraud F.** Resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics and its impact on treatment options. *Drug Resist Updat* 2001;4: 178-186.
- 175. Shiota S, Yamaoka Y.** Management of *Helicobacter pylori*. *F1000 Med Rep*. 2010 Mar 15;2. pii: 20.
- 176. Branca G, Spanu T, Cammarota G, Schito AM, Gasbarrini A, Gasbarrini GB, Fadda G.** High levels of dual resistance to clarithromycin and metronidazole and in vitro activity of levofloxacin against *Helicobacter pylori* isolates from patients after failure of therapy. *Int J Antimicrob Agents*. 2004 Nov;24(5):433-8.
- 177. Baglan PH, Bozdayi G, Ozkan M, Ahmed K, Bozdayi AM, Ozden A.** Clarithromycin resistance prevalence and *Icea* gene status in *Helicobacter Pylori* clinical isolates in Turkish patients with duodenal ulcer and functional dyspepsia. *J Microbiol*. 2006 Aug;44(4):409-16.
- 178. Aydin A, Onder GF, Akarca US, Tekin F, Tunçyürek M, Muso lu A.** The efficacy of two-week therapy with ranitidine bismuth citrate, amoxicillin and clarithromycin on *Helicobacter pylori* eradication in clarithromycinresistant and- sensitive cases. *Turk J Gastroenterol*. 2005 Dec;16(4):203-6. 198
- 179. Onder G, Aydin A, Akarca U, Tekin F, Ozutemiz O, Ilter T.** High *Helicobacter pylori* resistance rate to clarithromycin in Turkey. *J Clin Gastroenterol*. 2007 Sep;41(8):747-50.
- 180. Bakir Ozbey S, Ozakin C, Keskin M.** Antibiotic resistance rates of *Helicobacter pylori* isolates and the comparison of E-test and fluorescent in situ hybridization methods for the detection of clarithromycin resistant strains. *Mikrobiyol Bul*. 2009 Apr;43(2):227-34.
- 181. Sezgin O, Aslan G, Altinta E, Tezcan S, Serin MS, Emekda G.** Detection of point mutations on 23S rRNA of *Helicobacter pylori* and resistance to clarithromycin with PCR-RFLP in gastric biopsy specimens in Mersin, Turkey. *Turk J Gastroenterol*. 2008 Sep;19(3):163-7.
- 182. Clinical and Laboratory Standards Institute.** Antimikrobik duyarlılık testleri için uygulama standartları 16. Bilgi Eki. M100-S16 Cilt 26 Sayı 3 Pp 142. (2006).
- 183. Blaser MJ.** *Helicobacter pylori* and related organisms. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE. editors. Principles and practice of infectious diseases. 5th edition, New York: C. Livingstone; 2000. p. 2285-2293.
- 184. Kadanah A, Özkurt Z.** *Helicobacter pylori* nfeksiyonu: Epidemiyoloji, Patogenez ve li kili hastalıkları. *Klimik* 2004;17: 146-150.

- 185. Versalovic J, Fox JG.** Helicobacter. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH. Manual of Clinical Microbiology, 8th edition, USA, ASM pres, 2003. p. 915-928.
- 186. Özkaya A.** Hemodiyaliz Hastalarında H.pylori enfeksiyonu Sıklığı ve Bunun Dispeptik yakınmalarla ilişkisi. Uzmanlık tezi. Bakırköy Dr. Sadıkonuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2005
- 187. Demiray E.** Helicobacter pylori ve klaritromisin direncinin parafin bloklarda FISH yöntemi ile belirlenmesi. Yüksek Lisans tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2006.
- 188. Marshall BJ, McGeachie DB, Rogers PA, Glancy RJ.** Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med JAust 1985;142:439-44.
- 189. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Perez-Perez GI, Blaser MJ.** Helicobacter pylori infection and the risk for duodenal and gastric ulceration. Ann Intern Med 1994;120:977-81.
- 190. Rauws EA, Tytgat GN.** Cure of duodenal ulcer associated with eradication of Helicobacter pylori. Lancet 1990;335:1233-5.
- 191. Marshall BJ, Goodwin CS, Warren JR, Murray R, Blincow ED, Blackbourn SJ, et al.** Prospective double-blind trial of Duodenal ulcer relapse after eradication of Campylobacter pylori. Lancet 1988;2:1437-42.
- 192. Penston JG.** Review article: Helicobacter pylori eradication— understandable caution but no excuse for inertia. Aliment Pharmacol Ther 1994;8:369-89.
- 193. Laine L, Hopkins RJ, Girardi LS.** Has the impact of Helicobacter pylori therapy on ulcer recurrence in the United States been overstated? A meta-analysis of rigorously designed trials. Am J Gastroenterol 1998;93:1409-15.
- 194. Axon AT, O'Morain CA, Bardhan KD, Crowe JP, Beattie AD, Thompson RP, et al.** Randomised double blind controlled study of recurrence of gastric ulcer after treatment for eradication of Helicobacter pylori infection. BMJ 1997;314:565-8.
- 195. Lazzaroni M, Perego M, Bargiggia S, Maconi G, Fiocca R, Solcia E, et al.** Helicobacter pylori eradication in the healing and recurrence of benign gastric ulcer: a two-year, double-blind, placebo controlled study. Ital J Gastroenterol Hepatol 1997;29:220-7.
- 196. Seppala K, Pikkarainen P, Sipponen P, Kivilaakso E, Gormsen MH.** Cure of peptic gastric ulcer associated with eradication of Helicobacter pylori. Finnish Gastric Ulcer Study Group. Gut 1995;36:834-7.
- 197. Correa P, Cuello C, Duque E.** Gastric cancer in Colombia. III. Natural history of precursor lesions. J Natl Cancer Inst 1976;57:1027-35.
- 198. Suzuki H, Hibi T.** Oxidative stress in Helicobacter pylori associated gastroduodenal disease. J Clin Biochem Nutr 2006;39:56-63.

- 199. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al.** Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000;404:398–402.
- 200. Figueiredo C, Machado JC, Pharoah P, Seruca R, Sousa S, Carvalho R, et al.** Helicobacter pylori and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1680–7.
- 201. Sipponen P, Kekki M, Haapakoski J, Ihamaki T, Siurala M.** Gastric cancer risk in chronic atrophic gastritis: statistical calculations of cross-sectional data. *Int J Cancer* 2005;35:173–7.
- 202. IARC Working Group** on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994;61:177–240.
- 203. Parkin DM.** Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001;2:533–43.
- 204. J Parsonnet, GD Friedman, DP Vandersteen, Y Chang, JH Vogelman, N Orentreich, and RK Sibley.** Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. *NEJM*, 1991; Volume 325:1127–1131.
- 205. Ernst J Kuipers, Guillermo I Pérez-Pérez, Stephan GM Meuwissen, Martin J Blaser.** Helicobacter pylori and Atrophic Gastritis: Importance of the cagA 1780.
- 206. Leung WK, Lin SR, Ching JY, To KF, Ng EK, Chan FK, et al.** Factors predicting progression of gastric intestinal metaplasia: results of a randomised trial on Helicobacter pylori eradication. *Gut* 2004;53:1244–9.
- 207. Mera R, Fonham ET, Bravo LE, Bravo JC, Piazuolo MB, Camargo MC, et al.** Long term follow up of patients treated for Helicobacter pylori infection. *Gut* 2004;54:1536–40.
- 208. Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, et al.** Helicobacter pylori eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:187–94.
- 209. Sasazuki S, Inoue M, Iwasaki M, Otani T, Yamamoto S, Ikeda S, et al.** Effect of Helicobacter pylori infection combined with CagA and pepsinogen status on gastric cancer development among Japanese men and women: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:1341–7.
- 210. Eidt S, Stolte M, Fischer R.** Helicobacter pylori gastritis and primary gastric non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Pathol* 1994;47:436–9.
- 211. Ilver D, A Arnquist, J Ögren, I Frick, D Kersulyte, ET Incecik, D E Berg, A Covacci, L Engstrand, and T Borén.** Helicobacter pylori adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* 1998; 279:373-377.
- 212. Correa P.** Bacterial infections as a cause of cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:E3.
- 213. Fischbach W, Dragosics B, Kolve-Goebeler ME, Ohmann C, Greiner A, Yang Q, et al.** Primary gastric B-cell lymphoma: results of a prospective multicenter study. The German-Austrian Gastrointestinal Lymphoma Study Group. *Gastroenterology* 2000;119:1191–202.

- 214. Parsonnet J, Isaacson PG.** Bacterial infection and MALT lymphoma. *N Engl J Med* 2004;350:213–5.
- 215. Bayerdorffer E, Neubauer A, Rudolph B, Thiede C, Lehn N, Eidt S, & Stolte M.** Regression of primary gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after cure of *Helicobacter pylori* infection. MALT Lymphoma Study Group. *Lancet* 1995; 345, 1591–1594.
- 216. Raderer M, Streubel B, Woehrer S, Puespoek A, Jaeger U, Formanek M, et al.** High relapse rate in patients with MALT lymphoma warrants lifelong follow-up. *Clin Cancer Res* 2005; 11:3349–52.
- 217. Inagaki H, Nakamura T, Li C, Sugiyama T, Asaka M, Kodaira J, et al.** Gastric MALT lymphomas are divided into three groups based on responsiveness to *Helicobacter Pylori* eradication and detection of API2-MALT1 fusion. *Am J Surg Pathol* 2004;28:1560–7.
- 218. Liu H, Ye H, Ruskone-Fourmestraux A, De Jong D, Pileri S, Thiede C, et al.** T(11;18) is a marker for all stage gastric MALT lymphomas that will not respond to *H. pylori* eradication. *Gastroenterology* 2002;122:1286–94.
- 219. Labenz J, Malfertheiner P.** *H.pylori* in gastroesophageal reflux disease: Causal agent, independent or protective factor? *Gut.* 1997; 41:277-80.
- 220. Vicari J, Falk GW, Richter JE.** *H.pylori* and acid peptic disorders of the esophagus: Is it conceivable? *Am J Gastroenterol.* 1997; 92:1097-102.
- 221. Kuipers EJ, Nelis GF, Klinkenberg-Knol EC, et al.** Cure of *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux oesophagitis treated with long term omeprazole reverses gastritis without exacerbation of reflux disease: results of a randomised controlled trial. *Gut* 2004;53:12–20.
- 222. Francesco Franceschi and Antonio Gasbarrini.** *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 2007; Vol. 21, No. 2, pp. 325-334.
- 223. Kenneth W Tsang and Shu-Kum Lam.** *Helicobacter pylori* and extra-digestive diseases *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1999; 14, 844–850.
- 224. Giuseppe Realdi, Maria P Dore, Laura Fastame.** Extradigestive Manifestations Of *Helicobacter Pylori* Infection. *Digestive Diseases And Sciences,* 1999; Vol. 44, No. 2. Pp.
- 225. Veneri D, Krampera M, Franchini M.** High prevalence of sustained remission of idiopathic thrombocytopenic purpura after *Helicobacter pylori* eradication: a long-term follow-up study. *Platelets* 2005;16:117–9.
- 226. Asahi A, Kuwana M, Suzuki H, Hibi T, Kawakami Y, Ikeda Y.** Effects of a *Helicobacter pylori* eradication regimen on antiplatelet autoantibody response in infected and uninfected patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2006;91:1436–7.
- 227. Roland, N., Alertia, E., Juliet, E.A.** *Helicobacter pylori* isolates recovered from gastric biopsies of patients with gastro-duodenal pathologies in Cameroon: current status of antibiogram. *Tropical Medicine and International Health,* volume, 2008; 13(6):848-54.

- 228.** Bartoleme, L.O., Vasallo, M.A., Armengol, R.J.A., Garza, P.J.J. Microbiologic diagnosis of *H. pylori* and its resistance to antibiotics. Rev Clin Esp, 1998; 198(7):420-23.
- 229.** Göral, V., Zeyrek, F.Y., Gül, K. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda antibiyotik direnci. T Klin Gastroenterohepatol, 2000; 11:87-92.
- 230.** Engin, D., Erci, S., Özasan, E. et al. E-test yöntemi ile *H. pylori*'nin çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılığının belirlenmesi. Turk J Gastroenterol, 2001; 12(Suppl):SB/15.
- 231.** Mishra KK, Srivastava S, Dwivedi PP, Prasad KN, Ayyagari A. UreC PCR based diagnosis of *Helicobacter Pylori* infection and detection of *cag A* gene in gastric biopsies. Indian J Pathol Microbiol 2002;45(1):31-7.
- 232.** Bickley J, Owen RJ, Fraser AG, Pounder RE. Evaluation of the polymerase chain reaction for detecting the urease C gene of *Helicobacter Pylori* in gastric biopsy samples and dental plaque. J Med Microbiol 1993;39(5):338-44.
- 233.** Yetkin M. Mide Duedenum Hastalıklarında zole Edilen *Helicobacter* Su larında Amoksisilin, Klaritromisin, Tetrasiklin, Metranidazol ve Rifampisin Direncinin Agar Dilüsyon Yöntemiyle Ara tırılması. Uzmanlık Tezi, Adana, 2006.
- 234.** Kantarceken B, Aladag M, Atik E, Koksall F et al. Association of *CagA* and *VacA* presence with ulcer and non-ulcer dyspepsia in a Turkish population. World J Gastroenterol, 2003; 9(7):1580-1583.
- 235.** Bolek BK, Salih BA, Sander E. Genotyping of *Helicobacter pylori* strains from gastric biopsies by multiplex polymerase chain reaction. How advantageous is it? Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2007
- 236.** Montgomery, D.M., Martin, D.F., Peura, D.A.: Rapid diagnosis of *Camphylobacter pylori* by Gram stain. Am J Clin Pathol, 90: 606-609, 1998.
- 237.** Özardalı H , Bitiren M, Nazlıgül Y, Yılmaz N. anlıurfa yöresinde nonerosiv gastritlerde *Helicobacter pylori* sıklığı. Genel Tıp Derg 1998;8:149-52.
- 238.** Hashami MR, Rahnavardi M, Bikdeli B, Dehahoni M. *Helicobacter pylori* infection among 1000 southern Iranian dyspeptic patients. World J Gastroenterol 2006;12:5479-82.
- 239.** Konakci N.,Gulten M.,Yorulmaz H. Kronik Aktif Gastritli Olgularda *Helicobacter Pylori* SıklığıUluda Üniversitesi Tıp Fak. Derg. 36 (1) 7-10, 2010.
- 240.** Alvarez A, Moncayo JI, Santacruz JJ, Santacoloma M, et al. Antimicrobial susceptibility and mutations involved in clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* isolates from patients in the Western Central Region of Colombia. Antimicrob Chemother. 2009; 53(9):4022-4
- 241.** Ahmad N, Zakaria WR, Abdullah SA, Ahmad RM. Characterization of clarithromycin resistance in Malaysian isolates of *Helicobacter pylori*. World J Gastroenterol 2009; 15(25): 3161-5
- 242.** Alarcón T, Domingo D, Prieto N and López-Brea L. Clarithromycin resistance stability in *Helicobacter pylori*: influence of the MIC and type of mutation in the 23S rRNA. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2000; 40:613-616
- 243.** Matsumura M, Hikiba Y, Ogura K, Togo G, Tsukuda I, Ushikawa et al., Rapid detection of mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* that confers resistance to clarithromycin treatment to the bacterium. J. Clin. Microbiol. 2001; 39:691-695

- 244.** Li-Hui Wang, Hong Cheng, Fu-Lian Hu, Jiang Li. Distribution of *gyrA* mutations in fluoroquinolone-resistant *Helicobacter pylori* strains. *World J Gastroenterol* 2010 May 14; 16(18): 2272-2277.
- 245.** Nicoline F., Roland N. Ndip. Molecular Detection of Antibiotic Resistance in South African Isolates of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Research and Practice* Volume 2013 (2013)
- 246.** Qinjuan, S., Xiao, L., Qing, Z., et al.: High efficacy of 14-day triple therapy-based, bismuth- containing quadruple therapy for initial *Helicobacter pylori* eradication. Blackwell Publishing Ltd, *Helicobacter*, 15:233–238, 2010.
- 247.** Önder, G., Aydın, A., Akarca, U. et al.: High *Helicobacter resistance* rate to clarithromycin in Turkey. *J Clin Gastroenterol*, 41(8):747-750, 2007.
- 248.** Saribas Z, Demir H, Saltik Temizel İN, Simsek H, Ozen H, Akyon Y. Detection of *cagA* prevalence in clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44(3): 461-5.
- 249.** Karaman M, Abacıoğlu H, Topalak ÖS, İmrek . Peptik ülserli ve ülser olmayan dispepsili hastaların mide doku örneklerinde *Helicobacter pylori vacA* ve *cagA* genlerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(1): 11-20.
- 250.** Erzincan Y, Altun S, Dobrucali A, et al. Analysis of serum antibody profile against *H.pylori VacA* and *CagA* antigens in Turkish patients with duodenal ulcer. *World J Gastroenterol* 2006; 12(42): 6869-73.
- 251.** Guducuoglu H, Berktaş M, Bozkurt H, et al. Evaluation of western blot method for the detection of antibodies to *Helicobacter pylori* antigens in patients with gastric carcinoma and cases with epigastric complaints. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44(1): 21-8.
- 252.** Yakoob J, Jafri W, Abbas Z, Abid S, Naz S, Khan R, et al. Risk factors associated with *Helicobacter pylori* infection treatment failure in a high prevalence area. *Epidemiol Infect* 2010;139(4):581-90.
- 253.** Suzuki T, Matsuo K, Sawaki A, Ito H, Hirose K, Wakai K, et al. Systematic review and meta-analysis: importance of *CagA* status for successful eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24(2):273-80.
- 254.** Salih BA, Abasiyanik MF, Ahmed N. A preliminary study on the genetic profile of *cag* pathogenicity-island and other virulent gene loci of *Helicobacter pylori* strains from Turkey. *Infect Genet Evol* 2007;7(4):509-12.
- 255.** Aydın F, Kaklıkkaya N, Özgür O, Cubukcu K, Kilic AO, Tosun I, et al. Distribution of *vacA* alleles and *cagA* status of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease and non-ulcer dyspepsia. *Clin Microbiol Infect* 2004;10(12):1102-4.



## 7.TABLO D Z N

	Sayfa
<b>Tablo 2.1:</b> <i>H.pylori</i> tanısında kullanılan testlerin özellikler.....	26
<b>Tablo 2.2:</b> <i>H.pylori</i> eradikasyon tedavisi verece imiz endikasyonlar.....	33
<b>Tablo 2.3:</b> <i>H.pylori</i> için önerilen tedavi rejimleri.....	42
<b>Tablo 3.1:</b> Çalı mada kullanılan antibiyotikler için MIC de erleri.....	48
<b>Tablo 3.2:</b> Çalı mamızda kullanılan primerler.....	51
<b>Tablo 4.1:</b> Hastaların cinsiyete göre da ılımı.....	58
<b>Tablo 4.2:</b> glmM genini hedefleyen PCR testi ile <i>H.pylori</i> da ılımı.....	59
<b>Tablo 4.3:</b> Kültür ve glmM-PCR ile saptanan <i>H.pylori</i> pozitifli inin da ılımı.....	59
<b>Tablo 4.4:</b> <i>H.pylori</i> pozitif hastaların endoskopik bulgulara göre da ılımı.....	60
<b>Tablo 4.5:</b> PCR ile <i>H.pylori</i> pozitif saptanan olgularda virülans faktörleri.....	61
<b>Tablo 4.6:</b> Endoskopik bulgularla virulans faktörleri arasındaki ili ki.....	62
<b>Tablo 4.7:</b> Patolojik inceleme sonucu <i>H.pylori</i> sıklı 1.....	62
<b>Tablo 4.8:</b> Hastaların Patolojik Tanıları.....	63
<b>Tablo 4.9:</b> Histopatolojide belirtilen alt tiplere göre <i>H.pylori</i> sıklı ının da ılımı.....	63
<b>Tablo 4.10:</b> Farklı Yöntemlerle Elde Edilen <i>H.pylori</i> Sıklı 1.....	64
<b>Tablo 4.11:</b> <i>H. pylori</i> su ları ile yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	65
<b>Tablo 4.12:</b> Cinsiyete göre antibiyotik direnç oranları.....	65
<b>Tablo 4.13:</b> Endoskopik bulgulara göre antibiyotik dirençleri.....	66
<b>Tablo 4.14:</b> Antibiyotik Duyarlılı ı ile Virülans Faktörlerinin li kisi.....	67
<b>Tablo 4.15:</b> Genotiplerle Antibiyotik Direnci Arasındaki li ki.....	67
<b>Tablo 4.16:</b> Klaritromisin Nokta Mutasyon Sıklı 1.....	68

## ÖZGEÇM

1981 yılında Kahramanmara 'ın Pazarcık ilçesinde do dum. İlk ve orta öğrenimimi Kahramanmara 'ta tamamladım. 2000 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde öğrenime başladım ve 2006 yılında mezun oldum. 2006-2009 yılları arasında Pazarcık Merkez 1 No'lu Sağlık Oca ında pratisyen doktor olarak çalıştım. 2009 yılında Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda ara tırma görevlisi doktor olarak çalışmaya başladım ve halen görevime devam etmekteyim. Orta seviyede İngilizce bilmekte ve evliyim.

Dr. Can CANGÜR