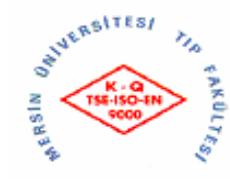




T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM  
DALI



**MİDE, DUODENUM BİYOPSİ ÖRNEKLERİNDEN  
*HELICOBACTER PYLORI*'NİN İZOLASYONU VE  
ANTİMİKROBİK DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Umut (ÇAĞDAŞ) DAĞDARTAN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

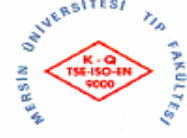
**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Zehra Feza OTAĞ**

**MERSİN-2011**



T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM  
DALI



**MİDE, DUODENUM BİYOPSİ ÖRNEKLERİNDEN  
*HELICOBACTER PYLORI*'NİN İZOLASYONU VE  
ANTİMİKROBİK DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Umut (ÇAĞDAŞ) DAĞDARTAN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Zehra Feza OTAĞ**

**Bu tez BAP-TF TTB (UÇ) 2009-1 TU kodlu proje olarak  
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından  
desteklenmiştir.**

**MERSİN-2011**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her konuda yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ'a ve başta tez danıŐmanım Sayın Doç. Dr. Feza OTAĞ olmak üzere değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Gönül ASLAN, Sayın Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK ve Sayın Doç. Dr. Nuran DELİALİOĞLU'na eğitim ve öğretimime katkılarından dolayı, tezimin moleküler aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın Yrd. Doç. Dr. Seda TEZCAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince ve mide biyopsi örneklerinin alınması aşamasında her türlü olanağı ve desteği sağlayan başta Sayın Prof. Dr. Orhan SEZGİN olmak üzere Gastroenteroloji polikliniği ve endoskopi ünitesi çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca laboratuvar ortamında sonsuz destek ve katkılarını gördüğüm tüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince maddi ve manevi destekleri ve sabırlarından dolayı aileme, sevgili eşime, İlgin'ıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Umut (Çağdaş) DAĞDARTAN

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa no</b>
<b>ÖZET</b>	5
<b>ABSTRACT</b>	6
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	7
<b>GENEL BİLGİLER</b>	9
Tarihçe	9
Epidemiyolojik özellikleri	11
Sınıflandırma	13
Mikrobiyolojik özellikleri	16
Morfolojisi ve boyanma özellikleri	16
Üreme ve kültür özellikleri	17
Biyokimyasal özellikleri	18
Hücre duvarı ve antijenik yapı	18
Genomik özellikler	19
Virülans faktörleri ve patogenez	21
Kolonizasyon ve konak savunmasından korunma faktörleri	24
Doku hasarı oluşturan virülans faktörleri	26
Hastalıklarla ilişkisi	29
Tanı	33
İnvaziv tanı yöntemleri	34
Kültür	34
Histolojik inceleme	35
Biyopsi üreaz testi	36
Moleküler yöntemler	37
Floresan in situ hibridizasyon (FISH)	38
Non-invaziv tanı yöntemleri	38
Serolojik testler	38
Üre nefes testi(ÜNT)	39
Dışkı örneklerinde kullanılan tanı yöntemleri	39
Tedavi	40
Antibiyotik direnci	45
Primer (doğal) direnç	45
Sekonder (kazanılmış) direnç	45

<i>H. pylori</i> eradikasyonunda kullanılan antibiyotikler	49
Korunma ve aşı çalışmaları	49
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	51
Hasta grubu	51
Kullanılan araç ve gereçler	51
Hazırlanan deney ortamları	53
Yöntem	55
Örneklerin toplanması	55
Biyopsi örneklerinin mikrobiyolojik yönden incelenmesi	55
Antibiyotik duyarlılık testleri	58
HpSA testi	60
Klaritromisin direncinin PCR-RFLP ile tespiti	64
<b>BULGULAR</b>	66
<b>TARTIŞMA</b>	74
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	81
<b>KAYNAKLAR</b>	82
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b>	94
<b>ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ</b>	96
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	97

## ÖZET

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) insanlarda en sık görülen kronik bakteriyel infeksiyonlardan biridir. *H. pylori* gastrit, gastrik ve duodenal ülser, gastrik adenokarsinoma ve mukoza-ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoma da major patojen olarak bildirilmektedir. *H. pylori*'nin tanımlanması için endoskopi gerektirmeyen non-invaziv testler; C<sup>13</sup> üre nefes testi, serolojik yöntemler, dışkı kültürü, dışkıda antijen aranması, dışkıdan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile etkenin aranmasıdır. Endoskopi gerektiren invaziv yöntemler ise; kültür, histopatolojik inceleme, hızlı üreaz testi, moleküler yöntemlerdir. İnfeksiyonun eradikasyonunda klaritromisin ve amoksisilin ya da metranidazol ile proton pompa inhibitörü (PPI) veya ranitidin bizmut sitratın kombine kullanıldığı üçlü tedavi protokolü uygulanmaktadır. Ancak günümüzde antibiyotik direnci artmakta ve eradikasyon tedavisinin başarısını azaltmaktadır.

Bu çalışmada; dispeptik şikayetlerle Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Polikliniği'ne başvuran 149 hastanın mide antrum biyopsi örneklerinde kültür, PZR ve üreaz testi; dışkı örneklerinde ise ELISA yöntemiyle *H. pylori* varlığının araştırılması ve tetrasiklin, amoksisilin, metronidazol, levofloksasin antimikrobik dirençlerinin E-test, klaritromisin direncinin hem E-test, hem PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemleriyle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Kültür yöntemiyle 43, üreaz test ile 80, HpSA ile 65, PZR ile 102 olguda *H. pylori* saptanmıştır. Kültür, PZR, HpSA ve üreaz testi yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %52,44 ve %100,00, %96,34 ve %62,30, %80,28 ve %81,40, %86,59 ve %85,71 olarak saptanmıştır. E-test ile yapılan antibiyotik duyarlılık testinde klaritromisine %18,2, tetrasikline %9,1, amoksisiline %0,0, metronidazole %45,5, levofloksasine %18,2, PCR-RFLP ile klaritromisine %18,1 direnç saptanmıştır. Nükleotid 2144'te %64,7, nükleotid 2143'te %35,3 nokta mutasyonu saptanmıştır.

Sonuç olarak *H.pylori*'nin doğru tanı ve tedavisi oldukça önemlidir. Bakteri varlığını göstermek için non-invaziv bir test olan HpSA kullanılabilir. Tedavi başarısızlığı durumunda kültür yapılarak antibiyotik duyarlılığı araştırılmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** *Helicobacter pylori*, klaritromisin direnci, HpSA, C<sup>13</sup> üre nefes testi, PCR-RFLP

## ABSTRACT

### THE ISOLATION OF HELICOBACTER PYLORI FROM STOMACH, DUODENUM BIOPSY SAMPLES AND INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is one of the most common infections in human. *H. pylori* is reported as major pathogen in gastritis, gastric and duodenal ulcer, gastric adenoid carcinoma and mucosa-associated lymphoid tissue (MALT). Non-invasive tests without endoscopy are C<sup>13</sup> urea breath test, serological methods, stool culture, stool antigen test, investigation of pathogen from stool by Polymerase Chain Reaction (PCR) for detection of *H. pylori*. Invasive methods involving endoscopy are culture, histopathology examination, rapid urease test and molecular methods. Triple treatment regime, clarithromycin and amoxicillin or metronidazole with proton pump inhibitor (PPI) or ranitidine bismute citrate combination are applied for infection eradication. But nowadays, increasing antibiotic resistance is diminishing eradication treatment success.

The aim of this study is establishing of *H. pylori* in 149 patients' stomach antrum biopsy samples, applied Mersin University Faculty of medicine, Department of Internal medicine, Gastroenterology clinic, by culture, PCR and urease test and detection of *H. pylori* existence in stool samples by ELISA and determining antimicrobial resistance by E test, PCR-RFLP for clarithromycin resistance. *H. pylori* was detected in 43 samples by culture, 80 samples by urease test, 65 samples by HpSA and 102 samples by PCR. The sensitivity and specificity of culture, PCR, HpSA and urease tests were determined as %52,44 and %100,00, %96,34 and %62,30, %80,28 and %81,40, %86,59 and %85,71. The resistance to clarithromycin %18,2, tetracycline %9,1, amoxicillin %0,0, metronidazole %45,5 and levofloxacin %18,2 were detected by E test. Clarithromycin resistance was established as % 18,1 by PCR-RFLP. The point mutation ratio in nucleotide 2144 was detected %64,7 and %35,3 in nucleotide 2143.

Finally, accurate diagnosis and treatment of *H. pylori* is significant. HpSA non-invasive test could be used for bacteria existence. Antibiotic sensitivity should be investigated by culture methods in the state of treatment failure.

**Key words:** *Helicobacter pylori* , clarithromycin resistance, HpSA, C13 urea breath test, PCR-RFLP

## GİRİŞ VE AMAÇ

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*), insanların midesine yerleşen Gram negatif, kıvrık veya spiral biçimde, bir ucunda 4-6 adet kirpiği bulunan, hareketli, oksidaz, katalaz ve üreaz pozitif olan mikroaerofilik bir organizmadır<sup>1</sup>. Bu mikroorganizma vücuda bir defa girdiğinde, tedavi edilmediği takdirde yaşam boyu varlığını devam ettirmektedir. Yapılan ilk çalışmalarda bu bakterinin mide içerisinde normal flora üyesi olarak bulunduğu iddia edilse de günümüzde yapılan çalışmalar, *H. pylori*'nin lokal inflamasyon ve sistemik olarak humoral bağışık yanıtı neden olduğunu göstermiştir. Bu nedenle bu mikroorganizmanın mide içerisindeki varlığı normal flora üyesi olamayacağını, patojen kabul edilmesi gerektiğini göstermiştir<sup>2</sup>. Avustralya'da patolog olarak çalışan Robin Warren, ilk defa 1979 yılında histopatolojik inceleme için gönderilen gastrik biyopsi örneklerinde kıvrık bakterilerin varlığını gözlemlemiştir. Bu bakterilerin gastrik mukozada değil, dokuyu örten mukus tabakası içinde yerleştiğini saptamıştır. Barry Marshall, 1981 yılında Warren ile birlikte izolasyon çalışmalarına başlamıştır. İlk kez 1983 yılında bakteri mide mukozasından izole edilmiş ve kronik gastrit ile ilişkisine dikkat çekilmiştir. İlk önceleri bu mikroorganizma kıvrık ve Gram negatif bir basil şeklinde olduğu için *Campylobacter* cinsi içinde değerlendirilmiş, bakteriye *Campylobacter pyloridis* adı verilmiştir. Daha sonra yapılan genotipik ve fenotipik araştırmalarla 1989'da ayrı bir cins olduğu kabul edilerek *Helicobacter pylori* adını almıştır<sup>3,4,5</sup>.

1994 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institutes of Health) *H. pylori*'nin peptik ülser hastalığının başlıca nedeni olduğu ve infekte bireylerin organizmanın eradikasyonu için tedavi edilmesi gerektiği bildirilmiştir. 1994 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün bir kolu olan IARC (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı-International Agency for Research on Cancer Working Group-) *H. pylori*'nin insanlarda karsinojen olduğunu bildirmiştir<sup>6</sup>. *H. pylori* gastrit, gastrik ve duodenal ülser, gastrik adenokarsinoma ve mukoza-ilişkili lenfoid doku tümörlerinde (mucosa-associated lymphoid tumors-MALT) major patojen olarak bildirilmektedir. Duodenal ülserli hastaların %95'inde *H. pylori* pozitif iken, gastrik ülserde bu oran %70-80, mide kanserinde ise %60-70'dir<sup>7</sup>.

*H. pylori* konak ve doku tropizmi gösteren bir mikroorganizmadır. İnsanlarda midenin antrum ve korpus bölgeleri başta olmak üzere, gastrik hücre metaplazisi görülen bütün bölgelerinde kolonize olabilir. Dünya nüfusunun %50'den fazlasının bu bakteriyle enfekte olduğu öngörülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde bu oran %70-



90'a çıkarken gelişmiş ülkelerde daha düşüktür (%25-50). Gelişmekte olan ülkelerde infeksiyon etkeni yaşamın ilk yıllarında alınmakta ve hayat boyu devam etmektedir. Bu ülkelerde nüfusun %80'i 20 yaşına kadar enfekte olmaktadır. Türkiye'de de durum aynıdır. Gelişmiş ülkelerde ise infeksiyon oranı 20 yaşına kadar %10, 60 yaşın üzerinde %50-60'dır<sup>3</sup>.

*H. pylori*'nin tanımlanması için endoskopi gerektirmeyen non-invaziv testler ve özefagogastroduodenoskopi gerektiren birçok invaziv yöntem geliştirilmiştir. Non-invaziv testler; C<sup>13</sup> üre nefes testi, serolojik yöntemler, dışkı kültürü, dışkıda antijen aranması, dışkıdan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile etkenin aranmasıdır. Endoskopi gerektiren invaziv yöntemler ise; mide biyopsi örneği kültürü, histopatolojik inceleme, hızlı üreaz testi ve moleküler yöntemlerdir<sup>8,9</sup>.

*H. pylori*'nin tanısında kültür altın standart yöntem olarak kabul edilmekle birlikte duyarlılığı düşüktür. Bu nedenle tanının doğruluğunun artırılması için, birden fazla yöntemin birlikte kullanılması gerekmektedir. Doğru tanı, direnç sorununun önem kazandığı günümüzde hem gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi hem de tedaviye erken başlanması açısından önem taşımaktadır<sup>8,10</sup>.

İnfeksiyonun eradikasyonunda klaritromisin ve amoksisilin ya da metronidazol ile proton pompa inhibitörü (PPI) veya ranitidin bizmut sitratın kombine kullanıldığı 7 ve 14 günlük üçlü tedavi protokolü uygulanmaktadır<sup>11</sup>. Klaritromisin, *H. pylori* eradikasyonu için önerilen birçok tedavi protokolleri içinde önemli bir role sahiptir. Ancak günümüzde klaritromisine dirençli suşlar artmakta ve eradikasyon tedavisinin başarısını azaltmaktadır<sup>12</sup>.

Bu çalışmada; dispeptik şikayetlerle Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji polikliniğine başvuran 149 hastanın mide antrum biyopsi örneklerinde kültür, PZR ve üreaz testi; dışkı örneklerinde ise ELISA (enzyme-linked immunosorbant assay) yöntemiyle *H. pylori* antijeni varlığının araştırılması, E-test ile amoksisilin, tetrasiklin, metronidazol, levofloksasin; klaritromisin, ve ayrıca PCR-RFLP yöntemi ile klaritromisin direncinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu suretle hem ülkemiz için önemli bir halk sağlığı sorunu olan, peptik ülser ve gastrik kanserlerin sıklığı açısından önem arzeden *H. pylori*'nin varlığı farklı yöntemlerle araştırılacak hem de yöremizde *H. pylori*'nin antibiyotiklere karşı direnç profili belirlenerek hastaların tedavi süreçlerine katkı sağlanabilecektir

## GENEL BİLGİLER

### Tarihçe

*H. pylori*'nin keşfi ve gastroduodenal hastalıklar ile olan ilişkisi bakteriyoloji ve gastroenteroloji için son yirmi yılın en önemli buluşlarından birisi olmuştur<sup>5</sup>. Bir bakteri ile gastrik yakınmaların olası ilişkisi ilk defa Alman bakteriyolog Bottcher G. ve arkadaşı Fransız Letulle M. (1875) tarafından ileri sürülmüştür. Bu araştırmacılar ülser tabanında ve kenarında bakteri kolonilerini göstererek, kültür ortamında üretemedikleri bu bakterilerin ülser neyden olduğunu ileri sürmüşlerdir. 1889'da Polonya'lı Prof. W. Jaworski, insana ait gastrik yıkamaların sedimentinde spiral görünümlü bakterilerin varlığından söz etmiş ve bunu *Vibrio rugula* olarak adlandırmıştır<sup>13</sup>. Hayvanlarda gastrik spiral bakterilerin varlığına ilişkin ilk kayıtlar 1881'de Rappin, 1893'te Bizzozero tarafından tutulmuştur. Daha sonra 1896'da Hugo Salomon köpek, kedi ve sıçanların midesinde spiral şekilli bakterilerin varlığından söz etmiştir. 1906 yılında, Walter Krienitz gastrik karsinomalı bir hastanın midesinde spiral şekilli bakteriler gördüğünü bildirmiştir<sup>5,14</sup>. Luck ve Seth 1924'te midedeki üreaz aktivitesini tanımlayarak antibiyotik tedavisi ile kaybolduğunu bildirmişler, ancak gastrik mikroorganizmalar ile olan ilişkisi 1984'e kadar kurulamamıştır<sup>14</sup>. 1938 yılında Doenges, postmortem incelediği 242 insan mide örneğinin %43'ünde hemotoksilen-eozin (HE) boyası ile spiroket mikroorganizmaları saptamıştır. Bundan iki yıl sonra da ülser veya kanser nedeniyle rezeke edilen 35 mide örneğinin %37'sinde spiroketlere rastlanmıştır<sup>5</sup>. 1954 yılında Amerika'da Palmer'ın 1180 mide biyopsisi ile yaptığı çalışmada hiç bakteriye rastlamadığını bildirmesi Avrupa'daki çalışmaların hızını bir süre kesmiştir. Palmer incelemelerinde, bakteriye rastlamadığından gastrik ortamdaki tüm bakterilerin kontaminan olduğunu bildirmiştir. Salgılanan asit nedeniyle mide lümeninin steril olduğu, mukozal lezyonlara gastrik asiditenin sebep olduğu düşünülmüş ve 1910 yılında Schwartz'ın "no acid no ulcer" kavramı kabul edilmiştir<sup>14</sup>. Fitzgerald 1950 yılında peptik ülser ile mukoza yüzeyindeki üreaz aktivitesi arasında ilişki olduğunu gastrektomi ile alınan parçalar üzerinde göstermiş, ancak üreazın oluşturduğu amonyumun mide mukozasını asite karşı koruduğunu düşünmüştür. Bundan 9 yıl sonra tetrasiklin tedavisinden sonra midede üreaz aktivitesinin kaybolduğu ve bu enzimin bakteri kaynaklı olabileceği bildirilmiştir<sup>5</sup>. 1975'de Steer, endoskopik biyopsi örneklerini incelerken, gastrik mukozada mukus salgılayan hücrelerle ilişkili, spiral bakterileri tanımlamış ve bu bakterilere yanıt olarak da polimorfonükleer lökositlerin (PNL) gastrik mukozaya göç ettiklerini öne sürmüştür

ancak kültürde mikroaerofilik bir ortam kullanmadıklarından sadece *Pseudomonas aeruginosa* üretebilmiştir<sup>13,14</sup>. Nihayet, 1979 yılında patolog Robin Warren mide biyopsi örneklerinin histolojik incelenmesi sırasında *Campylobacter jejuni*'ye benzeyen kıvrık şekilli bakteriler gözlemiş, bu bakterilerin dokuyu örten mukus tabakası içinde bulunduğunu saptamıştır. 1981 yılında gastroenteroloji asistanı Barry Marshall ile birlikte bakteriyi izole etmek için çalışmalara başlamışlar ve 1982'de mikroorganizmayı kültür ortamında üretebilmişlerdir. Robin Warren ve Barry Marshall, biyopsi örneklerini *Campylobacter* ve nonselektif besiyerinde mikroaerofilik ortamda inkübe etmişlerdir. Başlangıçta iki gün inkübe ettikleri için başarılı olamamışlardır. Fakat 1982 yılında şans eseri, Paskalya tatili nedeniyle beş gün etüvde kalan bir örnekte *Campylobacter* cinsine benzeyen çok miktarda bakteri üremiştir. Marshall, izole edilen bakterinin hastalık etkeni olduğunu kanıtlamak için peptik ülserli bir hastadan ürettiği bakteri kültürü süspansiyonunu içmiş ve yaklaşık 14 gün sonra gastrit belirtileri görülmüştür. Marshall'ın yapılan endoskopik incelemesinde ve biyopsi örneğinde mukus altına yerleşmiş kıvrık bakteriler ve inflamasyon görülmüştür. Böylece, bakterinin gastrit etkeni olduğu gösterilmiştir. Warren ve Marshall, izole ettikleri spiral şekilli bakteriye morfolojik olarak *Campylobacter*'e benzediğinden "*Campylobacter like organism*" adını vermişlerdir<sup>3,5</sup>. 1983 yılında Lancet dergisinde yayınlanan makaleleri ile bu bakterinin duodenal ülser, mide ülseri ve kronik gastritle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. 1986'da üreazın kaynağının bu bakteri olduğu Langenberg tarafından kanıtlanmıştır. 1987'de Marshall ve Goodwin bakterinin adını *Campylobacter pylori* olarak değiştirmişlerdir. Sonraları yapılan çalışmalar sonucunda 16S ribozomal RNA (rRNA) yapısı, DNA zincir yapısı, yağ asitleri kompozisyonu ve enzimlerinde birçok farklılıklar olduğu anlaşılmış ve 1989'da Goodwin, bu bakterilerin benzer fenotipik özelliklere sahip *Campylobacter*, *Flexispira* ve *Wolinella* cinslerine ait olmadığını bildirmiştir. *In vivo* şartlardaki helikal görüntüsü ve sıklıkla midenin pilor bölgesinden izole edilmesinden dolayı bu bakteriye "*Helicobacter*" olarak tanımlanan yeni bir cins içerisinde yer verilmiş ve "*Helicobacter pylori*" olarak isimlendirilmiştir<sup>3,4,5,15</sup>. Bakterinin gastrik kanser ile ilişkisinin ispatlanmasından sonra da, 1994 yılında "National Institute of Health" *H. pylori*'nin peptik ülser hastalığının en önemli nedeni olduğunu ve ülserli hastaların bu mikroorganizmanın eradikasyonu için tedavi olmaları gerektiği kabul edilmiştir. Yine aynı yıl DSÖ'nün bir kolu olan IARC *H. pylori*'yi insanlarda birinci sınıf karsinojen olarak ilan etmiştir. Barry Marshall ve Robin Warren'e *H. pylori* ile ilgili çalışmaları

sebebi ile 2005 yılında “Fizyoloji ve Tıp Bilimleri” alanında Nobel ödülü verilmiştir<sup>6</sup>.

## **Epidemiyolojik özellikleri**

### **Prevalans**

*H. pylori* infeksiyonu dünyada en sık rastlanan infeksiyonlardan birisidir. Dünya nüfusunun %50’den fazlasının *H. pylori* ile infekte olduğu tahmin edilmektedir<sup>16</sup>. *H. pylori* ile genellikle çocukluk çağında infekte olunur ve yaşam boyu bu bakteri midenin mukus tabakasında yaşamını sürdürür. *H. pylori*’nin spontan kaybı, eradikasyonu söz konusu değildir. Sadece çok uzun yaşayanlarda total gastrik atrofi, anasidite gibi durumlarda doğal olarak *H. pylori* de yok olabilir<sup>10,16</sup>.

*H. pylori* ile infekte olanların %100’ünde kronik gastrit gelişir. *H. pylori* ile infekte olanların peptik ülser olma riski %15, mide kanseri olma riski %0,1-1, mide lenfoması olma riski %0,01-0,1’dir. Her yıl yaklaşık bir milyon insanın *H. pylori* ile ilişkili hastalıklardan hayatını kaybettiği bildirilmiştir<sup>16</sup>.

İnfeksiyonun prevalansı, ülkeler arasında ve aynı ülkedeki populasyon grupları arasında büyük farklılık göstermektedir. Prevalans sosyoekonomik düzeyle yakından ilişkilidir. Sosyoekonomik olarak geri kalmış, yoksul, sanitasyon sorunlarını çözememiş, sağlıklı beslenme olanaklarından yoksun toplumlarda *H. pylori* ile enfekte olma oranı çok yüksektir. Ayrıca sosyoekonomik düzeyi düşük ailelerin çocuklarında infeksiyon genellikle hayatın ilk yıllarında alınmaktadır<sup>16,17,18</sup>. Gelişmekte olan ülkelerde prevalans %70-90 iken, gelişmiş ülkelerde %25-50’dir<sup>3</sup>. 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 Doğu Avrupa’da %70 olarak bildirilmiştir<sup>16</sup>. Türkiye’de 7-14 yaş arası çocuklarda yapılan bir çalışmada *H. pylori* seroprevalansı 1990 yılında %78,5, 2000 yılında ise %66,3 olarak bulunmuştur<sup>19</sup>. Afyon’da 2000 yılında değişik yaş gruplarında yapılan bir başka çalışmada ise *H. pylori* sıklığı %79,7 olarak bildirilmiştir<sup>20</sup>. 2004 yılında 24-65 yaş arası bireylerde yapılan bir başka çalışma da prevalansı %77,5 olarak saptanmıştır<sup>18</sup>.

*H. pylori* infeksiyonu genellikle çocukluk çağında kazanılır. Anne-babalar ve kardeşler, infeksiyonun aktarılmasında asıl rolü oynamaktadırlar. Aile içindeki infekte birey ile aynı yatak odasını ve yatağı paylaşmak, kalabalık aile ortamında yaşamak ve yaşlanma *H. pylori* infeksiyon riskini arttıran faktörlerdir<sup>21</sup>. Dünya genelinde çocukların %50’sinin 10 yaşından önce *H. pylori* ile infekte olduğu tahmin edilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde infeksiyon çocukluk çağında hızla kazanılmakta ve adölesan çağa gelmeden toplumun büyük bir kısmı infekte

olmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde 10 yaşından küçük çocuklarda infeksiyon seroprevalansı %50-60 iken; erişkinlerde bu oran %90'a kadar varmaktadır<sup>19,22</sup>. Gelişmiş ülkelerde, çocukluk çağındaki infeksiyon prevalansı gelişmekte olan ülkelere kıyasla daha düşük olmakla birlikte; infeksiyon prevalansı yine yaşla birlikte artış göstermektedir. Yirmi yaşın altındaki bireylerde infeksiyon seroprevalansı %20-30 iken, 60 yaşına kadar bu oran %50-60'a ulaşmaktadır<sup>16,23,24,25</sup>. İnfeksiyonun erişkin dönemde kazanılma oranı düşük olup; bu oran gelişmiş ülkelerde %0,3-0,7; gelişmekte olan ülkelerde ise %6-14 arasında değişiklik göstermektedir<sup>26</sup>.

Genel olarak erkek ve kadınların *H. pylori* ile aynı oranda infekte oldukları ve cinsiyetin *H. pylori* infeksiyonu açısından önemli bir risk faktörü olmadığı kabul edilmektedir. *H. pylori* infeksiyonu için en önemli risk faktörleri kalabalık yaşam, düşük eğitim seviyesi ve varoşlarda yaşama gibi düşük sosyoekonomik koşullarla bağlantılı olan etkenlerdir<sup>3</sup>.

### **İnfeksiyonun bulaşması**

*H. pylori*'nin bazı primatlarda da varlığı gösterilmiş olmakla birlikte, esas rezervuarı insandır<sup>27</sup>. İnfeksiyonun bulaş yolu kesin olarak bilinmemekle beraber bir insan patojeni olmasından dolayı insandan insana bulaştığı kabul edilmektedir. Muhtemel bulaş yolları fekal-oral, oral-oral ve iatrojenik yoldur<sup>16</sup>.

*H. pylori* infeksiyonu aile içi yayılım gösterir. Aile içi bulaş fekal-oral veya oral-oral yolla olabilir. Ailesinde infekte birey bulunan kişilerin, ailesinde infekte birey bulunmayan kişilere oranla infeksiyona yakalanma riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir<sup>10</sup>.

Hijyenik koşulların kötü olduğu yerlerde, bakım evleri, rehabilitasyon merkezleri gibi kalabalık yaşam ortamlarında veya kalabalık ailelerde prevalansın yüksek olması fekal-oral yolla bulaşını düşündürmektedir. İnfekte bireyden duyarlı bireye doğrudan veya dışkı ile kontamine su ve sebze yoluyla dolaylı olarak bulaş olabilir. Gambiya'lı bir çocuğun dışkısından izole edilmesiyle birlikte *H. pylori*'nin fekal-oral yolla bulaşabileceği olasılığı üzerinde durulmaya başlanmıştır. Ancak, dışkıda çok sayıda normal flora bakterisi ve inhibitör madde bulunduğundan dolayı *H. pylori*'nin dışkıdan başarılı bir şekilde izole edilmesine dair oldukça az sayıda araştırma vardır<sup>28</sup>. Moleküler yöntemlerin kullanıldığı bazı araştırmalarda dışkıda *H. pylori* DNA'sı saptanmıştır<sup>29</sup>. Özellikle kültür yöntemiyle dışkıda *H. pylori* varlığının saptanması, infeksiyonun fekal-oral yolla bulaşabileceğini desteklemektedir<sup>30</sup>. Yapılan birçok araştırmada, fekal-oral yolla bulaştığı bilinen Hepatit A virusu (HAV) ile

*H. pylori* seroprevalansları karşılaştırılmıştır. Bazı araştırmacılar, her iki mikroorganizmanın seroprevalanslarının benzer olduğunu ve *H. pylori*'nin HAV gibi fekal-oral yolla bulaşabileceğini bildirmişlerdir. Bunun tersine; bazı araştırmacılar ise *H. pylori* seroprevalansı ile HAV seroprevalansı arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır<sup>31,32,33</sup>.

Çevresel örneklerde moleküler yöntemlerle *H. pylori* DNA'sı tespit edilmiştir. Dışkı ile kontamine gıda, su ve lağım suları gibi çevresel örnekler *H. pylori* bulaşı için potansiyel kaynak olabilir. Yapılan çalışmalarda *H. pylori*'nin dışkı ile kontamine su ile yıkanmış besinlerle bulaşabileceği bildirilmiştir<sup>34</sup>.

*H. pylori*'nin ikinci olası bulaş yolu oral-oral yoldur. *H. pylori* tükürükten ve dental plaktan izole edilmiştir<sup>10</sup>. Annesinin, ağzında ezdiği besinleri yedirdiği Afrikalı bir çocukta *H. pylori* infeksiyonunun gözlenmesi infeksiyonun oral-oral yolla bulaşabileceğini destekleyen bir diğer bulgudur. Ayrıca aynı yemek çubuğu ile besin tüketen Çin'li ailelerde kullanmayanlara oranla infeksiyon riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir<sup>30</sup>.

Çeşitli araştırmacılar, *H. pylori*'yi mide sıvısı örneklerinden izole etmeyi başarmışlardır. İngiltere'de yapılan bir çalışmada, 108 hastadan alınan mide sıvısı örneklerinin %38'inde *H. pylori* izole edilmiştir. Araştırmacılar, bu bakterinin kusma yoluyla veya gastroözofageal reflü sonucu ağıza gelen mide sıvısı yoluyla kişiden kişiye bulaşabileceğini bildirmişlerdir<sup>35,36</sup>. *H. pylori* oral salgılarda ve mide sıvısında bulunduğundan dolayı; endoskopi işlemi sırasında, iyi dezenfekte edilmemiş endoskoplar aracılığıyla infekte bir hastadan diğer bir hastaya veya endoskopi ünitesi çalışanlarının hastanın mide salgılarıyla teması sonucu bulaş söz konusu olabilmektedir<sup>10</sup>.

*H. pylori*'nin cinsel yolla bulaştığına dair herhangi bir veri yoktur<sup>10,30</sup>.

### **Sınıflandırma**

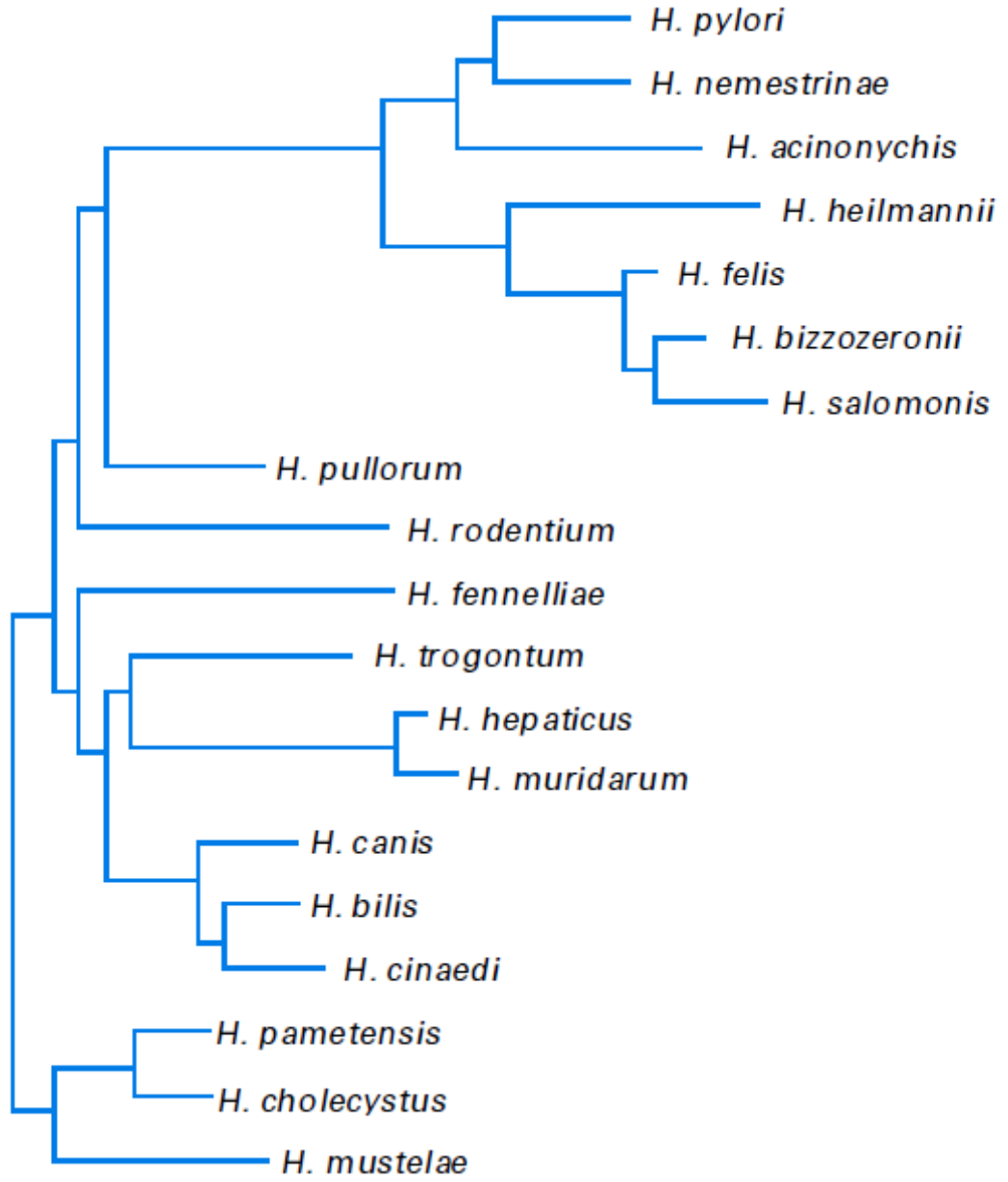
*H. pylori* 1989 yılında *Campylobacter* cinsinden çıkartılarak, *Helicobacteraceae* ailesi içerisinde yeniden sınıflandırılmıştır. 16s RNA-DNA hibridizasyon analizleri sonucunda *Helicobacter* cinsi; *Arcobacter*, *Campylobacter* ve *Wolinella* cinsleri ile birlikte "rRNA süperailesi VI" adı verilen filogenetik grup içinde sınıflandırılmıştır. *Helicobacter* cinsi bakterilerin 16S rRNA filogenetik sınıflandırması Şekil 1'deki gibidir<sup>37</sup>.

*Helicobacter* cinsi içerisinde yer alan türlerin çoğu konak ve doku tropizmi göstermektedir (Tablo 1)<sup>39</sup>. Doğada kedi, köpek, domuz ve kemiriciler gibi birçok

farklı hayvan türünde farklı intestinal *Helicobacter* türü tanımlanmış ancak en sık görülen *Helicobacter* türlerinin *Gastrospirillum hominis* ve *H. heilmannii* olduğu bildirilmiştir. İnsanların gastrik mukozasına en iyi uyum sağlamış olan tür "*H. pylori*"dir. Mide mukozasında kolonize olan gastrik *Helicobacter*'ler arasında insanda infeksiyon etkeni olan en önemli türler *H. pylori* ve *H. heilmannii*'dir<sup>37,38,39</sup>.

**Tablo 1.** *Helicobacter* türleri, konak ve doku tropizmi<sup>39</sup>

Tür	Konak	Doku
<i>H. pylori</i>	İnsan, maymun, kedi	Mide
<i>H. mustelue</i>	İnsan	GIS
<i>H. cinaedi</i>	İnsan	GIS
<i>H. felis</i>	Kedi	GIS
<i>H. fennelliae</i>	Kedi	GIS
<i>H. nemestrane</i>	<i>M. nemestrina</i>	GIS
<i>H. maridarum</i>	Sıçan, fare	GIS
<i>H. acinonychis</i>	Domuz	GIS
<i>H. bilis</i>	Fare	GIS
<i>H. hepaticus</i>	Fare	Karaciğer
<i>H. pametensis</i>	Kuş, domuz	GIS
<i>H. pullorum</i>	İnsan, tavuk	GIS
<i>H. bizzozeronii</i>	Köpek	GIS
<i>H. trogontum</i>	Rat	GIS
<i>H. cholecystus</i>	Suriye hamster	GIS
<i>H. rodentium</i>	Laboratuvar faresi	GIS
<i>H. rappini</i>	Fare	GIS
<i>H. salomonis</i>	Köpek	GIS
<i>H. bovis</i>	Sığır	GIS



**Şekil 1.** *Helicobacter* cinsi bakterilerin 16S rRNA filogenetik sınıflandırması<sup>37</sup>



## Doğal ortamları

*H. pylori* ve diğer gastrik türler için en önemli doğal ortam mide mukoza yüzeyidir. Bakteri; nötral pH'nın hakim olduğu, mide mukozasını örten mukus tabakası içerisinde ya da yüzey epitel ile mukus tabakası arasında lokalize olmaktadır. *H. pylori*, midenin herhangi bir bölgesinde kolonize olabilir. Ancak, kolonizasyon daha çok mide asiditesinin kısmen daha az olduğu antrumun mukus salgılayan epitelinde olmaktadır. Duodenumdaki gastrik metaplazi alanlarında da kolonize olabilen *H. pylori*, midedeki intestinal metaplazi alanlarında kolonize olamamaktadır. İnsanlarda mide ve gastrik hücre metaplazisi görülen alanlar dışındaki bölgelerden kolonizasyonu oldukça nadirdir. Bununla birlikte *H. pylori*'nin tükürük, diş plağı ve aterom plaklarında görüldüğü bildirilmiştir. İnvitro şartlara karşı aşırı duyarlı olan bakterinin toprak, akarsu ve deniz suyu gibi çevresel örneklerden, deneysel çalışmalar dışında izolasyonu yapılamamıştır. PZR gibi moleküler yöntemlerle doğal çevresel örneklerde *Helicobacter* hedef gen dizilerinin varlığı gösterilebilmiştir. Ancak doğal ortamlarda gerçekten canlı kalıp kalmadıkları veya ne kadar süre ile canlı kalabildikleri bilinmemektedir<sup>38,40,41</sup>.

Elektron mikroskopisi çalışmalarında, *H. pylori*'nin mide mukus tabakasında serbest veya mide epitel hücrelerine bağlı bir şekilde bulunduğu gösterilmiştir. Bakterinin hücreye bağlı olarak bulunduğu durumlarda bağlantı bölgelerinde; mikrovillus ve müsin granüllerinde bozulma, hücrelerde düzleşme ve hücre iskeleti elemanlarında yassılaşma gibi patolojik değişimler gözlenmiştir<sup>42</sup>. *H. pylori*'nin genellikle mide epitel hücreleri içerisine invazyon yapmadığı kabul edilmektedir. Fakat son yıllarda hücre kültürü, immunhistokimya, floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve transmisyon elektron mikroskopisi yöntemleri kullanılarak yapılan *invivo* ve *invitro* çalışmalarda; *H. pylori*'nin lamina propriada ve mide epitelyum hücreleri ile immunositlerin içinde de bulunabildiği ileri sürülmüştür<sup>43</sup>.

## ***H. pylori*'nin yapısı ve mikrobiyolojik özellikleri**

### **Morfolojisi ve boyanma özellikleri**

*H. pylori* doku kesitlerinde Gram, karbol fuksin, akridin oranj, Giemsa, hematoksilen-eosin (HE) ve Whartin-Starry (WS) gümüş boyaları ile midede mukus tabakanın altında, epitel hücre yüzeyinde ve lümeninde görülür<sup>2,8</sup>. *H. pylori*; virgül, martı, "S" veya spiral şeklinde görülebilen, 2.5-5.0 µm uzunluğunda, 0.5-1.0 µm genişliğinde, bir ucunda 4-6 adet sayıdaki kirpikleri ile son derece hareketli, sporsuz ve kapsülsüz, mikroaerofilik, Gram negatif çomaktır<sup>3,4</sup>. *H. pylori*'nin kirpikleri dış

membran komponentleri ile süreklilik gösteren bir çift katlı membranla çevrilidir. Her bir kirpik yaklaşık 30 nm boyunda, 2.5 nm kalınlığındadır. Uçlarında kılıfın kalınlaşmasıyla oluşan terminal bir genişleme vardır. Elektron mikroskopunda, hücre duvarı dışında 40 nm kalınlığında bir glikokaliks veya kapsüle benzer bir polisakkarit yapı saptanmıştır. Bakterinin yüzeyi glikokaliks uzantıları aracılığıyla gastrik epitelyal mikrovilluslarla ilişkilidir<sup>38</sup>.

Katı veya sıvı besiyerindeki kültürlerinde spiral form genellikle kaybolur, bunun yerine çoğunlukla kıvrık, U veya düz basiller şeklinde görülür. Katı veya sıvı besiyerindeki uzamış kültürlerinde ise kok yapısı daha fazla görülür. Elektron mikroskopunda kok yapısının U şeklinde basil olduğu ve iki kolunun da membranöz bir yapıyla bağlandığı görülmüştür. Kok formu metabolik olarak aktiftir ancak, *invitro* kültürde üretilmez<sup>3,4,38</sup>.

### Üreme ve kültür ve özellikleri

*H. pylori* zor üreyebilen bir mikroorganizmadır. Optimize edilmiş besiyerlerinde bile son derece yavaş ürer. *H. pylori* mikroaerofilik mikroorganizmalar olup, metabolizmaları için oksijene ihtiyaç duyarlar. *Invitro* koşullarda üretilmeleri için %5 O<sub>2</sub>, %75 N<sub>2</sub>, %10 H<sub>2</sub> ve %5-10 CO<sub>2</sub> içeren nemli atmosfer (%98) gereklidir<sup>4,38</sup>. Optimal üreme koşulları, 35-37°C, pH 6.4-8.4, olup 3-7 günde koloni oluşturur. Aerop ve anaerop ortamlarda, 25°C ve 42°C'de üremezler<sup>4,38</sup>. Katı besiyerinde üretildiklerinde spiral form genellikle kaybolur yerine çoğunlukla kıvrık, U veya düz basiller şeklinde görülür. *H. pylori*; yaşlı kültürlerinde, antibiyotiklerle karşılaştığında, yaşamsal besinlerin eksikliğinde basiller form yerine kokoid formlar baskın hale gelir. Kokoid form metabolik olarak aktiftir fakat kültüre edilemez<sup>38,44</sup>.

*H. pylori* izolasyonu için %5-7 bekletilmiş defibrine at, koyun veya insan kanı ilaveli beyin-kalp infüzyon agar (BHIA), Brucella agar, Columbia agar, Tryptone soye agar ve Skirrow's agar gibi zenginleştirilmiş, seçici olmayan besiyerleri kullanılabilir. Besiyerlerine vankomisin, amfoterisin-B, trimetoprim ve kolistin gibi antibiyotikler eklenerek seçicilik özelliği sağlanır. Ayrıca %1 izovitaleks, %0.25 maya ekstraktı gibi besleyici maddelerde eklenerek üreme artırılabilir<sup>45,46</sup>.

*H. pylori* inkübasyon süresi sonunda besiyerinin yüzeyinde 0.3–1 mm çaplı renksiz veya gri renkli, su damlasına benzeyen koloniler şeklinde ürer. Yapısal olarak şüpheli kolonilerden yapılan Gram boyama, oksidaz, katalaz ve üreaz aktiviteleri değerlendirilerek tanınabilirler<sup>2,3,4,38</sup>.

Bakteri genelde antrumda kolonize olduğundan, biyopsi örnekleri antrumdan

ve en az iki adet alınır. Örneklerin toplanması ve laboratuvara ulaştırılması bakterinin kültürde üreyebilmesi için önemli basamaklardır. Örneğin taşınmasında standart olarak kabul edilen bir yöntem yoktur. Taşıma besiyeri olarak Brucella sıvı besiyeri, triptik soy buyyon, %10 at serumu eklenmiş triptik soy buyyon, %20'lik glukoz, beyin-kalp infüzyon buyyonu (BHIB), %0.9'luk NaCl gibi çeşitli sıvılar kullanılabilir<sup>46,47</sup>.

*H. pylori* uzamış inkübasyon süresi, düşük pH derecesi ve oksijen ile temas gibi çevresel faktörlere son derece duyarlıdır. Safralı ortamlardan olumsuz etkilenir. Pasajlarında üretilmesi zor olan bir bakteridir. Metabolizmaları için gerekli enerjiyi aminoasitlerden, üreden ve CO<sub>2</sub>'den sağlarlar. *H. pylori* tanısı almış suşların saklanması için %0.25 maya ekstraktı, %10 at kanı ve %15-20 gliserol içeren BHIB kullanılabilir. Katı besiyerinden toplanan örnekler bu saklama buyyonu içerisine toplanarak -70°C de aylarca korunabilir<sup>2</sup>.

### **Biyokimyasal özellikleri**

*H. pylori*'nin katalaz ve oksidaz reaksiyonu pozitifdir. Güçlü üreaz aktivitesine sahiptir. Alkalen fosfataz, deoksiribonükleaz (DNAse), lösin aminopeptidaz ve glutamil aminopeptidaz enzimlerine sahip olması; hippurat hidrolizinin, indoksil asetat hidrolizinin ve nitrat redüksiyonunun negatif olması ve üç şekerli demirli besiyerinde (TSI agar) H<sub>2</sub>S oluşturmaması, nalidiksik aside dirençli, sefalotine duyarlı olması önemli biyokimyasal özellikleridir<sup>3,4</sup>.

*H. pylori*'nin karbonhidratları fermentatif veya oksidatif yolla parçalamadığı gösterilmiştir. Fakat, son yıllarda yapılan genom analiz çalışmaları ile *H. pylori*'nin Entner-Doudoroff ve pentoz fosfat metabolik yol enzimlerine sahip olduğu ve in-vivo ortamda glukozu kullanabildiği gösterilmiştir. *H. pylori* üre döngüsü de içerir. Bu sayede fazla nitrojeni bakteriden atabilir. Aminoasitleri anaerob bakteriler gibi fermentatif yolla metabolize edebilir. *H. pylori* de solunum zincirinin son halkası olan sitokromlar gösterilmiştir. İn vitro üremesi için gerekli olan yüksek CO<sub>2</sub> seviyesi kısmen asetil koenzim A karboksilaz enziminin aktivitesiyle karşılanabilmektedir. *H. pylori* hücreleri fosfat granülleri içerir. Bakteri midede dejener olmuş epitel tabakasında dış enerji kaynağı bulunmadığında, yedek enerji kaynağı olarak bunları kullanabilir<sup>3,4</sup>.

### **Hücre duvarı ve antijenik yapı**

*H. pylori*'nin hücre duvarı, diğer Gram negatif bakterilerde olduğu gibi iç membran, peptidoglikan ve dış membrana bağlı lipopolisakarit tabakalarından

oluşur. *H. pylori* suşlarındaki lipopolisakkarit diğer Gram negatif bakteri lipopolisakkaritlerinden yapısal ve antijenik olarak farklılıklar gösterir. *H. pylori*'nin lipopolisakkarit tabakası; lipit-A tabakası ve polisakkarit yan zincirinden oluşur<sup>49</sup>. Lipit-A tabakası diğer Gram negatif bakterilerdekenden 3-hidroksiheksadekanoik asit ve 3-hidroksioktanoik asit gibi farklı yağ asitleri içermesi, 3-hidroksidekanoik asit içermemesi ve D-glukozamin iskeletinin 4' ucunun fosforillenmemiş olması ile farklılık gösterir. Lipit A yapısındaki bu farklılık *H. pylori* hücre duvarının biyolojik aktivitesinin ve antijenik özelliğinin *E. coli* ve *Salmonella*'ların lipopolisakkaritinden 1000 kat daha düşük olmasına neden olur. Böylelikle infeksiyonu takiben oluşan konak immun yanıtı zayıflamakta ve bakteri konak immun yanıtından kaçabilmektedir<sup>50</sup>.

*H. pylori* yüzey glikolipidlerinin çoğu kısmen fukozillenmiş, glikozillenmiş veya galaktozillenmiş *N*-acetylactosamine (LacNAc) O-polisakkarid yan zincirler halindedir ve insanlardaki normal hücre yüzey glikolipidler/konjugatları olan Lewis<sub>a</sub>, Lewis<sub>b</sub> ve kan grubu antijenleri ile homoloji gösteren Lewis<sub>x</sub> (Lex), Lewis<sub>y</sub> (Ley) ve Bab antijenlerini oluştururlar. Bu benzerliğin de *H. pylori*'nin yaşadığı ortamda gizlenerek bakterinin konak immun yanıtından kaçışından sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, infeksiyonu takiben oluşan anti-Lewis antikorlarının mide mukozası ile reaksiyona girerek otoimmun yanıtı neden olabileceği de bildirilmiştir<sup>51,52,53</sup>. *H. pylori*'nin, yüzey antijeni olarak rol oynayan en az 60 adet dış membran proteini kodlayabildiği tahmin edilmektedir. Farklı bakteri jenerasyonları farklı dış membran proteinleri sentezlerler. Bu antijenik varyasyon, *H. pylori*'nin konak savunmasından kaçışında rol oynayan bir diğer etkidir. Dış membran proteinleri arasında en önemlileri BabA, SabA ve Hop ailesi porin proteinleridir. BabA ve SabA'nın mide epitel hücrelerine bağlanmadan sorumlu olduğu düşünülmektedir. HopA, HopB, HopC, HopD ve HopE olarak sınıflandırılan porin proteinlerinin, küçük hidrofilik moleküllerin ve besin maddelerinin dış zardan pasif olarak geçişinde rol oynadığı düşünülmektedir<sup>4,54,55,56</sup>.

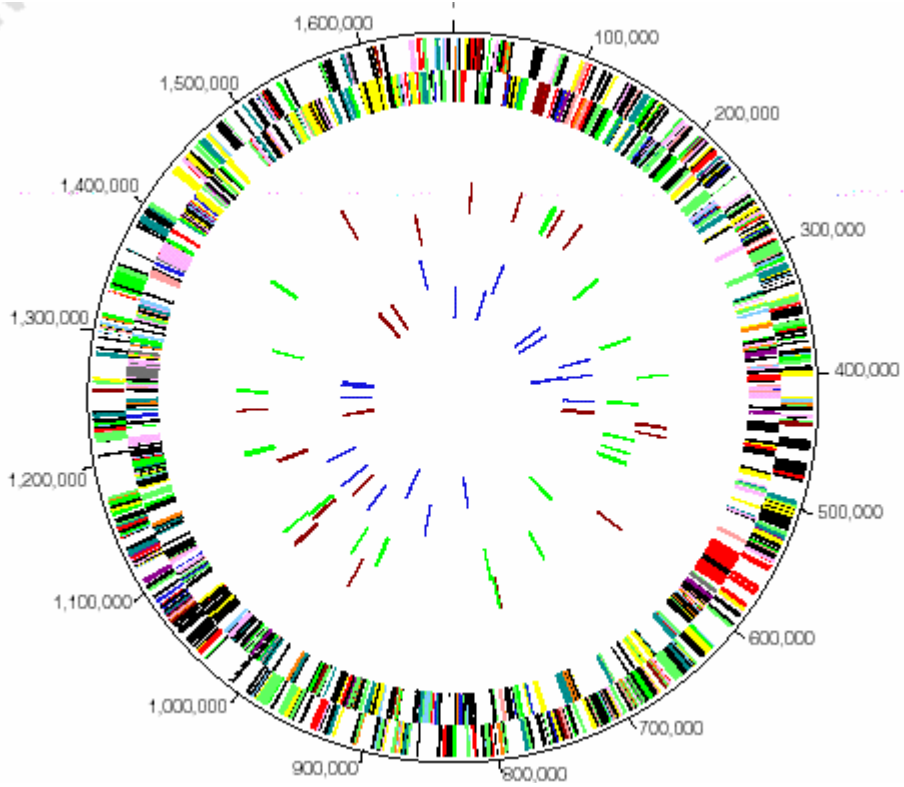
### **Genomik özellikler**

*H. pylori*'nin genomik yapısı PFGE (Pulsed-Field Gel Electrophoresis), ribotipleme, RAPD-PCR (random amplifiye polimorfik DNA-PCR) ve PCR-RFLP gibi yöntemler ile incelenmiş ve suşlar arasında nükleotitlerin çeşitlilik gösterdiği belirlenmiştir<sup>57</sup>.

İlk olarak 1997 yılında Tomb ve arkadaşları tarafından *H. pylori*'nin 26695 nolu suşunun tam genom dizisi analizi bildirilmiştir<sup>56</sup>. Bunu takiben sırayla *Helicobacter*

*pylori* J99, *Helicobacter hepaticus* ATCC 51449, *Helicobacter pylori* HPAG1 suşlarının da tam genom dizi analizi yapılmıştır. Bu suşların gen büyüklükleri sırası ile 1.667.867 ve 1.643.831 bp olarak tespit edilmiştir. *H. pylori* 26695 genomunda, genomun %91'ini oluşturan 1590 açık okuma bölgesi, *H. pylori* j99 genomunda ise genomun %90,8'ini oluşturan 1495 açık okuma bölgesi bulunmaktadır<sup>58</sup>.

*H. pylori*'nin 26695 suşu %39 G+C oranına sahip tek bir sirküler yapıda kromozoma sahiptir. Bu oran bakterideki çevre şartlarına uyum için gerekli mutasyon ve rekombinasyon yapabilme yeteneğini artırmaktadır. Ayrıca, %2–8 oranında görülen sinonim ve non-sinonim mutasyonlar da mikroorganizmanın mide şartlarına uyumunu kolaylaştırır. Buna karşılık, bakterinin mide dışındaki çevre şartlarına karşı duyarlılığı *E. coli* genomundakinden 10 kat daha düşük sayıdaki regülatör bölgelerle izah edilmektedir. *H. pylori* 26695 suşunda 5 bölgede, *H. pylori* J99 suşunda ise 9 bölgede “Patojenite adaları” (PAI–Pathogenicity Islands) olabilecek, düşük G+C oranına (%33-35) sahip yabancı gen dizileri gösterilmiştir. *H. pylori* 26695 suşundaki 40 kb uzunluğundaki R2 bölgesi *cagPAI* (*cag* Patojenite Adası) bölgesi olup, *H. pylori* virulansı ile doğrudan ilişkili Tip-IV sekresyon sistemi ve efektör protein CagA dahil 27 proteini kodlamaktadır. Diğer 4 bölge muhtemelen, RNA polimerazın  $\beta$  ve  $\beta'$  subunitlerini, “translation elongation factor EFG” yi kodlayan *fusA* genini ve restriksiyon modifikasyon sistemleri ile ilişkili genleri içermektedir. Genomda en az 2 kopya halinde 16 ve 23S rRNA geni bulunmaktadır. *H. pylori* genomu suşlar arasında değişkenlik gösterir. Fakat *H. pylori* suşları arasında fenotipik değişiklik azdır. Aynı hastanın antrum, fundus ve korpusundan izole edilen suşlar aynı genomik yapıyı gösterirler. Genlerin 300 den fazlası membran yapısı ile ilişkilidir. Ayrıca beta-galaktosidaz hariç, glukoz metabolizması ile ilişkili genler, enerji sentezinde rol alan oksidaz, sitokrom oksidaz ve katalaz gibi oksidasyon redüksiyon genleri, çok sayıda taşıyıcı sistem, iki bileşenli düzenleyici sistem ve *ureA*, *ureB*, *ureE*, *ureF*, *ureG*, *ureH* ve *ureI* gibi üreaz genleri gibi fonksiyonel gen bölgeleri tanımlanmıştır. Midenin asidik ortamına karşı direncinde ve patogeneizde önemli rol oynayan üreaz enzimi ile ilişkili proteinler, bakterinin bütün proteinlerinin %2-15'ini oluşturur<sup>56,58</sup>. *H. pylori* genomu Şekil 2'de gösterilmiştir<sup>59</sup>.



**Şekil 2.** *H. pylori* genomu<sup>59</sup>.

### **Virülans faktörleri ve patogenezi**

*Helicobacter pylori* ile infekte kişilerin tümünde gastrit gelişirken, çok az bir kısmında peptik ülser hastalığı veya gastrik malignite gelişmektedir. İnfekte bireylerin çoğu asemptomatiktir. İnfeksiyonun bazı bireylerde asemptomatik, bazı bireylerde ise ciddi bir klinik tabloyla seyretmesinin sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte kişiye ait genetik, immünolojik özellikler, sigara, alkol gibi alışkanlıklar, tuzlu diyet, tütülenmiş besinlerin alınması gibi diyete ait faktörler, çinko, selenyum gibi element eksiklikleri, C, A ve E vitamin eksiklikleri ve çevresel faktörlerin yanı sıra, bakteriye ait patojenik özelliklerin rolü olduğu kabul edilmektedir<sup>10,27</sup>. Bakterinin esas olarak yerleştiği yer midedir ve burada kronik bir infeksiyona yol açar. Fakat ektopik gastrik mukoza, gastrik metaplazi gibi gastrik tip epitel hücrelerinin bulunduğu duodenum, özofagus gibi gastro-intestinal sistemin herhangi bir bölgesine de yerleşebilir<sup>1,25</sup>. Gastrik mukoza, bakteriyel infeksiyonlara karşı iyi korunmuş bir bölgedir. *H. pylori*, bu ekolojik çevreye iyi uyum sağlar<sup>60</sup>. *H. pylori* düşük pH'ya oldukça duyarlı olduğu için asiditenin düşük olduğu antrum bölgesine daha kolay yerleşir. *H. pylori* midenin asidik ortamından hareketli olması ve en önemlisi de üreaz aktivitesi olması sayesinde kurtulabilir. Üreaz enzimi üreyi parçalayarak amonyak ve karbondioksite dönüştürür.

Oluşan amonyak asit ortamda amonyuma dönüşerek mide asidini etkisizleştirir. Böylece bakteri infeksiyonun ilk adımı olan mukus tabakasına geçebilmekte ve canlılığını sürdürebilmektedir. *H. pylori* spiral yapısı ve kirpikleri sayesinde mukus tabakası içinde yüzebilir ve mide epiteline tutunabilir. Kolonize olan bakterilerin %90'ı mukus içinde yüzer durumda, %10'u ise epitele yapışmış durumdadır. *H. pylori* doku içine invaze olmamaktadır<sup>27,61</sup>.

*H. pylori* çeşitli adezyon molekülleri sayesinde mide epitel hücrelerine yapışmaktadır. Yapışma sonrası bu bölgede mikrovilluslar kaybolmakta, bakteriyel sitotoksik faktörler (VacA, CagA, IceA gibi) epitel yıkımına yol açmakta, açığa çıkan ürünler lamina propriada inflamatuvar yanıtın başlamasına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra, inflamasyon bölgesine gelen nötrofillerin myeloperoksidaz aktivitesinden dolayı açığa çıkan hipoklorik asit epitele toksik etkili monokloramin oluşumuna neden olmaktadır. Hasarlanmış epitel bölgesine nötrofillerin yanı sıra, T ve B lenfositler, plazma hücreleri ve makrofajlar göç eder. İnterlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-8, tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeyi artar. IL-8'in epitelyal kaynaklı nötrofil aktive edici kemokin aktivitesi vardır. CagA+ suşlarda negatif olanlara göre daha güçlü bir IL-8 yanıtı vardır. Sonuçta hem mikroorganizmanın virülans faktörleri hem de epitelyal faktörler aracılığıyla mukozada lokal immünolojik yanıt ve sistemik inflamatuvar yanıt meydana gelir. Yine de mukus tabakası içindeki bakteriler eradike edilemez, fakat belirgin bir doku hasarı meydana gelir. Oluşan kronik inflamasyon hücre yenilenmesini ve apoptozisi de artırmaktadır. Bazı *H. pylori* suşlarının Lex ve Ley antijenleriyle yapısal benzerlik gösterdikleri, *H. pylori* antikorlarının bu yapısal benzerlik nedeniyle mide epitelyum hücrelerini hasara uğrattığı, yani patogeneizde otoimmün mekanizmaların da rolü olabileceği bildirilmiştir<sup>27,55</sup>. *H. pylori*'nin mikrobiyolojik ve virülans-patojenite özellikleri Tablo 2'de özetlenmiştir<sup>48</sup>.

*H. pylori*'nin patogenezinde rol oynayan faktörler iki grup altında toplanabilir:

- 1) Kolonizasyon ve konak savunmasından korunma faktörleri
- 2) Doku hasarı oluşturan virülans faktörleri

**Tablo 2.** *H. pylori*' nin mikrobiyolojik ve virülans ve patojenite özellikleri<sup>48</sup>.

Gram negatif, sporsuz, spiral şekilde, Bir uçta 4-6 adet kirkik	Mukus içinde etkin hareket
Oksidaz	Pozitif
Katalaz	Pozitif, Midede ve fagositler içinde vakuollerde yaşayabilme
Üreaz	Pozitif, Midede pH'yı alkalileştirerek asitten korunma ve yaşayabilme
Fosfolipaz	Pozitif, Mukusun sindirilmesi ve ıslaklığının artması
Proteaz	Pozitif, Mukusun sindirilmesi ve eriyebilirliğin artması
Hippurat hidrolizi	Negatif, <i>Campylobacter jejuni</i> 'den ayırım
TSİ agarda H <sub>2</sub> S yapımı	Negatif, Çeşitli <i>Campylobacter</i> türlerinden ayırım
Gamaglutamil transpeptidaz	Pozitif, Diğer <i>Helicobacter</i> türlerinden ayırım
Nitrat redüksiyonu	Negatif, <i>Campylobacter</i> lerden
Mikroaerofilik üreme 25°C de 37°C de 42°C de	Termofilik <i>Campylobacter</i> 'lerden ayırım Negatif Pozitif Negatif
%1 Glisinde üreme	Negatif
Nalidiksik aside duyarlılık (30 µg disk) Sefalotin'e duyarlılık (30 µg disk)	Dirençli Duyarlı, <i>Campylobacter</i> lerden ayırım
VacA (Vakuol oluşturucu sitotoksin)	Epitelyum hücrede vakuol oluşturan zararlanma
<i>cagA</i> (Sitotoksin ile ilişkili genA)	Sitotoksin oluşumu ve mide ülseri ile ilişkili
Porinler	Nötrofil ve mononükleer hücreleri çekerek reaktif bileşikler ve interlökin salınması
Isı şok proteinleri	Otoimmünitede rol oynar



## Kolonizasyon ve konak savunmasından korunma faktörleri

### Hareket

*H. pylori*'nin hareket özelliği en önemli kolonizasyon faktörlerinden birisidir<sup>61</sup>. Spiral yapısı ve 4-6 adet kirpiği sayesinde mukus tabakası içinde yüzebilir ve mide epiteline tutunabilir<sup>27</sup>. *H. pylori* pH 4'ün altında hareketsizdir. Bu nedenle mide lümeninde kolonize olamaz; ancak gastrik mukozayı kaplayan musin tabakasında oldukça iyi kolonize olur. *H. pylori* üreaz enzimi ile etrafında bikarbonat ve amonyak katmanı oluşturarak güvenli bir şekilde gastrik asit bariyeri ve mukus katmanını aşabilmektedir. FlaA ve FlaB adı verilen iki tip filamentten oluşan kirpiklerde ayrıca bakteriye sıkı bağlanmasında rol oynayan kirpik çengeli de bulunmaktadır<sup>3,62</sup>. Kirpik çengelini kodlayan genlerde oluşturulan bir mutasyon, kirpik sentezinin devam etmesine rağmen bakterinin hareketsiz kalmasına neden olmaktadır<sup>3</sup>.

### Üreaz

*H. pylori*'nin ürettiği üreaz enzimi, 550 kDa ağırlığında nikel içeren multimerik bir enzimdir<sup>61</sup>. *H. pylori* midede kolonize olmasına rağmen aside dirençli bir mikroorganizma değildir. pH 6-8 aralığında yaşayabilir. Üreaz enzimi ve dolayısıyla üre, *H. pylori*'nin asidik ortamda yaşayabilmesi için gereklidir. *H. pylori*; dış ortamda üre kaynağı olmadan, ortam pH'sı 4'ün altına düştüğünde yaşayamaz; üre varlığında ise ortam pH'sı 1'e düşse bile yaşayabilir<sup>63,64</sup>. Üreaz enzimi ürenin amonyak ve karbondioksite hidrolizini katalizler. Oluşan amonyak mide asidini nötralize ederek bakterinin kolonizasyonuna yardımcı olur. Hayvan deneylerinde üreaz enzimine sahip olmayan mutant suşların kolonize olmadığı gösterilmiş ve üreaz enziminin *H. pylori* kolonizasyonunun ilk evresinde önemli olduğu kabul edilmiştir. Üreazın hücresel lokalizasyonu hakkında hala belirsizlik vardır. *H. pylori*'nin üreyi alıp, amonyağı dışarı verdiği ya da parçalanmış *H. pylori* hücrelerinin üreaz enziminin hayatta kalan *H. pylori* hücrelerinin etrafını kapladığı düşünülmektedir<sup>61</sup>.

Üreaz enzimi operonu *H. pylori* kromozomunun 34 kb kısmında bulunur. Üre operonu, ÜreA ve ÜreB olan iki yapısal alt üniteyi, ÜreC ve ÜreD olan iki regülatör alt üniteyi kodlar. Ayrıca ÜreI, ÜreE, ÜreF, ÜreG, ÜreH olan beş yardımcı proteini kodlar. *H. pylori*'nin gastrik asiditedeki adaptasyonunda primer mekanizma üre tarafından sitoplazma içerisine üre girişinin hızlandırılmasıdır. H<sup>+</sup> kapılı üre kanalı üre tarafından kodlanır ve aside maruz kaldığında *H. pylori* içerisine üre girişini 300 kat arttırmaktadır. *H. pylori* gastrik mukozal tabakaya girer, üreaz metalloenziminin bir araya gelmesi başlar. Sitozolik metalloenzim katalitik aktivite için altı aktif bölgenin

her birinde iki nikel iyonuna gereksinim duyar. Nikel iyonlarının bağlanmasına yardımcı olarak *H. pylori* üreazı aktif bölgesinde sekiz histidin residüsü ve bir sistein residüsü içermektedir. Yardımcı proteinler apoenzime nikel iyonunun eklenmesinde görevlidirler. Nikel birleşiminde aynı zamanda bir başka protein NixA' da gerekir. NixA hücre içine nikel iyonlarının taşınmasını sağlayan sitoplazmik membran proteindir. Nikel iyonları önce hücre içine transport edilir, NixA taşıyıcısından salınırlar ve ureE onları biriktirir. Daha sonra ureE geni nikel iyonları ile üreaz enziminin aktif bölgesine verilir. "ABC taşıyıcısı", "P-tip adenozin trifosfat (ATPase)", "Hpn (histidine-rich protein)" ve HspA (heat shock protein A), nikel iyon transportunu etkileyebilen ve üreaz enzimi aktivitesini artırabilen diğer proteinlerdir. İndüklenebilir nitrik oksit sentazın up-regülasyonu ve nitrik oksit salınımının ureA ekspresyonu ile ilişkili olduğu ve üreaz enziminin sadece amonyum üretiminde değil, yangıda da rolü olabileceği düşünülmektedir<sup>3,61,63</sup>.

### **Adhezinler**

*H. pylori*'nin mide epitel hücrelerine yapışmasını, peristaltik hareketten etkilenmemesini ve midede daha yoğun bir şekilde kolonize olmasını sağlayan bir takım adezin molekülleri tanımlanmıştır. Tanımlanmış en önemli adezyon molekülü, *babA* geni tarafından kodlanan BabA proteini (Blood Group Antigen-Binding Adhesin)'dir<sup>60</sup>. BabA proteini mide epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan Lewis b kan grubu antijenlerine bağlanır. *babA* geninin iki kopyası vardır: *babA1* ve *babA2*. *babA1* geni translasyon için gerekli olan başlangıç kodunu olmadığından dolayı eksprese edilemez. Dolayısıyla *babA1* genine sahip suşlar Lewis b kan grubu antijenlerine bağlanamazlar. *babA2* geni fonksiyonel BabA proteinini kodladığından dolayı bu gene sahip suşlar Lewis b kan grubu antijenlerine bağlanabilirler<sup>56</sup>. O kan grubuna sahip bireylerin mide epitel hücrelerinde, A veya B kan grubuna sahip bireylere oranla daha fazla Lewis b antijeni olduğu ve bu nedenle bu bireylerde duodenal ülser ve mide kanseri gelişme riskinin daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür. *H. pylori*'nin SabA (sialic acid binding adhesin) adı verilen ikinci bir adezin daha ürettiği ve bunun da siyalil-Lewis x veya fukozil-Lewis x adı verilen glukokonjugatlara bağlandığı saptanmıştır. *H. pylori* infeksiyonu sonucu oluşan inflamasyonu takiben mide epitelinde siyalil-Lewis x antijen ekspresyonunun arttığı ve *H. pylori* tarafından indüklenen inflamasyonun, hedef bağlanma bölgelerinin artışı sağlayarak konak hücredeki kolonizasyonu artırdığı gösterilmiştir<sup>51,52,54</sup>. Bunun dışında, bakterinin ürettiği müsinaz enzimi mucus tabakasını eriterek, doku hasarından dolayı açığa

çıkan fosfolipaz A2 de mukus tabakasının altındaki fosfolipit yapıyı hasara uğratarak bakterinin epitel ile daha yakın temasına neden olurlar. Bakteri yüzeyindeki lipid, karbonhidrat ve gangliyozitlerin de yapışmada rolü olabileceği düşünülmüş, ancak kesin olarak kanıtlanamamıştır<sup>27</sup>.

### **Katalaz ve Superoksid Dismutaz**

Katalaz ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimleri, aktive olmuş nötrofiller tarafından sekrete edilen oksijen radikallerine karşı antioksidan mekanizma ile *H. pylori* 'yi korurlar. SOD, süperoksiti hidrojen peroksit'e dönüştürür, katalaz ise hidrojen peroksiti, oksijen ve suya parçalar. *H. pylori* katalaz ve süperoksit dismutazın üretimiyle hücre içi ölümden ve fagositozdan korunur<sup>3,4</sup>.

### **Doku hasarı oluşturan virulans faktörleri**

*H. pylori* *cagA* (cytotoxin associated gene A), *vacA* (vacuolating cytotoxin gene A) *iceA* (inducible by contact with epithelium gene A) ve *oipA* (outer inflammatory protein A) gibi virulansta çok değişik ve hayati roller oynayan gen bölgelerine sahiptir<sup>27,55</sup>.

### ***cag* Patojenite Adası (*cagPAI*) ve *cagA* geni**

128 kDa (120-140 kDa) molekül ağırlığında ve ortalama 1200 amino asitten oluşan CagA proteini, *cagA* geni tarafından sentez edilir. CagA proteini güçlü immünojenik ve sitotoksin özelliktedir. *H. pylori* suşlarının yaklaşık %50-70'inde *cagA* geni bulunmaktadır ve CagA proteinini ekspresse etmeyen suşlarda *cagA* geni bulunmaz. CagA proteini, ilk tanımlandığında toksijenik suşlarda toksijenik olmayan suşlara göre daha sık sentez edildiği saptanmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda, peptik ülserli hastalarda CagA'ya karşı lokal ve sistemik antikor yanıtı olduğu görülmüştür. Peptik ülserli ve gastrik adenokarsinomlu hastaların gastritli ve asemptomatik hastalara oranla CagA seropozitif olma olasılığı daha yüksektir. *cagA*+ suşla infekte olmanın mide kanseri riskini belirgin oranda artırdığı tahmin edilmektedir<sup>56,60,65</sup>. *cagA* geninin yanında bulunan genlerin incelenmesi sonucunda, *cagA* geninin bir ucunda yaklaşık 30 genden oluşan *cagPAI* adı verilen 40 kb'lık bir bölge tanımlanmıştır<sup>55</sup>. Bu gen adası, diğer bakterilerde olduğu gibi virulansla ilişkili ve özellikle de tip IV sekresyon sistemi (T4SS)'nde rol alan bir dizi proteinleri kodlar. *cagPAI*'deki G+C oranının *H. pylori* genomunun geri kalanına oranla daha düşük olması bu bölgenin horizontal transfer yoluyla başka bir mikroorganizmadan kazanıldığını göstermektedir. *cagA*+ suşların çoğunda *cagPAI* bir bütün olarak bulunur ya da bulunmazken, bazı suşlarda bu bölgede reorganizasyon veya kısmi

delesyon olabilmektedir. *cagPAI* taşıyan suşlar tip I suşlar olarak tanımlanırlar ve bu suşlar ülser ve mide kanserleri gibi ciddi klinik tablolarla ilişkilendirilirler. *cagPAI* taşımayan suşlar ise tip II suşlar olarak tanımlanıp, daha çok non-ülser dispepsi gibi benign gastrointestinal rahatsızlığı olan hastalardan izole edilirler. CagA proteini T4SS ile gastrik epitel hücreye girer ve sitozole yerleşir CagA proteininin tirozin aminoasitleri, konak hücre içerisinde, hücredeki Src-kinaz enzimleri tarafından fosforile olur. CagA'nın tirozin fosforilasyonu, 5 amino asitten (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) oluşan EPIYA motif bölgesinde gerçekleşir. Bazı çalışmalar EPIYA motiflerinin sayısının farklı klinik sonuçlarla ilişkili olduğunu göstermiştir. Daha fazla EPIYA motifi içeren suşların hücre iskeletinin yeniden düzenlemesine ve yüksek seviyede CagA fosforilasyonuna sebep olarak daha fazla atrofik gastrit ve gastrik kanser ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Fosforillenmiş CagA, bir fosfataz enzimi olan SHP-2 ile etkileşime girer. CagA proteini, bu şekilde hücredeki sinyal iletim yolları ile etkileşime girerek proliferasyon, apoptozis ve hücre iskeleti organizasyonu gibi birçok hücre sel fonksiyonu etkiler<sup>55,66</sup>. Buna ek olarak *cagPAI*'deki bazı genlerin, epitel hücrelerinden nötrofillerin aktivasyonuna neden olan IL-8 salınımını indükleyerek inflamasyona neden olduğu bilinmektedir<sup>66</sup>.

### ***vacA* geni**

VacA sitotoksini epitel hücrelerinde vakuolizasyon ve hücre ölümüne neden olan bir toksindir. *H. pylori* suşlarının tamamında *vacA* geni bulunmasına rağmen suşların yaklaşık olarak %50'sinde VacA toksini üretilmektedir<sup>56</sup>. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda VacA negatif suşların da kolonize olabildiği saptanmıştır<sup>60</sup>. VacA toksini, kromozomda 3933 bp büyüklüğünde bir açık okuma bölgesi-ORF- olan *vacA* geni tarafından kodlanmaktadır. VacA toksini yaklaşık 140 kDa'luk 1287-1296 aminoasitlik öncül protoksin olarak sentezlenir. Hücre içinde sentez edilen protoksinin hücre dışına sekresyonu sırasında hücre zarı ve dış membrandan geçerken N-terminal dizisi ve C-terminal kısmı parçalanır ve 6 veya 7 monomerden oluşan 87–95 kDa boyutunda çiçek şekilli aktif toksin şeklini alır. Bu protein bütün ekstrasellüler toksinler gibi iki parçalıdır. Küçük parça p37 apoptozisten sorumlu iken, p58 olarak tanımlanan büyük parça küçük parça ile birlikte vakuolizasyondan sorumludur. *vacA* geni mozaik bir yapıya sahiptir ve suşlar arasında oldukça fazla polimorfizm gösterir. Polipeptidin sinyal dizisini ve orta bölgesini kodlayan *vacA* geni allelleri suşlar arasında değişkenlik gösterir. Genin 5' ucunda bulunan ve polipeptidin sinyal dizisini kodlayan s bölgesinin s1a, s1b ve s2

olmak üzere üç allelik tipi vardır. Proteinin orta bölgesini kodlayan m bölgesinin m1 ve m2 olmak üzere 2 tipi vardır. m1 tipi, m1a ve m1b olmak üzere alt tiplere ayrılır. Bir suş, s ve m bölgelerinin s2/m1 dışındaki tüm kombinasyonlarına sahip olabilir. Farklı *vacA* genotipine sahip olan suşların toksin aktivitesi farklıdır. *vacA* m1 alleleline sahip suşların *vacA* m2 alleleline sahip suşlardan daha toksijenik olduğu bilinmektedir. Buna paralel olarak; *invivo* ortamda *vacA* m1 alleleline sahip suşların *vacA* m2 alleleline sahip suşlara oranla daha fazla epitel hasarına neden olduğu saptanmıştır. m1 alleleline sahip suşlardan s1a/m1 kombinasyonuna sahip olanların s1b/m1 kombinasyonuna sahip olanlardan daha toksijenik oldukları düşünülmektedir. s1 tipi VacA oldukça fazla miktarda vakuol oluşumuna neden olurken s2 tipi VacA proteininin N terminal ucu oldukça kısadır ve vakuol oluşumuna neden olmaz. s2 *vacA* tipine sahip suşların toksijenik olmadıkları ve oldukça az miktarda inflamasyona neden oldukları bildirilmektedir. *H. pylori* suşlarının tümü *vacA* genine sahipken sadece %40'ı aktif VacA proteini sentezlemektedir. Yapılan bir araştırmada; s1a/m1 suşlarının peptik ülserli hastalardan, s1b/m1 suşlarının gastritli hastalardan, s2/m2 suşlarının ise asemptomatik hastalardan daha sık izole edildiği; *vacA* s1/m1 suşlarının gastrik adenokarsinoma ile oldukça bağlantılı olduğu bildirilmiş ve spesifik *vacA* genotipinin infeksiyonun klinik seyri ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır<sup>65,67</sup>.

VacA proteini, epitel hücrelerinin hücre membranında por oluşturarak anyonların ve ürenin epitel hücrelerinden dışarıya çıkışına olanak sağlar. Porlar aracılığıyla hücre dışına çıkan üre, Urel kanalları aracılığıyla *H. pylori* hücresi içerisine alınıp üreaz tarafından hidrolize edilir ve oluşan bazik ortam *H. pylori*'yi mide asiditesinden korur. VacA, epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantıları bozar ve besin maddelerinin mide mukoza bariyerini aşarak *H. pylori*'ye ulaşmasını sağlar. Yapılan *invitro* çalışmalarda; VacA'nın immun yanıtı baskıladığı, makrofajlarda fagozom olgunlaşmasını ve T hücrelerine antijen sunumunu engellediği, T hücrelerinin proliferasyonunu bloke ettiği, mitokondri membranında oluşturduğu porlar aracılığıyla mitokondriden sitokrom C salınımına neden olarak apoptozisi indüklediği, epitelyum hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı ve hücre iskeletini etkileyerek doğrudan hücre hasarına neden olduğu gösterilmiştir<sup>56,65,67</sup>.

### ***cagE* geni**

Mide epitel hücrelerindeki IL-8 yapımında görev alan bir proteini kodlar<sup>68</sup>.

### ***virB11* geni**

*cagPAI*'de bulunan bu gen, konak epitel hücrelerine bir ya da daha fazla etkili

proteinin iletimini sağlayan bir tip IV sekresyon sistemini kodlar<sup>68</sup>.

### ***oipA* geni**

*H. pylori* hücre duvarında yer alan OMP'lerinden (outer membrane protein–dış zar proteini) *oipA* geninin kodladığı OipA proteininin, *cagPAI* gibi IL-8 ekspresyonunda rol aldığı ve klinik olarak önemli olduğu bildirilmiştir<sup>55</sup>.

### ***iceA* geni**

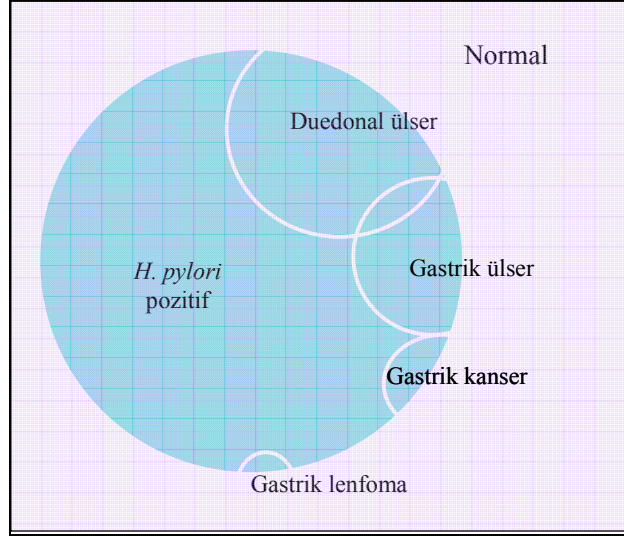
*iceA*, gastrik epitel hücre ile temas sonrası uyarılan bir restriksiyon metilasyon genidir. Genin *iceA1* ve *iceA2* olarak tanımlanan iki allelik tipi bulunmaktadır. Bu allellerin virulanstaki rolleri ve klinik önemleri tartışmalıdır. Batı toplumlarından izole edilen suşlarda *iceA1* varlığı peptik ülser ve gastrik karsinomalar için bir risk faktörü olarak gösterilirken, görülme sıklığı giderek artan *iceA2* ise, daha çok non-ülser dispepsili hastalardan izole edilen suşlarda görülmektedir<sup>56,69</sup>.

### **Thioredoxin (CD59)**

*H. pylori* proteinlerin disülfid bağlarını keserek denatüre edebilen thioredoxin enzimine sahiptir. Bu enzim sayesinde mukus tabakasındaki musinleri ve konak tarafından sekrete edilen nonspesifik ve spesifik IgA, IgG ve IgM gibi immunoglobulinleri denatüre ederek konak savunmasından korunabilmektedirler<sup>70</sup>.

### **Hastalıklarla ilişkisi**

*H. pylori* infeksiyonu; asemptomatik infeksiyondan, peptik ülser (duodenal ülser ve/veya mide ülseri), mide adenokarsinoması ve primer B hücreli lenfoma gibi pek çok klinik tabloyla sonuçlanabilmektedir. İnfeksiyonun klinik seyrinde bakteriyel, konakçı ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimlerin önemli rol oynadığı belirtilmiştir<sup>3,71,72</sup>. Şekil 3'te *H. pylori* ile ilişkili hastalıklar gösterilmiştir<sup>37</sup>.



**Şekil 3.** *H. pylori* ile ilişkili hastalıklar<sup>37</sup>.

### **Akut infeksiyon**

*H. pylori* genellikle çocukluk çağında kazanılmakla birlikte yeni infeksiyon erişkinlerde de ortaya çıkabilir<sup>73</sup>. Akut dönem genellikle asemptomatik geçirilir. Bazı hastalarda bulantı, kusma, üst karın bölgesinde ağrı, şişkinlik, gibi semptomlarla karakterize üst gastrointestinal sistem hastalığı gelişebilir. Semptomlar 3-14 gün, genellikle bir haftadan az sürer. Besin zehirlenmesi tablosuna benzetilebilir. Akut gastrit genellikle geçici bir durumu yansıtır ve mukozada bol miktarda PNL içeren infiltrasyon söz konusudur<sup>27,73,74</sup>.

### **Kronik aktif gastrit**

Bugün artık bilinmektedir ki, akut infeksiyondan sonra *H. pylori* infeksiyonu birçok insanda hayat boyu devam edebilmekte ve genellikle asemptomatik seyreden kronik yüzeysel aktif bir gastrit oluşmaktadır<sup>1,3</sup>. Kronik gastritte lenfosit ve plazmosit ağırlıklı infiltrasyon vardır. Aktif inflamasyonun göstergesi nötrofilik infiltrasyondur<sup>73</sup>. Gastrit, *H. pylori* ile ilişkilendirilen semptomatik hastalıklar için gerekli prekürsördür. Gastritin olduğu bölgeye ve meydana gelen hasarın şiddetine göre duodenum ülseri, gastrik ülser, atrofik gastrit, mide kanseri, MALT gibi patolojiler meydana gelir. *H. pylori* alımıyla gastrit geliştiğine dair şimdiye kadar gösterilmiş pek çok kanıt vardır. Bakteri genellikle korpuse göre asiditenin daha düşük olduğu antrum bölgesine yerleşir. Asit sekresyonunun fazla olması nedeniyle antral gastritte duodenal ülser gelişme riski vardır. Midenin korpus bölgesinde gelişen gastritte ise gastrik atrofi, intestinal metaplazi ve gastrik kanser gelişme riski söz konusudur<sup>1,27,73</sup>.

## **Gastrik ülser**

Gastrik ülserli hastalar duodenal ülserli hastalardan daha az oranda *H. pylori* ile kolonizedirler (%50–80). Gastrik ülserlerin en önemli nedeni steroid olmayan anti-inflamatuar ilaç (NSAID) veya aspirin kullanımınıdır. Bunun dışındaki hastalarda en sık neden *H. pylori* olarak belirlenmiştir. Prepilorik bölgede görülen gastrik ülserler veya duodenal ülsere ya da bir duodenal skara eşlik eden korpus ülserleri duodenal ülsere benzer patogeneze gösterir. Gastrik ülserin bugün için kabul edilen dört ana sebebi vardır: 1) *H. pylori* 2) NSAİİ 3) Zollinger-Ellison Sendromu (ZES) 4) Diğer sebepler (Crohn, malignite gibi). *H. pylori*'nin eradikasyonu sonucunda rekürrensün büyük oranda azaldığının gösterilmesi, *H. pylori*'nin gastrik ülser etyolojisinde yeri olduğunu gösteren bir kanıt sayılabilir<sup>1,73</sup>.

## **Duodenal ülser ( Peptik ülser)**

Aspirin, NSAID kullanımı veya ZES nedeniyle oluşan ülserlerin dışında, duodenal ülser genellikle *H. pylori* kolonizasyonuna bağlıdır. *H. pylori* infeksiyonu ve duodenal ülser arasındaki ilişki gastrik ülserden daha güçlüdür. *H. pylori*'nin peptik ülser hastalığı ile ilişkili olduğunun en güçlü kanıtı *H. pylori* eradikasyonunu takiben peptik ülser hastalığının iyileşmesi ve nüks etme oranının belirgin olarak azalmasıdır. Duodenal ülserli hastaların yaklaşık %95'i *H. pylori* ile kolonizedir<sup>4</sup>. Duodenal ülserli hastaların çoğunda asit salgısı artmış veya normal olarak bulunur. Bunlarda *H. pylori* gastriti korpusta değil antrumdadır. Korpus mukozası oldukça iyi korunmuştur. *H. pylori*'nin yol açtığı hipergastrinemi, duodenuma geçen asit yükünde artışa neden olur. Duodenum mukozasında fazla aside yanıt olarak gastrik metaplazi adacıkları oluşur ve böylece *H. pylori* duodenumda kolonize olabilecek ortam bulmuş olur. Bu durum duodenitle sonuçlanır, duodenit de ülser ile sonuçlanır<sup>4,27,71</sup>. Duodenal ülser varlığında mide kanseri gelişme riskinin azaldığı rapor edilmiştir<sup>75</sup>.

## **Non-ülser (fonksiyonel) dispepsi**

Dispepsi epigastrik bölgede hissedilen ağrı, şişkinlik, bulantı, kusma, yanma ve erken doyma gibi semptomların aralıklı veya devamlı olarak üç aydan fazla sürmesi şeklinde tanımlanmaktadır. Ülseri olmayan, ancak dispepsi yakınmaları olan hastaların %4-21'inde bir yıl içinde ülser geliştiği gösterilmiştir. *H. pylori*'nin non-ülser dispepsinin etiyolojik etkeni olup olmadığı konusu tartışmalıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda fonksiyonel dispepsili olguların bir kısmında *H. pylori* eradikasyonunun semptomlarda azalmaya yol açtığı ve bunun plasebodan %10 daha etkili olduğu gösterilmiştir<sup>27,76</sup>.



## **Gastrik kanser**

IARC tarafından 1994 yılında *H. pylori* insanlar için birinci sınıf karsinojen olarak ilan edilmiştir<sup>6</sup>. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, *H. pylori* infeksiyon prevalansının yüksek olduğu toplumlarda mide kanseri prevalansının da yüksek olduğunu ve *H. pylori* infeksiyonu prevalansı ile mide kanseri prevalansı arasında coğrafik bir ilişki olduğunu göstermiştir<sup>77</sup>. *H. pylori* ile enfekte kişilerde 3-6 kat artmış gastrik kanser riski vardır ve gastrik kanserli hastaların %50'sinde *H. pylori* pozitifliği bulunmaktadır. *H. pylori* ile gastrik karsinoma ilişkisi daha çok intestinal tip gastrik karsinoma ile kurulmuştur. Çünkü intestinal tip gastrik karsinomanın atrofik gastrit ve intestinal metaplazi gibi prekanseröz lezyonları vardır<sup>75</sup>. Mide kanserinde *H. pylori*'nin rolü açısından pek çok mekanizma ileri sürülmektedir. *H. pylori* infeksiyonu sırasıyla kronik gastrite, atrofik gastrite, intestinal metaplaziye, displaziye ilerlemekte ve sonuçta gastrik karsinoma gelişmektedir. *H. pylori*'nin neden olduğu gastrik epiteliyal hiperproliferasyon ve yarattığı inflamasyon sonucu ortamda artan serbest oksijen radikallerinin birlikteliği en önemli faktör olarak görünmektedir. Özellikle son yıllarda antrum ve mide korpus kanseri oranlarındaki düşüş *H. pylori* prevalansındaki azalma ile paraleldir<sup>27,71,75,78</sup>.

## **Gastrik lenfoma; MALT**

*H. pylori* infeksiyonu ile doğrudan ilişkilendirilen ikinci tümöral oluşum mide lenfoması yani çoğu B hücrelerinden köken mukoza ile ilişkili lenfoid doku tümörüdür. MALT'ın *H. pylori* ile ilişkisi mide kanserinden çok daha belirgindir. MALT olan hastaların %72-98'inde *H. pylori* pozitifliği, ortalama %70'inde ise CagA+'lığı saptanmış, *H. pylori* eradikasyonundan sonra da olguların %70-80'inde gerileme olduğu gözlenmiştir. Patogeneizde *H. pylori*'nin neden olduğu kronik antijenik uyarı poliklonal lenfoid yanıtı yol açtığı ve neoplastik transformasyonun geliştiği ileri sürülmektedir<sup>27,78</sup>.

## **Gastroözefajial reflü hastalığı (GÖRH)**

*H. pylori* infeksiyonu ve gastroözefajial reflü hastalığı (GÖRH) arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok araştırma yayınlanmıştır. Bu çalışmaların bir kısmında *H. pylori* infeksiyonunun GÖRH'e karşı koruyucu bir rolü olmadığı gösterilirken, bir kısmında da bu organizmaya bağlı infeksiyonun reflü hastalığını ortaya çıkarabileceği veya daha önce var olan reflü hastalığını alevlendirebileceği vurgulanmıştır. 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. Sonuç olarak genelde kabul edilen görüş, GÖRH'nin şiddeti ile *H. pylori* varlığı arasında tersine bir ilişki olduğudur<sup>27</sup>.

### **Tanı**

*H. pylori*'nin tanımlanması için birçok tanı yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemler; endoskopi gerektiren invaziv ve endoskopi gerektirmeyen noninvaziv yöntemler olmak üzere iki gruba ayrılabilir. İnvaziv yöntemler arasında kültür, histolojik inceleme, hızlı üreaz testi ve moleküler yöntemler yer almaktadır. Noninvaziv yöntemler ise üre nefes testi, serolojik testler ve dışkıda *H. pylori* antijeni saptayan testleri içermektedir<sup>8,9,80</sup>. *H. pylori*'nin tespitinde altın standart kültür veya histopatolojik inceleme olarak tanımlanabilir. Tanının doğruluğunu artırmak için genellikle birkaç testin birlikte kullanılması gerekmektedir. Kullanılacak olan testin seçimi, yöntemin uygulanabilirliği, testin duyarlılık ve özgüllüğü, ulaşım olanakları, maliyeti ve hastanın klinik yakınmaları ile fizik bulguları dikkate alınarak yapılır<sup>3,80</sup>. Tablo 3'te çeşitli tanı testlerinin genel özellikleri tanımlanmıştır<sup>3</sup>.

**Tablo 3.** *H. pylori* infeksiyonu tanısında kullanılan testlerin genel özellikleri<sup>3</sup>.

Test	Duyarlılık(%)	Özgüllük(%)	Maliyet	Endoskopi	Yorum
<b>Histoloji</b>	90-95	95-99	++	Evet	Bakterinin düzensiz dağılımı Nedeni ile çoklu biyopsi gerektirir. İnflamasyonun derecesi belirlenebilir.
<b>Kültür</b>	75-90	100	+++	Evet	Laboratuvarın deneyimine göre değişkenlik gösterir. Antibiyogram için gereklidir.
<b>Hızlı Üre Testi</b>	85-95	90-95	+	Evet	Hızlı sonuç. Antibiyotik tedavisinden sonra sensitivite düşer.
<b>Gastrik Biyopsi PZR</b>	95	100	+++	Evet	İleri düzey laboratuvarlarda
<b>13C nefes testi</b>	95	98-100	++	Hayır	Hamileler ve çocuklarda tercih edilebilir. Tedavinin erken dönem takibinde kullanışlıdır.
<b>14 C nefes testi</b>	95	90-100	++	Hayır	Düşük doz radyasyon maruziyeti. Tedavinin erken dönem takibinde kullanışlıdır.
<b>Seroloji</b>	80-95	85-95	+	Hayır	Endoskopi öncesi taramada ve epidemiyojik kullanışlıdır.
<b>Dışkıda antijen tespiti</b>	94	97	++	Hayır	Pediyatrik hastalarda kullanışlı. Tespiti Tedavi öncesi ve sonrası aktif infeksiyonu tespit etmeye uygundur.

### **İnvaziv tanı yöntemleri**

*H. pylori* midenin tümünde değil belirli bölgelerinde kolonize olur. Bu nedenle hasta *H. pylori* ile infekte olsa bile, tek bir biyopsi örneğinin incelenmesi sonucunda bakteri saptanmayabilir. Bu olasılığı en aza indirmek için farklı bölgelerden en az iki biyopsi örneğinin incelenmesi önerilmektedir<sup>3</sup>.

### **Kültür**

Kültür yöntemi *H. pylori* tanısında kullanılan yöntemler arasında en özgül ve altın standart olan yöntemdir. Özgüllüğü %100'dür. Ancak bu yöntemin duyarlılığı

örneğin sayısı veya büyüklüğü, örnekteki bakteri miktarı, örneğin taşınma şekli ve süresi, kullanılan besiyerleri ve inkübasyon şartları ile çalışanın tecrübesine bağlı olarak %60-94 arasında değişmektedir<sup>2,81</sup>.

*H. pylori* özel kültür ortamına ihtiyaç duyan yavaş ve zor üreyen bir mikroorganizmadır. Bu nedenle sadece kültür sonuçlarına güvenmek bazı enfekte olguların gözden kaçmasına yol açabilir. Pahalı bir yöntem olmasına rağmen bakterinin kültürde üretilmesiyle kesin tanının konulmasının yanısıra, üretilen bakterinin antibiyotiklere karşı *invitro* duyarlılığı, moleküler tiplendirme yöntemleri ile virulans faktörleri araştırılabilir ve reinfeksiyon, relaps veya mikst infeksiyon ayrımı yapılabilir<sup>2,45,80</sup>. *H. pylori* dış ortam koşullarına oldukça duyarlı olduğundan dolayı biyopsi örneğinin taşınma koşulları kültür sonucunu doğrudan etkilemektedir. Alınan biyopsi örneği soğukta taşınmalı, en kısa sürede kültürü yapılmalıdır. Hemen ekilemeyecekse en çok +4°C'de 4-6 saate kadar saklanmalıdır. Serum fizyolojik, %10 at serumu eklenmiş ya da eklenmemiş triptik soy buyyon, BHIB, Brucella buyyon, Stuart transport medium gibi sıvılar taşıyıcı besiyeri olarak kullanılabilir. Daha uzun süre saklanması gereken biyopsi örnekleri, -70°C'de gliserollü BHIB içinde saklanabilir, fakat bu da kültürde üremeyi %40 azaltmaktadır<sup>2,3,45,80,82</sup>. Kültür için %7-10 at kanı ilave edilmiş Brucella agar, BHIA, Columbia agar veya Skirrow's agar kullanılabilir. Selektif olmayan besiyerleri ile nazofarinks florasını ve diğer olası kontaminan mikroorganizmaları engellemek için vankomisin, trimetoprim, sefsulodin ve amfoterisin B gibi antibiyotik ve antifungal ilave edilmiş selektif besiyerlerinin birlikte kullanılması gerekmektedir<sup>45,46</sup>. Hastanın önceden antibiyotik veya proton pompa inhibitörü alması, flora elemanlarının kontaminasyonu üremeyi inhibe etmekte ve kültürün duyarlılığını azaltmaktadır. Kültürün en önemli avantajlardan biri günümüzde giderek artan bir sorun olan antibiyotik direncini belirlemeye olanak sağlamasıdır. Uygulanacak antimikrobiyal duyarlılık testleri "Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)" onaylı olan agar dilüsyon ve ülkemizde ve Avrupa ülkelerinde kullanılan E-testtir. Bu testler rutin olarak uygulanmamalı, belirli aralıklarla antibiyotik duyarlılık paternini tanımlamak amacıyla yapılmalıdır<sup>6,83</sup>.

### **Histolojik inceleme**

Histopatolojik inceleme invaziv yöntemler içerisinde altın standart olarak kabul edilen, yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu yöntemin en önemli avantajı; hem dokudaki inflamasyonun ve varsa prekarsinojen değişimlerin şiddetinin hem de *H. pylori*'nin histolojik varlığının tespit edilebilmesidir. *H. pylori* oldukça

karakteristik bir morfolojiye sahip olduğu için ışık mikroskopunda başarılı bir şekilde ayırt edilebilmektedir. Kıvrık veya spiral şekilli bakteri mukus içinde, yüzey epiteline tutunmuş olarak, kriptin içine doğru derinlerde bulunur. Antral biyopsi örneklerinin, rutinde kullanılan HE veya özgülüğün arttığı WS gümüşleme, akridin-oranj ve modifiye Giemsa ile boyandıktan sonra histopatolojik değerlendirilmesi oldukça iyi sonuçlar vermektedir<sup>2,80</sup>. Mide biyopsi örneği konvansiyonel HE boyama yöntemi ile boyandığında; *H. pylori*, mide yüzeyindeki mukus tabakasında soluk pembe boyanmış spiral şekilli bakteriler şeklinde görülür. Mide biyopsi örneğindeki bakteri sayısı az olduğunda HE boyama yöntemi yalancı negatif sonuç verebilir. HE boyamada *H. pylori* görülmemişse fakat varlığından kuşulanılıyorsa başka bir yöntemle boyama uygun olur. WS boyama tekniği pahalı olduğundan ve fazla iş gücü gerektirdiğinden dolayı modifiye Giemsa yöntemi daha çok tercih edilmektedir. Modifiye Giemsa boyası daha basittir ve daha az laboratuvar işi gerektirmektedir. Rutin Giemsa boyama ise bazı araştırmacılar tarafından WS boyamaya eş değer bulunmuştur. Giemsa ile doku kesitlerinde *H. pylori* koyu mavi boyanmış spiral bakteriler olarak görülür. Mide biyopsi örneği Gram boyama yöntemi ile de boyanabilir fakat duyarlılığı diğer boyama yöntemlerine göre daha düşüktür. Histolojik incelemenin duyarlılığı %90-95; özgülüğü ise %95-99'dur. Bu yöntemin duyarlılığı büyük ölçüde incelemeyi yapan patoloğun tecrübesine bağlıdır. Duyarlılığı etkileyen bir diğer faktör de incelenen örnek sayısıdır. Midenin antrum ve korpus kısmından alınan iki veya daha fazla biyopsi örneğinin incelenmesi duyarlılığı artırmaktadır. Bu yöntemin özgülüğü, bakterinin tipik bir morfolojiye sahip olması ve mide epitel hücrelerinin lümenal yüzeyinde tipik bir şekilde lokalize olması nedeniyle oldukça yüksektir<sup>81</sup>. Monoklonal veya poliklonal floresan anti-*H. pylori* antikorlarının kullanıldığı immünohistokimyasal boyama tanıda özgül ve duyarlı bir yöntemdir, ancak maliyeti yüksektir<sup>2,81</sup>.

### **Biyopsi üreaz testi**

Biyopsi üreaz testi kolay, güvenilir, hızlı ve ucuz olması nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir testtir. *H. pylori*'nin bol miktarda üreaz enzimi oluşturması esasına dayanmaktadır. Üreaz enziminin üreyi hidrolize etmesi sonucu ortaya çıkan amonyak ve bikarbonat, ortamın pH değerini yükseltir. Artan pH ile birlikte renk göstergesi olan fenol kırmızısı ortamın rengini sarıdan kırmızıya değiştirir<sup>80,81</sup>. Ticari veya laboratuvarında hazırlanan üreaz testleri bulunmaktadır. "CLO test", "HUT test", "Helicocheck", "Hp fast", "Pylori Tek" ve "gastroskopik üreaz test (GUT)" ticari

kitlerdir. Biyopsi örneği Christensen'in %2'lik sıvı üre besiyerine, Stuart üre testi solusyonuna veya %10 üre ve %1 fenol kırmızısı solusyonuna konur ve renk değişikliği gözlenir. Konsantre (%10'luk) üre içeren laboratuvarında hazırlanan üreaz testi hızlı sonuç verir<sup>61</sup>. Duyarlılık örnekteki bakteri miktarından etkilenir. Hızlı üreaz testinin duyarlılığı %85-95; özgüllüğü ise %90-95'dir<sup>3</sup>. Reaksiyonun bir saat içerisinde pozitif vermesi durumunda özgüllük %100'e yaklaşmaktadır. *Proteus* veya oral kavitedeki üreaz enzimi üreten diğer bakterilerin biyopsi örneğini kontamine etmesi sonucu yalancı pozitif sonuçlarla karşılaşmak olasıdır. Hızlı üreaz testlerinin çoğu genellikle üç saat içinde yanıt verirken jel bazlı testler maksimum duyarlılık için 24 saate gereksinim duymaktadır. Hızlı üreaz testinin en önemli avantajı infeksiyonun kısa bir sürede saptanmasına ve hekimin tedaviye hemen başlayabilmesine olanak sağlamasıdır<sup>6,80,84</sup>.

### **Moleküler yöntemler**

Moleküler yöntemler, *H. pylori* infeksiyonlarının tanısı, virulans faktörlerinin tayini, antibiyotik direncinin belirlenmesi, tedavi sonrasında reinfeksiyonlar ile nüks eden infeksiyonların birbirinden ayırılmasında kullanılmaktadır. Ayrıca kültürde üretilmeyen kokoid formlarda moleküler yöntemlerle tanımlanabilmektedir. Moleküler yöntemler bakteri DNA'sının saptanmasına yönelik olduğundan dolayı canlı ve ölü bakteriyi ayırtedemez. Bu nedenle eradikasyon tedavisinin takibinde önerilmezler<sup>2,3,80,85</sup>. Moleküler yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri diğer yöntemlere göre oldukça yüksektir<sup>3,85</sup>. *H. pylori* suşlarında moleküler tanı yöntemleri kullanılarak belirlenen gen mutasyonları, suşların coğrafik ve etnik dağılımları hakkında önemli bilgiler sağlamıştır<sup>3,85</sup>. Moleküler yöntemlerle, kültür ortamlarında üretilen bakterilerin yanısıra, tükrük, diş plakları, mide sıvısı ve biyopsi gibi örneklerde de *H. pylori* suşlarına ait spesifik nükleik asit dizilerini PZR yöntemi ile araştırmak mümkündür<sup>3,80,85</sup>. *H. pylori*'nin tespiti ve/veya genotipik analizi için In-house-PCR, realtime-PCR, multipleks PCR, PCR-RFLP, PCR-RAPD gibi nükleik asit amplifikasyon yöntemleri, FISH, DNA dizi analizi ve DNA mikroarray teknikleri kullanılmaktadır<sup>80,81,85</sup>. Moleküler yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü; seçilen klinik örneğe, DNA ekstraksiyonunda kullanılan yöntem, amplifikasyon için seçilen gen bölgelerine, seçilen primer dizilerine bağlıdır. Biyopsi örneklerinden *H. pylori* DNA'sının ekstraksiyonu için genellikle üç yöntem kullanılmaktadır. Bunlar; fenol-kloroform yöntemi, kaynatma yöntemi ve ticari DNA ekstraksiyon kitleridir. Fenol-kloroform yöntemi ile yüksek kalitede DNA ekstraksiyonu sağlanabilmektedir. Fakat

çok basamaklı bir işlem olduğu için kontaminasyon riski artmaktadır. Kültürde üretilen suştan PZR yapılacaksa, kaynatma yöntemi oldukça uygun ve ekonomik bir yöntemdir. DNA ekstraksiyon kitlerinin dezavantajı pahalı olmaları; avantajı ise standardize edilmiş olduklarından dışkı gibi inhibitör maddelerin yoğun olduğu örneklerde diğer yöntemlere göre daha iyi sonuç vermeleridir. Primer olarak 16S rRNA, *cagA*, *vacA*, *ureA*, *ureB* ve *ureC* gen bölgelerine spesifik oligonükleotidler kullanılabilir<sup>80,86,87</sup>. Mikroorganizmanın 23S rRNA genini hedef alan primerlerin kullanıldığı PZR-RFLP yöntemi ile önce örnekteki *Helicobacter* türü mikroorganizmaların varlığı tespit edilip daha sonra restriksiyon endonükleaz enzim kalıpları dikkate alınarak *H. pylori* tayini yapılabilir. Buna karşılık *H. pylori ureA* ve özellikle *ureC* genlerini hedef alan dizilerle doğrudan örnekteki *H. pylori* genomu saptanabilir. Amplifikasyon temelli yöntemler, antibiyotik direncinin moleküler takibinde de klasik yöntemlere karşı daha duyarlı sonuçlar üretmiş olmakla birlikte, tanıdakine benzer standardizasyon eksikliği ve yorum farklılıkları gibi nedenlerle rutin kullanım alanı henüz bulamamıştır. *H. pylori* araştırmalarında kullanılan amplifikasyon temelli yöntemlerde iki önemli sorun bulunmaktadır. Bunlar örnekleme ve nükleik asit ekstraksiyonu ile hedef diziler ve seçilen primerlerdir<sup>8,45,80,87</sup>.

### **Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH)**

*H. pylori* ribozomal RNA'sının çoklu kopyaları ile oligonükleotidlerinin tanımlanmasının spesifik DNA-DNA hibridizasyonuna bağlıdır. Floresan boya ile işaretli oligonükleotidler, bakteriyel hücreye penetre olur ve hedef sekansa bağlanır. Bu teknik ile bakteri enfekte insanların gastrik mukoza örneklerinde floresan mikroskopisi kullanılarak saptanabilir. Bu metotta *H. pylori*, floresanla işaretlenmiş *H. pylori* spesifik 16S ve 23S rRNA ile hibridize edilir. İşaretlenmiş problemlerle in situ olarak hibridize edilmiş bakteriler floresan mikroskopisi ile incelenir. Bu test eş zamanlı olarak *H. pylori* ve klaritromisin direncinin saptanmasına olanak verir ve direkt olarak gastrik biyopsi örneklerine uygulanabilir<sup>87,88,89</sup>.

### **Non-invaziv tanı yöntemleri**

#### **Serolojik testler**

*H. pylori* enfeksiyonu, hem mide mukozasında lokal, hem de sistemik antikor yanıtı oluşturmaktadır. Sistemik olarak serumda spesifik IgG ve IgA'nın artışı, lokal olarak ise sekretuar IgA ve IgM'nin artışına neden olmaktadır<sup>81,83</sup>. Serolojik testler, hasta serumundaki antikorları tespit ederek mikroorganizma ile teması işaret eder. Bu testler, geçirilmiş enfeksiyon ile halen devam eden enfeksiyonları ayırt

edemediğinden kullanımları sınırlıdır. *H. pylori* enfeksiyonunda serokonversiyon yaklaşık 3 hafta sonra gelişir. İnfeksiyon süresi, kişinin yaşı ve immun durumu, bakteri yoğunluğu, immun yanıtı etkileyen önemli parametrelerdir<sup>81</sup>. Serolojik tanıda lateks aglutinasyon, kompleman fiksasyon, ELISA, Western blot ve immunofloresan yöntemler kullanılmaktadır. ELISA en yaygın kullanılan serolojik testtir<sup>2,81</sup>. Serolojik testlerde antijen olarak; tam hücre, tam hücre parçaları, glisin ekstratları, ısı-stabil antijenler, üreaz veya 120 kDa'luk protein kullanılmaktadır<sup>2,81</sup>. Serolojik testler, özellikle epidemiyolojik çalışmalarda yararlıdır. Spesifik IgM antikolar kısa süreli olarak yükselir, IgG ve IgA enfeksiyon süresince artar ve tedavi edilmedikçe yüksek kalır. Tedaviyi izleyen aylarda eradikasyon sağlandıysa IgG ve IgA düzeyleri düşmeye başlar. Fakat IgG düzeyi hiçbir zaman tamamen negatifleşmez. Tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde, tedavi öncesi ve tedavi edildikten itibaren üç-altı ay sonra olacak şekilde iki titrasyonun karşılaştırılması gereklidir<sup>2,83</sup>.

### **Üre nefes testi (ÜNT)**

Üre nefes testi noninvaziv testler içerisinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Nispeten pahalı bir yöntem olmakla birlikte gerek tanı gerekse tedavinin takibi amacı ile kullanılmaktadır. Üre nefes testleri yüksek duyarlılık (%95) ve özgüllüğe (%95) sahip testlerdir<sup>2</sup>. Bu testte oral yoldan C<sup>13</sup> veya C<sup>14</sup> (radyoaktif karbon) işaretli üre alımını takiben, 20-30 dk. sonra solunan hava örnekleri toplanmakta ve bunlar daha sonra spektrometrik olarak veya sintillasyon cihazlarında sayılmaktadır. İşaretli üre *H. pylori* ile infekte kişilerde bakterinin üreaz enzimi ile parçalanır. Oluşan CO<sub>2</sub> solunum havasında saptanmaktadır. Yalancı negatif sonuçlardan kaçınmak için antibiyotik veya omeprazol tedavisinden en az bir ay sonra uygulanmalıdır<sup>90,91</sup>.

### **Dışkı örneklerinde kullanılan tanı yöntemleri**

#### **A) Dışkıda antijen arayan testler**

*H. pylori* Stool Antigen (HpSA) testi, dışkı örneğinde *H. pylori* spesifik antijenlerini ELISA yöntemiyle belirleyen tanı testidir<sup>81,92</sup>. *H. pylori* enfeksiyonunu araştırmak için hızlı, non-invaziv, özel ekipman gerektirmeyen bir yöntemdir. Aktif enfeksiyonu ÜNT kadar efektif bir şekilde tespit eder ve ondan daha az yalancı pozitif ve negatif sonuçlara sebep olur. Duyarlılık ve özgüllüğü %95'i geçer. Tekrarlayan uygulamalarda güvenilirliğini kaybetmemesi serolojiden, ilaçlardan etkilenmemesi ÜNT'den üstün yönleridir. Gerekli malzeme sadece dışkıdır. Elde edilmesinde ve taşınmasında özel bir araç gerekmez, taze veya donmuş olabilir<sup>8,81</sup>. Hem tarama testi



olarak epidemiyolojik çalışmalarda, asemptomatik kişilerde *H. pylori* infeksiyon prevalansının saptanmasında, hem de tedavi sonrası kontrol amacıyla kullanılabilir. Eradikasyonun doğrulanması için kullanılacaksa, tedavinin sonlandırılmasından dört hafta sonra uygulanmalıdır. Özellikle çocuklarda ÜNT uygulaması zor olduğundan avantajlı bir yöntemdir. Testten önce dışkı 2-8°C'de üç gün, -20°C'de uzun bir süre saklanabilir. Ticari olarak hazırlanmış poliklonal ve monoklonal antikor testleri bulunmaktadır. Tavşanlardan elde edilen poliklonal antikorların kullanıldığı "Premier Platinum HpSA" (Meridian Diagnostics, Inc. Cincinnati, Ohio) testinin özgüllüğü oldukça yüksekken, bakteri yoğunluğunun düşük olduğu örneklerde duyarlılığı genellikle düşük bulunmuştur. Bu nedenle monoklonal antikorlar kullanılmış ve Monoklonal testler yüksek duyarlılık ve özgüllük göstermiştir<sup>93</sup>. Son yıllarda geliştirilen "Hızlı İmmunokromotografik Dışkı Testi" ise hasta başında uygulanabilmekte ve 5 dk. gibi kısa bir sürede sonuç vermektedir. Fakat duyarlılık ve özgüllükleri ELISA yöntemine göre daha düşüktür<sup>81,93</sup>.

### **B) Dışkı kültürü**

*H. pylori* safraya duyarlı bir bakteridir. Dışkı safra asitlerinin yüksek oranda bulunduğu bir ortamdır. Dışkı aynı zamanda anaerop ve fakültatif anaerop bakterilerden oluşan zengin bir normal floraya sahip bir ortamdır. Bütün bu nedenlerden dolayı dışkı kültüründe *H. pylori* üretmek oldukça zordur. Pasajın çok hızlı olduğu diyareli olgularda dışkıda *H. pylori* üretilenmiştir<sup>2</sup>.

### **C) Dışkıdan PZR ile etkenin aranması**

Dışkı PZR inhibitörleri açısından çok zengindir. Bu nedenle uygulanacak DNA ekstraksiyon yöntemi ve inhibitör uzaklaştırılması dışkıda PZR uygulamasında çok önemlidir<sup>2</sup>.

### **Tedavi**

*H. pylori* tedavisinde kesin endikasyonlar peptik ülser hastalığı ve midenin MALT lenfomasında mikroorganizmanın ortadan kaldırılmasıdır. Mide kanseri olan hastaların birinci derece akrabalarında da *H. pylori* eradikasyonu yapılmalıdır<sup>74</sup>. Bugün hala *H. pylori*'nin eradikasyonunda uygulanabilecek ideal bir tedavi protokolü oluşturulamamıştır. *H. pylori*'nin antibiyotikler ile ulaşılması güç olan mukus tabakasının altında kolonize olması, mide asidinin antibiyotik etkisini azaltması, bakterinin antibiyotiklere kolayca direnç oluşturması gibi nedenlerle infeksiyonunun en iyi tedavi şeklini belirlemek zordur. Tek bir antibiyotikle yapılan tedaviler başarısızdır. Antibiyotiğe bir PPI (Proton Pompa İnhibitörü) veya bizmut tuzu

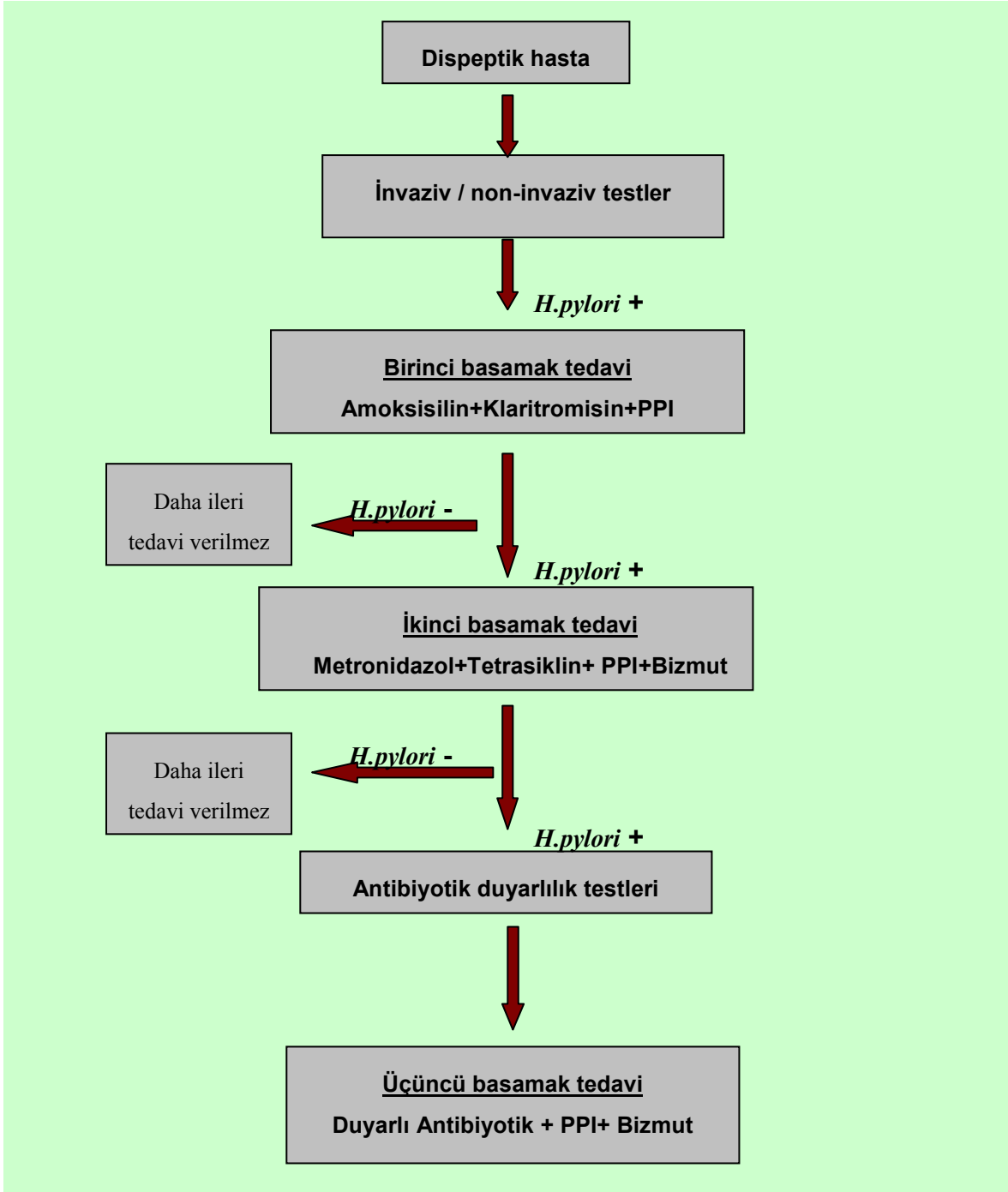
eklenerek yapılan ikili tedavi ile de başarı oranı düşüktür (%20-60) ve sıklıkla nüks görülür<sup>27,94</sup>. Bu nedenle amoksisilin, metronidazol, klaritromisin ve tetrasiklin gibi antibiyotiklerden en az ikisi, PPI ve/veya H<sub>2</sub> reseptör antagonistleri ve bizmut tuzlarının eklendiği çoklu ilaç tedavileri gerekmektedir. Ancak, tedavi alan hastaların önemli bir kısmında (%10-20) *H. pylori* eradikasyonu başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir. Tedavi başarısızlıklarının temel nedeni ilk seçenek antibiyotiklere karşı gelişen direnç nedeni ile ortaya çıkmaktadır. Bunun yanı sıra hastanın yaşı, sigara kullanımı, ilaç uyumu, *H. pylori* ile ilgili altta yatan hastalık, ilaçların hedef dokuya yeterli konsantrasyonda ulaşamaması, düşük pH nedeniyle ilaçların inaktivasyonu, tedavinin süresi, tedavi öncesi midedeki bakteri yükü ve bakterinin genotipi gibi nedenlere de bağlanmaktadır<sup>95,96</sup>.

1987 yılında kurulan Avrupa *H. pylori* Çalışma Grubu (European Hp Study Group- EHSg) *H. pylori* infeksiyonu bulunan hastalardan hangilerinin, nasıl ve ne zaman tedavi edilmesi ile ilgili olarak bir görüş birliği sağlamak üzere Hollanda'nın Maastricht kentinde toplantılar düzenlemektedir. 2005 yılında üçüncüsü yapılan Maastricht toplantısında (Maastricht III Florence Consensus Report March 2005) "fonksiyonel dispepsili hastalarda test et, tedavi et" yönteminin uygulanması konusunda bir görüş birliğine varılmıştır. Bu toplantıda *H. pylori* tedavisinde yeni yaklaşımlar da gündeme gelmiştir. *H. pylori* eradikasyonunda etkili bir tedavi rejiminin uygulanmasının önemi üzerinde durularak en az %80 olguda eradikasyon sağlanması öngörülmüştür. *H. pylori* tedavisinin düzenlenmesinde klaritromisin ve metronidazol direnç prevalansının bilinmesinin önemi vardır. Örneğin, klaritromisin direncinin %15-20'den yüksek olduğu toplumlarda tedavinin etkinliği düşmektedir. Toplumda klaritromisin direnci %20'nin altında ise üçlü tedavide klaritromisin yer alabilir. Metronidazol direncinin klinik sonuçları daha az etkilediği bildirilmiştir. Metronidazol direnci %40'ın altında ise üçlü tedavide yer alabilir. Metronidazol direncinin daha fazla olduğu bölgelerde, tedavide metronidazol yerine amoksisilin kullanılması önerilmektedir. Bu nedenlerden dolayı, tedaviye başlamadan önce, bölgedeki antibiyotik direnç durumunun göz önünde bulundurulması gerekmektedir. EHSg'nin raporuna göre iki haftalık tedavi uygulanması, bir haftalık tedaviye göre %12 daha fazla eradikasyon sağlamaktadır. Hasta uyumu ve maliyet göz önüne alındığında EHSg bir haftalık tedaviyi önermektedir<sup>97</sup>.

Antisekretuar ajanlar etiyojisine bakılmaksızın ülserin iyileşmesini hızlandırır. H<sub>2</sub> reseptör antagonistleri antisekretuar ajanlardandır. Parietal

hücrelerde H<sub>2</sub> reseptöründe histaminin geri dönüşümlü inhibitörleridir. H<sub>2</sub> reseptör antagonistleri *H. pylori*'ye karşı antibakteriyal aktivite göstermezler. PPI'ler, gastrik parietal hücrelerin lümeninde hidrojen potasyum ATPaz pompasında asit sekresyonunu bloke ederek intraluminal gastrik pH'yı arttırır. H<sub>2</sub> reseptör antagonistlerinden daha iyi pH kontrolü yapabilen en etkili antisekretuar ajanlardır<sup>98,99</sup>. PPI'ler *invivo* ortamda *H. pylori*'yi baskılamakta ve bakterinin kokoid forma dönüşümünü indüklemektedir. PPI'ler *H. pylori*'yi eradike edemediklerinden dolayı, tek başına PPI tedavisi sonrası *H. pylori* kaynaklı ülserlerin nüks etme riski oldukça yüksektir. PPI'ler antibiyotiklerle kombine kullanıldıklarında mide mukus tabakasında ve mukozada antibiyotik konsantrasyonunu ve bazı antibiyotiklerin aktivitesini artırarak *H. pylori* eradikasyonunda etkili olmaktadır<sup>17,98,99</sup>. *H. pylori*'ye karşı bakterisidal etkili topikal bir ajan olan bizmut tuzları da kombine tedavilerde kullanılmaktadır. Bizmut organizmanın üreaz aktivitesini inhibe ederek gastrik epitelyal hücrelerde yakalanmasına yol açar ve hızla bizmut tuzları ile kaplanan bakterinin lizisine neden olur. Bizmut tuzlarına karşı herhangi bir direnç gelişimi yoktur<sup>17,100</sup>.

Birinci basamak *H. pylori* tedavisi alan hastaların yaklaşık %10-20'sinde *H. pylori* eradikasyonu başarısızlıkla sonuçlanır. İlk tedavi başarısızlıkla sonuçlanırsa; ikinci basamak tedavide PPI, bizmut tuzu, metronidazol ve tetrasiklinden oluşan dörtlü tedavinin kullanılmasını önermektedir. Dörtlü tedavi ile de eradikasyonda başarılı olunamazsa son seçenek tanıda kültür yöntemini kullanarak izole edilen bakteriye antibiyotik duyarlılık deneyinin yapılması ve tedavide bakterinin duyarlı olduğu antibiyotiklerin kullanılmasıdır<sup>97</sup>. Şekil 4'te *H. pylori* eradikasyonu şematik olarak gösterilmiştir<sup>17</sup>.



**Şekil 4.** *H. pylori* eradikasyonu<sup>17</sup>.

Maastricht III-2005 konsensus raporunda kimlerin nasıl tedavi edileceği tanımlanmaktadır. Buna göre *H. pylori* testi pozitif olan tüm hastaların tedavi edilmesi gerekmektedir. *H. pylori* eradikasyonu yapılması düşünülüyorsa, *H. pylori* testi yapılmaması gerektiği bildirilmektedir. Tablo 4'de *H. pylori* eradikasyon endikasyonları gösterilmektedir<sup>16</sup>.

**Tablo 4.** *H. pylori* pozitif hastalarda eradikasyon endikasyonları<sup>16</sup>.

• Dispepsi
• Duodenum Ülseri
• Mide Ülseri
• Komplikeşyonlu Peptik Ülser Hastalığı
• Gastrik MALToma
• Atrofik Gastritis
• Gastrik Kanser rezeksiyonundan sonra
• Mide Ca'lıların birinci derece yakınları
• Dispepsi
• Hasta eradikasyon istiyorsa

Maastricht III-2005 konsensus raporunda; araştırılmamış dispepsi olgularında test et ve tedavi et yaklaşımının uygulanması önerilmiştir. Test et ve tedavi et yaklaşımı, ani kilo kaybı, anemi, sık kusma, disfaji ve karında kitle palpe edilmesi gibi alarm semptomu göstermeyen hastaların ÜNT veya dışkıda antijen saptayan testler gibi non-invaziv yöntemlerle *H. pylori*'nin araştırılması ve *H. pylori* pozitif olan hastaların tedavi edilmesi ilkesine dayanır. Alarm semptom gösteren hastalara malignite şüphesini ortadan kaldırmak için endoskopi yapılması gerekmektedir. Araştırılmış dispepsi durumunda *H. pylori* pozitif olan tüm olgulara eradikasyon önerilmiştir. Bu toplantıda, *H. pylori* eradikasyonun GÖRH'na neden olmadığı ve PPI'ler ile yapılan güçlü asit süpresyonun gastrite yol açarak atrofik gastrite gidişini hızlandırdığı vurgulanmıştır. GÖRH'da rutin *H. pylori* testine gerek olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak uzun süre PPI kullanılması zorunlu ise *H. pylori* testinin yapılması ve test pozitif ise *H. pylori* eradikasyonu gerektiği bildirilmiştir<sup>16,97</sup>.

*H. pylori* infeksiyonu ve NSAİ (Non-Steroid Anti-İnflamatuvar) ilaçlar birbirlerinden bağımsız olarak ülser oluştururlar. Birliktelikleri ülser riskini artırmaktadır. Yalnız başına *H. pylori* eradikasyonu kronik NSAİ ilaç kullananlar için yararlı olsa da NSAİ ilaçlara bağılı ülser gelişimini tamamen önlemez. Hastada NSAİ ilaç kullanılacak ise önce *H. pylori* testi yapılmalı ve test pozitif ise *H. pylori* eradike

edilmelidir. NSAİ ilaç kullanan ve ülserli hastalarda PPI ülser ve kanama nüksünü önlemede *H. pylori* eradikasyonundan daha etkilidir<sup>16,97</sup>.

### **Antibiyotik Direnci**

#### **Primer (Doğal) Direnç**

Primer direnç, her suşun kromozomunda her zaman bulunabilir ve antibiyotik hiçbir zaman bu bakteri infeksiyonunun tedavisi için kullanılmaz. *H. pylori* polimiksinlere, glikopeptidlere, nalidiksik aside, trimetoprime, sulfonamidlere, sefsulodine, nistatine, amfoterisin B'ye ve sikloheksimide doğal olarak dirençlidir. Bu ajanlardan bir kısmı, besiyerlerinde *H. pylori*'yi izole etmek için kullanılmaktadır<sup>96</sup>. Primer direnç ülkeden ülkeye değişiklik gösterir. Örneğin metranidazol için direnç oranı %18,8 (Belçika) ve %61,0 (Finlandiya) arasında değişiklik göstermektedir. Aynı şekilde klaritromisin için de direnç oranı %0 (Norveç) ve %27,2 (İtalya) arasında değişiklik göstermektedir<sup>101</sup>.

#### **Sekonder (Kazanılmış) Direnç**

*H. pylori* suşları antimikrobiyal ajanlara duyarlı iken sonradan antibiyotikle temasa geçince dirençli hale geçebilir. Bu direnç kromozomal gendeki bir mutasyonla, kromozomal dışı DNA kazanımı ya da transformasyonla olabilir. Direnç daha çok kromozomal DNA'daki mutasyondan meydana gelir ancak teorik olarak plazmidler, transpozonlar veya integronlarla yabancı DNA kazanılması da olasıdır. *H. pylori* suşlarının yarısına yakınında plazmid bulunmaktadır. Ancak plazmidlerin antibiyotik direnci içerdiği kanıtlanamamıştır. *H. pylori*'de doğal transformasyon görülür ve birçok *invitro* deneyler direncin bu mekanizmalarla farklı suşlar boyunca transforme olduğunu göstermiştir. Herhangi bir antibiyotiğe dirençli *H. pylori*'nin zamanla doğal olarak duyarlı hale gelebileceği, duyarlı olanın ise direnç kazanabileceği öngörülmektedir<sup>101</sup>.

### ***H. pylori* eradikasyonunda kullanılan antibiyotikler**

#### **Amoksisilin**

Amoksisilin penisilin grubuna ait bakterisidal etkili bir antibiyotiktir. Penisilin bağlayan proteinlere (PBPs) bağlanarak bakterinin hücre duvar sentezini engeller ve bakteri lizisine neden olur. Diğer penisilinlerle karşılaştırıldığında gastrik sıvıya daha iyi salınması ve asit ortamda stabil olmaları avantajlarıdır<sup>17</sup>. *H. pylori*'de amoksisiline dirençli bulunan suşların çoğu aslında amoksisiline tolerandır. Yani direnç stabil değil geçicidir. Amoksisiline toleran bu suşlarda PBP4'ün olmadığı gösterilmiştir. Amoksisilin direnci stabil olan suşlarda ise PBP1A genindeki mutasyon sonucu direnç

gelişmektedir. Amoksisiline karşı yüksek düzey direnç oluşmasında PBP'lerdeki değişikliklerin yanı sıra aktif efflux ve membran permeabilitesindeki azalmanın potansiyel rol alabileceği düşünülmüştür. Yapılan deneylerde amoksisilin direncinde dış membran protein yapısındaki değişikliklere difüzyonel bir bariyer olduğu gösterilmiştir<sup>17,102</sup>.

Amoksisilin antisekretuar ilaçlarla birlikte kullanıldığında daha iyi sonuçlar alınmaktadır. *H. pylori* suşlarında yaygın olmamakla birlikte giderek artan sayıda dirençli suş bildirimleri başlamıştır. Duyarlı suşlarda amoksisilin MIK değeri 0.03 ila 0.06 µg/ml iken dirençli suşlarda MIK değeri 133 kat artarak 4-8 µg/ml'ye çıkmaktadır. Son derece stabil olan bu direnç, diğer bütün beta-laktam antibiyotiklere karşı da çapraz-direnci yaratmaktadır<sup>11,103</sup>.

### **Klaritromisin**

Klaritromisin makrolid grubu bakteriyostatik etkili bir antibiyotiktir. Birçok makrolid grubu antibiyotik olmasına rağmen *H. pylori* eradikasyonunda düşük MIK değeri ve uygun farmakokinetik özellikleri nedeniyle en çok klaritromisin kullanılır. Ayrıca, diğer antibiyotiklerle yapılan monoterapide eradikasyonda başarı oranı %10-15 iken klaritromisinde %40-45, ikili tedavide %20-60, üçlü tedavide %90'a kadar çıktığı için klaritromisin *H. pylori* eradikasyonunda kullanılan en etkili antibiyotiktir<sup>101</sup>. Suşların MIK değeri ≥1µg/ml olduğu zaman klaritromisine direnç gösterdiği görülmüş ancak MIK değerinin laboratuvaradan laboratuvara çeşitlilik gösterebileceği de belirtilmiştir. Klaritromisine direnç sıklığı ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir. Avrupa ülkelerinde direnç oranları İspanya'da %3,5, Almanya'da %3,3, Fransa'da %10 iken gelişmekte olan ülkelerde klaritromisin direnci giderek artan oranlarda %25–50 tesbit edilmektedir<sup>17,101,104</sup>.

Makrolidler bakteri hücrelerinde ribozomlara bağlanarak protein sentezini durdururlar<sup>17</sup>. *H. pylori* suşlarında klaritromisin, ribozomda 50 S rRNA'nın 23 S alt ünitesinde yer alan peptidiltransferaz gen bölgesine bağlanarak proteinlerin transkripsiyonunu engeller. Klaritromisine karşı direnç 23S rRNA'nın "V" kolunda peptidil transferazı kodlayan bölgedeki spontan tek nokta mutasyonuna bağlıdır. 23S rRNA'nın peptidil transferaz bölgesinde 2 pozisyonda (2143, 2144) 3 büyük nokta mutasyonu tanımlanmıştır. 23S rRNA geninin 2143 (A2143G) veya 2144 (A2144G) pozisyonlarında adeninin guanin ile yer değiştirdiği veya 2143 (A2143C) pozisyonunda adeninin sitozinle yer değiştirdiği nokta mutasyonları oluşur. 23S rRNA'da A2143G, A2144G ve A2143C 23S rRNA genindeki spesifik nokta

mutasyonları olup, gelişen moleküler testler, doğrudan biyopsilerden klaritromisin direncinin belirlenebilmesinde kullanılmaktadır. Bu 2 noktadaki 3 mutasyona bağlı olarak gelişen klaritromisin direnci, PCR-RFLP yöntemi ile hedef dizinin çoğaltılmasının ardından, elde edilen PZR ürünü *BsaI* veya *MbolI* enzimleri ile kesilerek belirlenebilmektedir. Ayrıca bunların dışında çok nadir olmakla beraber A2143C, A2115G, G2141A, A2142T, T2182C, T2717C mutasyonlarına da rastlanmıştır<sup>17,104,105,106</sup>.

### **Tetrasiklin**

Tetrasiklin bakterilerde 30S ribozomal alt üniteye bağlanan bakteriyostatik etkili bir antibiyotiktir. Ribozoma aminoasıl tRNA'nın bağlanmasını engelleyerek protein sentezini inhibe eder<sup>17</sup>. Tetrasiklin, *H. pylori*'ye karşı *invitro* şartlarda son derece etkili bulunmuştur. *In vivo* şartlarda mide asidinden etkilenmemesi bu antibiyotiği iyi bir seçenek haline getirmektedir. Tetrasiklin grubu ilaçların dar bir kullanım endikasyonuna sahip olmaları, bu ilaca karşı primer direnç olasılığını en aza indirmektedir. Bu nedenle de *H. pylori* suşlarında tetrasikline direnç çok nadir olarak bildirilmiştir. İlaç bağlanmasındaki yetersizlik, ilaç efflux'unda artış, ribozomal koruyucu proteinlerin değişimi veya 16S rRNA tetrasiklin bağlanma bölgesinde mutasyonlar dirençten sorumlu tutulmaktadır<sup>17,107</sup>. En olası mekanizma üç yakın 16S rRNA kalıntısında AGA 926-928 TTC üçlü baz çifti değişikliğine dayanmaktadır. Bu mutasyon tetrasiklinin primer bağlanma bölgesinde lokalizedir. Yanı sıra A926G, A926T, A928C, AG 926-927 GT ve A926G/A928C gibi birçok tekli ve çiftli baz değişiklikleri de tetrasiklin direncine neden olmaktadır. Yüksek düzey tetrasiklin direnci yalnızca üçlü baz değişimi ile, tekli ve çiftli baz değişiklikleri ise düşük düzey tetrasiklin direnci ile ilişkilidir. Tetrasiklin, bizmut tuzları ve metronidazol ile birlikte uygulandığında oldukça etkilidir. Ancak, kemik gelişimine etkisi ve dişleri boyadığından çocuklarda kontrendikedir<sup>17,107,108</sup>.

### **Metronidazol**

Bir 5-nitroimidazol türevi olan metronidazol bakteri hücresi sitozolünde, bakteri redüktaz enzimleri ile aktive edilerek bakterisidal etki gösteren bir önilaçtır. Gastrik sıvı içerisine aktif olarak salınarak, düşük pH'da etkili olabilmektedir<sup>17</sup>. Bakterilerdeki nitroredüktaz (*rdxA*) ve flavin oksidoredüktaz (*frxA*) genleri tarafından kodlanan oksijen bağımsız nitroredüktaz enzimleri ile sitozol içerisinde redükte edilerek aktif ürün haline getirilir. Metronidazol aktivasyonu anaerop ortamda gerçekleşir. Redüksiyon sonucu elektron yüklenerek aktif ilaç haline gelen metronidazol bir



radikaldır ve kolaylıkla RNA ve DNA içerisindeki kararsız rezidüleri elektron vererek kromozom zincirinde kopma ve kırılmalara neden olur. Bunun sonucunda oluşan kromozom anomalileri de bakteri hücrelerinin ölümüne yol açar. Nitroimidazol radikalleri hücre içerisinde nükleik asitlerin dışında fosfolipitler ve proteinler gibi hayati öneme sahip yapısal elemanlarında etkileyerek yapı ve fonksiyon bozukluklarına neden olurlar. *H. pylori* metronidazole duyarlıdır. Tedavide tek başına kullanıldığında etkili olmazken ikinci bir antibiyotik ve/ veya bizmut tuzları ile birlikte kullanıldığında etkinlikleri artar. *H. pylori* suşlarında metronidazol direncinin mekanizması ve *invitro* şartlarda gösterilen direncin önemi kesin olarak anlaşılamamıştır. Ancak mikroorganizmanın *rdxA* ve *frxA* genlerindeki biriken nokta mutasyonları sonucunda ortaya çıkan genetik şifflere bağlı olabileceği düşünülmektedir<sup>17,109</sup>. İnsanlarda mide mukozasının redoks potansiyeli önceden kestirilemeyeceği ve redoks potansiyelinin insandan insana ve bölgeden bölgeye değişiklik göstereceği düşünülürse, *invitro* bulgular ile *invivo* sonuçların her zaman örtüşmemesinin, yani klinik yanıtla yansımaya direnç veya duyarlılık sonuçlarının nedeni anlaşılmış olur. Metronidazol ve tinidazol kullanımı metalik tat, ishal oluşumu ve bulantı nedeni ile zordur. Hastada ilaç uyumsuzluğu nedeni ile uygunsuz kullanım tedaviye yanıtın gecikmesine ve direnç gelişimine yol açar. Metronidazole direnç oranı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde farklılık gösterir. Bu farklılığın nedeni gelişmekte olan ülkelerde dental, genital, parazitik infeksiyonların sık görülmesi ve tedavi için pahalı bir ilaç olmayan metronidazolün kullanılmasıdır. Bunun sonucu olarak gelişmiş ülkelerde %10-50 arasında olan direnç, gelişmekte olan ülkelerde %80-90'a kadar çıkmaktadır. Ancak, direnç testleri ile elde edilen sonuçların klinik yanıtla örtüşmediği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir<sup>17,109</sup>.

### **Florokinolonlar**

Florokinolonlar, *gyrA* ve *gyrB* genleri tarafından kodlanan iki alt üniteden oluşan DNA 'gyrase' enzimini inhibe ederek bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerdir. *H. pylori*'de florokinolon direnci *gyrA* geninde 87, 88, 91 ve 97 aminoasitlerinin kodlandığı bölgelerde gelişen nokta mutasyonlarla oluşmaktadır<sup>95</sup>.

### **Rifampisin**

Rifabutın ve diğer rifampin türevleri DNA bağımlı RNA polimerazın beta alt ünitesine bağlanarak transkripsiyonun inhibisyonuna neden olan bakterisidal etkili antibiyotiklerdir. Bu kompleksin beta alt ünitesi *rpoB* geni tarafından kodlanır. *H. pylori*'de bu antibiyotiklere karşı direnç *rpoB* genindeki nokta mutasyonları ile

ilişkilidir<sup>17</sup>.

### **Antibiyotik direncinin prevalansı**

*H. pylori*'de artan antibiyotik direnci tedavi başarısızlığının asıl nedenidir ve antibiyotik direncinin saptanması önemlidir. *H. pylori*'de antibiyotik direnci oldukça yaygındır ve giderek artış göstermektedir. Metronidazol direnci (MIK  $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ ) *H. pylori*'de en yaygın antimikrobiyal dirençtir. Gelişmekte olan ülkelerde *H. pylori*'de metronidazol direnç oranı yüksek olmasına karşın, gelişmiş ülkelerde *H. pylori* suşlarının yaklaşık %35'i metronidazol dirençlidir. Metronidazol direnci ile karşılaştırıldığında, *H. pylori*'de klaritromisin direncinin prevalansı (MIK  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ ) çok düşüktür. Gelişmiş ülkelerde, *H. pylori* suşlarının yaklaşık %10'u klaritromisin dirençli iken gelişmekte olan ülkelerde bu oran %25-50 arasında değişmektedir<sup>17,104</sup>. *H. pylori*'de amoksisilin direnci (MIK  $\geq 0.5 \mu\text{g/ml}$ ) ve tetrasiklin direncinin (MIK  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ ) 20. yüzyılın sonlarına kadar olmadığı ya da çok ender olduğu bildirilmiştir. Bu antibiyotiklere karşı direnç diğer bakterilerde ise yaygındır. *H. pylori*'de amoksisilin ve tetrasiklin direncinin insidansının özellikle bu antibiyotiklerin reçetesiz elde edilebildiği belli coğrafik bölgelerde arttığı görülmektedir. Çin'de *H. pylori* amoksisilin ve tetrasiklin direnç oranı %72 ve %59 bildirilmiştir<sup>17</sup>.

### **Korunma ve aşı çalışmaları**

Günümüzde *H. pylori* infeksiyonundan tam anlamıyla korunma olasılığı yoktur. Özellikle gastrik kanserin yüksek olduğu toplumlarda, çocukluk çağında primer korunmanın en etkili yol olacağı düşünülmektedir. Bu amaçla fare, maymun, domuz gibi çeşitli hayvan modellerinde *H. pylori*'ye karşı aşı geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Üreaz enzimi, üreaz enziminin UreA ve UreB yapıtaşları, ısı şok proteinleri HspA ve HspB, VacA ve CagA proteinleri bu çalışmalarda antijen olarak denenmiştir. Aşı çalışmalarında en sık kullanılan antijen üreaz enzimidir. Bakteriyel antijenler düşük immunojen olduklarından dolayı tek başlarına kullanıldıklarında yeterli immun yanıt oluşturmazlar. Bu nedenle immun yanıt oluşumunu artıran adjuvanla birlikte kullanılmaları gerekir. Hayvan deneylerinde en sık denenen adjuvanlar kolera toksini ve *E. coli*'nin labil toksinidir. Yapılan çalışmalarda, bu adjuvanların başta diare olmak üzere çeşitli toksik etkilerinin olduğu saptanmıştır. Adjuvan kullanımının gerekmediği rekombinant üreaz ile çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla genetik yöntemlerle atenüe edilmiş ve *H. pylori*'nin üreaz enzimini eksprese etmesi sağlanmış *Salmonella* vektörleri gönüllü bireyler üzerinde denenmiştir. *Salmonella enterica* serovar typhi ile yapılan çalışmalarda üreaz antijenine karşı

herhangi bir immun yanıt oluşmadığı saptanmıştır. Fakat, *Salmonella enterica* serovar typhimurium ile yapılan çalışmalarda *H. pylori*'ye karşı az da olsa bir immun yanıt olduğu saptanmıştır<sup>110,111</sup>. Hayvanlarda yapılan çeşitli aşı deneylerinde, bazı aşılarda başarılı olduğu gösterilmiştir. Ancak; aşı deneylerindeki en önemli sorun, hayvan deneyleri ile insan deneyleri arasında uyumsuzluk olmasıdır. Mide immünolojisinin tam anlaşılabilmesi, insanlarda etkili bir aşının bulunmasını zorlaştırmaktadır. *H. pylori*'den korunma ve hastalığın kontrol yöntemleri tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bununla birlikte bulaşı azaltmak için sağlıklı yaşam koşullarının sağlanması, kişisel hijyen kurallarına uyulması, el yıkama alışkanlığı, temiz, sağlıklı besinlerle beslenme, içme sularının dezenfeksiyonu, aynı kaptan yemek yememe, gastroskopi sırasında kullanılan aletlerin sterilizasyonu gibi önlemler korunmada önemli olabilmektedir<sup>16,30,110, 112</sup>.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Hasta Grubu

Çalışmamıza Ocak 2009 – Haziran 2010 tarihleri arasında dispeptik şikayetler ile Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji polikliniğine başvuran ve üst gastrointestinal sistem endoskopisi uygulanmasına karar verilen 149 hasta dahil edilmiştir. Daha önce *H. pylori* tedavisi görmüş hastalar, son 1 hafta içinde proton pompa inhibitörleri, antiasit, bizmut içeren bileşikler ve/veya antibiyotik alan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Bu araştırma, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komitesi tarafından (15.05.2009 tarih ve 05/106 no'lu etik kurul kararı) onaylanmıştır.

### Kullanılan araç ve gereçler

- **Otoklav** (Nüve, Türkiye)
- **İnkübatör** (Memmert, Almanya)
- **Anaerobik kavanozlar 2.5 lt** (Oxoid, İngiltere)
- **Ev tipi buzdolabı** (2-8°C, Uğur, Türkiye)
- **Petri kutuları** (Fıratmed, Türkiye) (90 mm.)
- **Cam tüpler** (10 ml) (İsolab, Almanya)
- **Cam bagetler**
- **Lam**
- **Öze**
- **Eppendorf tüpler** (0,2, 0,5, 1,5, 2,0 ml'lik) (İsolab, Almanya)
- **Otomatik pipetler** 20, 200, 1000 µl (Eppendorf Reference, Almanya)
- **Steril pipet ucu** 2, 10, 200, 1000 µl'lik filtreli plastik pipet (Eppendorf Reference, Almanya)
- **Thermal Cyclor** (Eppendorf, Mastercycler Gradient 22331, Almanya)
- **Elektroforez tankı ve güç kaynağı** (Biometra, Almanya)
- **Jel görüntüleme ve analiz sistemi** (Salubris-technica, ABD)
- **Hassas terazi** (Scaltec, Almanya)
- **Vorteks (Mekanik karıştırıcı)** (Nüve, Türkiye)
- **Soğutmalı santrifüj** (Hettich, Almanya)
- **Steril laminar akımlı güvenlik kabini** (Heraeus Sınıf II, Almanya)
- **Benmari** (Memmert, Almanya)
- **Işık mikroskobu** (Olympus CX21, Japonya)

- **Mikrodalga fırın** (Beko, MD 1500, Türkiye)
- **Derin dondurucu** (-20°C, Uğur, 2005, Türkiye)
- **UV transillüminatörü** (Salubris-technica, ABD)
- **Fotoğraf makinesi; Olympus C-7070 Wide zoom digital camera** (Japonya)

#### **Ticari test/sarf malzemeleri**

- **HpSA testi** (Diagnostic Bioprobes Srl, Milano, İtalya Lot:0306)
- **Kontrol suşu; *H. pylori* NCTC 11637**
- **CampyGen kiti** (CN 25-Oxoid, İngiltere)
- **Kullanılan E test stripleri**
  - Amoksisilin E test (Oxoid, İngiltere)
  - Klaritromisin E test (Oxoid, İngiltere)
  - Tetrasiklin E test (Oxoid, İngiltere)
  - Metronidazol E test (Oxoid, İngiltere)
  - Levofloksasin E test (Oxoid, İngiltere)
- **%40'lık üre** (MERCK K 35769587, Almanya)
- **Primerler:**
  - CRF-4 (5'-AGT GGA GGT GAA AATTCC-3')
  - CRR-1 (5'-TAA GAG CCA AAG CCC TTAC -3')
- **Kesim enzimleri:**
  - MbolI* (300u, ER0821, Fermentas)
  - BsaI* (1000u, ER0291, Fermentas)
- **Giemsa boyası** (MERCK, HX939018, Almanya)
- **Gram boyama seti**

#### **Hazır besiyerleri ve katkı maddeleri**

- **Columbia Blood Agar Base** (Oxoid, İngiltere, Lot:786470)
- **Brucella Broth** (Himedia, Hindistan, Lot:0000019143)
- **Brain heart infusion. broth** (Beyin-kalp infüzyon sıvı besiyeri (Oxoid, İngiltere, Lot:730384)
- **Urea Agar Base** (Himedia, Hindistan, Lot:Y1214)
- **%1 vitox** (Oxoid, SR0090A, İngiltere)
- ***Helicobacter pylori* selective supplement** (Dent) (Oxoid, SR147 E, İngiltere); 10 mg/L vankomisin, 5 mg/L trimetoprim, 5mg/L sefsulodin ve

5mg/ml amfoterisin B içerir.

- **Oksidaz test ayıracı**, Para-aminodimetil-anilin monohydrochlorid (MERCK Lot: L 54982202)
- **Katalaz test ayıracı**, (%3'lük hidrojen peroksit çözeltisi, GBL Lot: 6824)

#### **Hazırlanan deney ortamları**

- **%7 At kanlı selektif Columbia agar**

Columbia Blood Agar Base'e at kanı, antibiyotik ve antifungal ilave edilerek hazırlanan besiyeri *H. pylori* izolasyonu amacı ile kullanılmıştır.

Pepton 23 gr

Nişasta 1 gr

Sodyum klorür 5 gr

Agar 10 gr

%7 defibrine taze at kanı

%1 vitox

*Helicobacter pylori* selective supplement

pH : 7.3 ± 0.2

22 gr toz besiyeri tartılıp 500 ml distile suda çözüldü. Besiyeri 121°C'de 15 dak steril edildikten sonra yaklaşık 50°C'ye kadar soğutulup üzerine %7 defibrine taze at kanı, %1 vitox ve 10 mg/L vankomisin, 5 mg/L trimetoprim, 5 mg/L sefsulodin ve 5 mg/ml amfoterisin B içeren *Helicobacter pylori* selective supplement ilave edildi. Besiyerleri daha sonra petri kutularına döküldü. Hazırlanan besiyerleri önce 37°C etüvde 24 saat bekletilerek sterilite kontrolleri yapıldı. Sonrasında plaklar, kurumalarını önlemek amacıyla plastik torbalara konularak buzdolabında +4°C'de saklandı.

- **Brucella sıvı besiyeri**

Örnek taşınması ve antibiyogramda kullanılacak suşların dilüsyonunda kullanılmak üzere Brucella broth kullanılarak sıvı besiyeri hazırlandı.

Peptic digest of animal tissue 10 gr

Casein enzyMIK hydrolysat 10 gr

Dekstroz 1 gr

Maya özeti 2 gr

Sodyum klorür	5 gr
Sodyum bisülfid	0.1 gr
pH: 7.0 ± 0.2	

28.1 gr toz besiyeri 1000 ml distile suda çözüldü. Otoklavda 121°C'de 15 dak steril edildi. Daha sonra hazırlanan besiyeri steril tüplere 2 ml olarak dağıtıldı.

- **Gliserol İlaveli beyin-kalp infüzyon sıvı besiyeri**

Kültürde üretilen suşların saklanması için gliserol ilaveli beyin-kalp infüzyon sıvı besiyeri hazırlandı.

Calf brain infusion solids	12.5 gr
Beef heart infusion solids	5 gr
Proteose pepton	10 gr
Glucose	2.8 gr
Sodium chloride	5 gr
Di-sodium phosphate	2.5 gr
pH: 7.0 ± 0.2	

37 gr toz besiyeri 1000 ml distile suda çözüldü. Otoklavda 121°C'de 15 dak.da steril edildi. Üzerine otoklavda steril edilmiş gliserinin alt fazından son konsantrasyonu %15 olacak şekilde ilave edildi. Daha sonra hazırlanan besiyeri steril tüplere 0.5 ml ve 2 ml olarak dağıtıldı.

- **Üre agar (Christensen Urea Agar)**

Doku örneklerinde ve besiyerinde üreyen kolonilerde *H. pylori*'nin üreaz aktivitesinin araştırılması için Urea Agar Base kullanıldı.

Peptic digest of animal tissue	1 gr
Dekstroz	1 gr
Sodyum klorür	5 gr
Disodyum fosfat	1.2 gr
Monopotasyum fosfat	0.8 gr
Fenol kırmızısı	0.012 gr
Agar	15 gr
pH:7.0 ± 0.2	

24 gr toz besiyeri 950 ml distile suda çözüldü. Otoklavda 121°C'de 15 dak

steril edildikten sonra yaklaşık 50°C'ye kadar soğutularak içerisine önceden hazırlanmış ve steril edilmiş %40'lık üreden 50 ml eklendi. Daha sonra filtreye süzülerek steril tüplere 10 ml olarak dökülerek besiyerleri hazır hale getirildi.

- **Müller Hinton Agar (MH2-D)**

Defibrine at kanı ilavesiyle birlikte hazırlanan besiyeri antibiyogram testleri için kullanıldı.

Beef (Infusion from Bacto Casamino Acids)	17.5 gr
Nişasta	1.5 gr
Bacto Agar	17 gr
Distile su	1000 ml
pH: 7.3 ± 0.2	

38 gr toz besiyeri 1000ml distile suda çözülerek 121°C'de 15 dak.da otoklavda steril edildi. Daha sonra yaklaşık 50°C'ye kadar soğutularak 70 ml defibrine at kanı ilave edilerek steril petri kutularına döküldü. Böylece hazırlanan besiyerleri kurumalarının önlenmesi açısından plastik torbalara konularak +4°C'de saklandı.

### **Yöntem**

#### **Örneklerin toplanması**

#### **Mide biyopsi örnekleri**

Endoskopi işlemi öncesinde hastaların bir gece öncesinden aç kalmaları sağlanarak lidokain ile lokal anestezi uygulandı. Her işlemden önce fiberoptik endoskop ve biyopsi forsepsleri %2 lik gluteraldehit solusyonunda 5-20 dak süreyle dezenfekte edildi. Gluteraldehit *H. pylori*'nin canlılığını yitirmesine neden olabileceğinden endoskop ve forseps iyice distile su ile yıkanarak gluteraldehitten arındırıldı. Her hastanın mide antrumunun farklı bölgelerinden ikişer adet biyopsi örneği alınarak, içerisinde Brucella sıvı besiyeri bulunan steril tüplere konuldu. Biyopsi örnekleri en geç bir saat içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Aradaki sürede mutlaka buzdolabında (+4°C) bekletildi.

#### **Dışkı örnekleri**

Endoskopi uygulanan her hastadan işlem sonrasında dışkı örneği alınarak uygun bir zamanda ELISA yöntemiyle çalışılmak üzere -20°C'de saklandı.



## Biyopsi örneklerinin mikrobiyolojik yönden incelenmesi

### Kültür

Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaşan biyopsi örnekleri hiç bekletilmeden taşıma besiyeri içerisinde steril cam bagetlerle parçalanarak *H. pylori* izolasyonu amacı ile %7 defibrine at kanı, %1 vitox suplementi ve *H. pylori* antibiyotik suplementi (10 mg/L vancomycin, 5 mg/L trimethoprim, 5 mg/L cefculodin ve 5 mg/L amphotericin B) içeren Columbia agar besiyerlerine steril öze yardımı ile ekildi. İnokülasyon yapılan besiyerleri 37°C'de %85 N<sub>2</sub>, %10 CO<sub>2</sub> ve %5 O<sub>2</sub> içeren mikroaerofil bir ortam sağlayan CampyGen kiti ile birlikte anaerop kavanoz içinde 9 gün süre ile inkübe edildi. Kültürler; 5, 7. ve 9. günlerde *H. pylori* üremesi yönünden kontrol edildi (Resim 1). İnkübasyon süresi sonunda besiyerlerinde yaklaşık olarak 0.5 mm çapında hemolizsiz, gri, şeffaf, su damlasına benzeyen kolonilere *H. pylori* yönünden değerlendirilmek üzere oksidaz, katalaz ve üreaz testleri yapıldı. Koloniden hazırlanan preparatlar Gram boyası ile boyanarak kıvrık, spiral şekilli Gram negatif bakterilerin varlığı araştırıldı. Oksidaz ve üreaz pozitif, Gram negatif, kıvrık, spiral bakteriler *H. pylori* olarak tanımlandı ve antibiyotik duyarlılık testi için kullanıldı. Arta kalan biyopsi parçaları ileride PCR-RFLP çalışılması amacıyla brucella sıvı besiyeri içerisinde – 80°C'de saklandı.

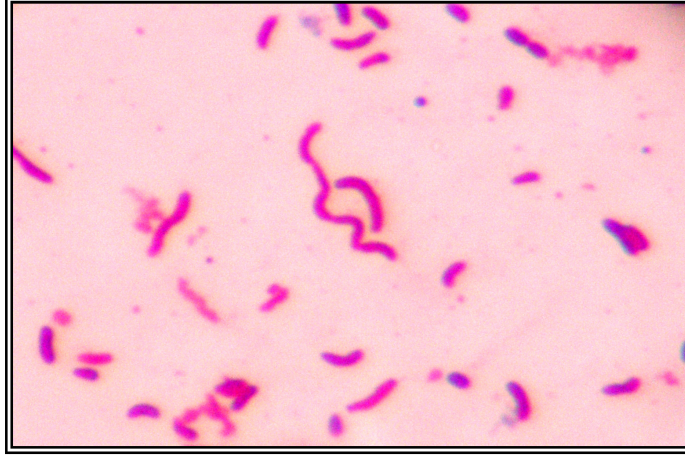


**Resim 1.** %7 At kanlı seçtirici Columbia agar' da üremiş *H. pylori* kolonileri

Kültürde üretilen bakteriler; Gram boyama, katalaz, oksidaz, üreaz aktivitelerine göre tanımlandı.

### **Gram boyama**

Üremesi olan petrilerden steril öze ile alınan koloniler bir lam üzerinde serum fizyolojik kullanılarak yayıldı. Hazırlanan preparat Gram boyama yöntemi ile boyanarak ışık mikroskopuyla incelendi. *H. pylori* Gram negatif, kıvrık, martı kanadı şeklinde görüldü (Resim 2).



**Resim 2.** Çalışmamızdan koloniden Gram ile boyanmış *H. pylori*

### **Katalaz testi**

Temiz bir lam üzerinde steril bir öze ile alınan bakteri kolonisi 1-2 damla katalaz ayırıcı (%3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi, GBL Lot: 6824) ile karşılaştırıldığında hava kabarcıklarının oluşması katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

### **Oksidaz testi (Tetramethyl 1,4-phenyldiammonium dichlorid)**

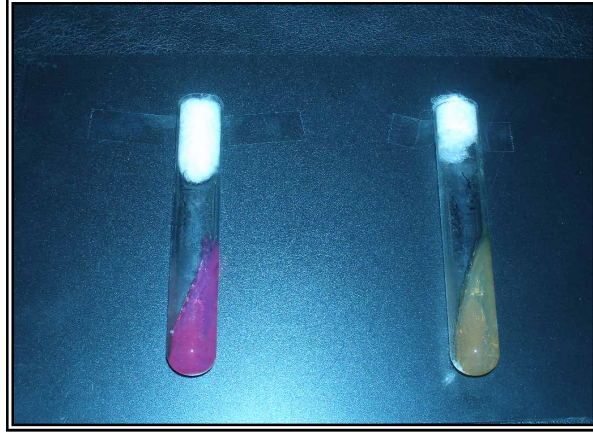
10 ml distile suda 0.1 gr. Para-aminodimetil-anilin monohydrochlorid (MERCK Lot: L 54982202) ilave edilerek oksidaz ayırıcı hazırlandı. Kurutma kağıdı üzerine bir damla ayıraçtan damlatılıp üzerinde şüpheli koloni ezildi. 10 sn içerisinde mor renk oluşması oksidaz pozitifliği olarak değerlendirildi.

### **Üreaz testi**

Kültürde üreyen bakteri kolonileri üre agara ekildi. 30 dak- 24 saat içinde sarı rengin pembeye dönüşmesi üreaz pozitifliği olarak kabul edildi. Bu testler sonucunda *H. pylori* olduğu kesinleşen bakteriler antibiyotik duyarlılık testi için kullanıldı.

### **Doku örneklerinde üreaz aktivitesinin araştırılması**

Biyopsi örneğinden bir kısım üre besiyerine ekildi. Üre besiyerinde 37°C'de 30 dak-24 saat içinde sarı rengin pembeye dönüşmesi üreaz pozitifliği olarak kabul edildi (Resim 3).

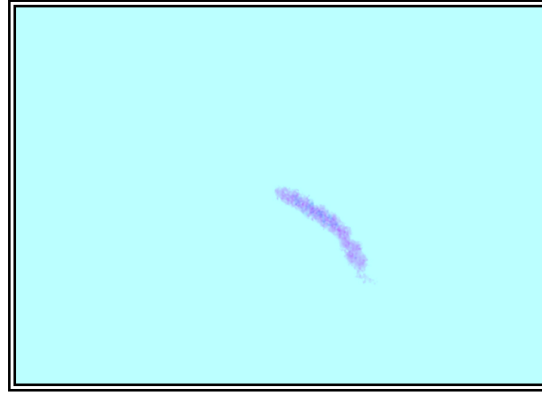


**Resim 3.** Doku örneklerinin üreaz aktivitesi

### **Doku örneklerinin mikroskopik incelenmesi**

#### **Giemsa boyama**

Biyopsi örneklerinden Giemsa boyama yöntemi ile *H. pylori* araştırmak 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 şeklindeki kıvrık bakteriler şeklinde görüldü (Resim 4).



**Resim 4.** Mide biyopsi örneğinde Giemsa ile boyanmış *H. pylori*.

#### **Antibiyotik duyarlılık testleri**

Kültürde izole edilen 43 *H. pylori* suşunun 11 tanesine bir antibiyotik duyarlılık testi olan E-test yapıldı. E-test; disk difüzyon yöntemi ile agar difüzyon yönteminin bir bileşkesidir. Uygulama yöntemi disk difüzyona benzemekle birlikte agar dilüsyondaki gibi kantitatif sonuçlar elde edilir. E-test, üzerine konduğu agara içerdiği antibiyotik

konsantrasyonunun hızlı, düzenli ve stabil olarak difüze olmasını sağlayan bir striptir. Striplerin üzerinde eksponansiyel antibiyotik konsantrasyonunu gösteren bir çizelge bulunur. İnkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonunun, E-test stripini kestiği noktada çizelge üzerinde yazan konsantrasyon değeri, MIK değerini gösterir.

Çalışmamızda amoksisilin, klaritromisin, tetrasiklin, metronidazol ve levofloksasin E-test stripleri 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 beş antibiyotik için ayrı birer plak kullanıldı. Steril penset yardımıyla alınan E-test stripleri plaklara yerleştirildi. Bütün işlemler bakteri süspansiyonu hazırlandıktan sonra 15 dak içinde tamamlandı. Plaklar mikroaerofilik ortamın (%5 O<sub>2</sub>, %10 CO<sub>2</sub>, %85 N<sub>2</sub>) CampyGen ile sağlandığı, jarlara konularak 37°C'de 3-5 gün inkübe edildi. Kontaminasyon içeren plaklar çalışmadan çıkartıldı. İnkübasyon sonunda elips şeklindeki inhibisyon zonunun E-test stribi ile kesiştiği noktaya karşılık gelen antibiyotik konsantrasyonu MIK değeri olarak kabul edildi. E-test yöntemi henüz standardize edilememiştir. Genellikle çalışmalarda dirençlilik sınırı metronidazol için  $\geq 8$  µg/ml, amoksisilin için  $\geq 0.5$  veya  $\geq 1$  µg/ml, levofloksasin için  $\geq 2$  µg/ml, tetrasiklin için  $\geq 4$  µg/ml ve CLSI tarafından önerilen klaritromisin için  $\geq 1$  µg/ml, olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada metronidazol için  $\geq 8$  µg/ml, klaritromisin için  $\geq 1$  µg/ml, amoksisilin için  $\geq 1$  µg/ml, levofloksasin için  $\geq 2$  µg/ml, tetrasiklin için  $\geq 4$  µg/ml değerleri dirençlilik sınırı olarak kabul edildi. Kontrol suşu olarak *H. pylori* NCTC 11637 kullanıldı. Resim 5'te *H. pylori* suşunun E-test yöntemi ile tetrasiklin duyarlılığı görülmektedir.



**Resim 5.** *H. pylori* suşunun E-test yöntemi ile tetrasiklin duyarlılığı

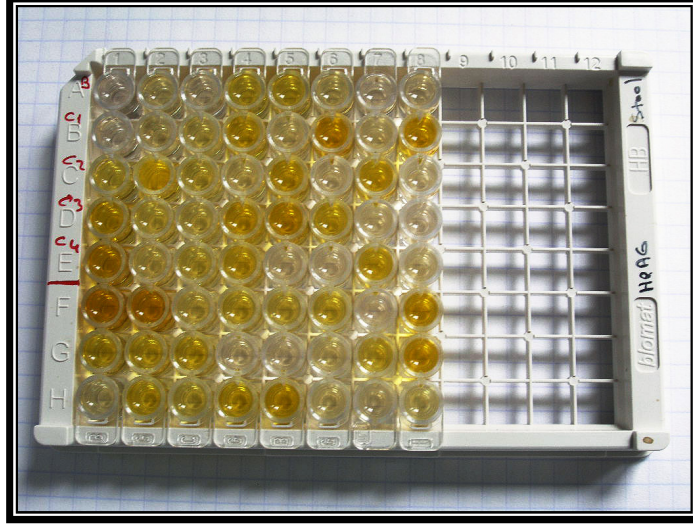
### **HpSA testi**

Hastalardan 35 tanesi laboratuvarımıza dışkı örneği vermediği için bu hastalarda antijen testi çalışılmadı. Çalışmamızda HpSA testi ELISA yöntemi ile (Diagnostic Bioprobes Srl, Milano, İtalya Lot:0306) yapıldı. Bu testte *H. pylori*'ye karşı hazırlanmış monoklonal antikolar kullanılır. Endoskopi yapılan hastalardan alınan dışkı örnekleri test yapılincaya dek -20°C'de saklandı.

### **HpSA testinin uygulanması;**

- 0.2 gr dışkı örneği, 1 ml özel solüsyonuyla dilüe edildi.
- 1 dak vortekslendi.
- Sonra üst sıvıdan 100 µl alınarak monoantikorla kaplı kuyucuklara konularak oda ısısında 1 saat inkübe edildi.
- Kalibratörler distile su ile sulandırılarak kuyucuklara eklendi.
- Bütün kuyucuklara 100 µl konjugat eklenerek 37°C de 2 saat inkübe edildi.
- Ardından kuyucuklara bağlanmayan maddeleri uzaklaştırmak için yıkama işlemi yapıldı.
- Daha sonra 200 µl substrat eklenerek oda ısısında 20 dak inkübe edildi.
- Bağlanmış *H. pylori* antijenleri varlığında renk değişikliği mevcut rengin koyulaşması şeklinde ortaya çıktı.ortaya (Resim 6).
- Üzerine sülfirik asit eklenerek reaksiyon durduruldu, spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okutuldu.
- Dört kalibratörle çalışıldığı için sonuçlar kantitatif olarak elde edildi. Test

protokolüne göre 0.05 mg/ml konsantrasyon üzeri pozitif olarak değerlendirildi.



**Resim 6.** HpSA testi, *H. pylori* antijenleri varlığında renk değişikliği gözlenmiştir.

## Moleküler analiz

### DNA ekstraksiyonu

Biyopsi örneklerinden DNA saflaştırılması; klasik fenol-kloroform yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

- Brucella sıvı besiyeri içerisindeki doku örneği, öncelikle 1.5 ml'lik bir eppendorf tüpüne alındı.
- Doku örneği üzerine 600 µl lysis tamponu (10 mM Tris/HCL pH: 8; 5 mM EDTA, %0.5 SDS) +2 µl Proteinaz-K (100 mg/ml) ilave edilip vortekslendi.
- Bu karışım 56°C'lik su banyosunda bir gece inkübe edildi.
- Bu karışım üzerine 800 µl Fenol+Kloroform ilave edilip, iyice alt üst edip +4°C' de 30 dak bekletildi.
- Zaman zaman bu tüpler alt üst edildi.
- Tüpler 15 dak süreyle 12000 devir/dak santrifüj edildi.
- Üstteki berrak kısım alınarak yeni bir tüpe aktarıldı.
- Üzerine süpernatantın 2 katı hacimde sadece kloroform ilave edildi. Alt üst edilerek +4°C'de 30 dak bekletildi.
- Tüpler 15 dak süreyle 12000 devir/dak santrifüj edildi.
- Üst sıvı kısmı alınıp yeni bir tüpe aktarıldı.

- Üzerine 1ml soğuk etanol ilave edildi.
- Yavaşça alt-üst edilip -20°C'de gece boyunca bekletildi.
- Tüpler 15 dak süreyle 12000 devir/dak santrifüj edildi
- Dikkatlice üst kısım uzaklaştırıldı.
- Tüpler temiz kağıt havlular üzerine ters olarak knularak 10 dak bekletildi.
- Pellet 20 µl steril distile su ile yavaşça pipetaj yapılarak çözdürüldü.
- Ekstrat -20°C'de saklandı.

### PZR amplifikasyon

PZR çalışmasında *H. pylori* 23S rRNA geninin 135 bp'lik bölgesi hedeflendi. Her bir örnek için gereken miktarlar Tablo 5'te verilmiştir. Daha sonra tüpler termal cyclera yerleştirilerek Tablo 6'daki gibi reaksiyona tabi tutuldu.

**Tablo 5.** PZR solusyonu

Distile su	33.75µl
10X PZR Buffer	5µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	4µl
dNTP'mix (10 mM)	1µl
Primer 1 (CRF-4)	0.5µl
Primer 2 (CRR-1)	0.5µl
Tag DNA Polimeraz (1.25 u)	0.3µl
+5 µl DNA örneği	

**Tablo 6.** PZR programı

ISI	SÜRE	AŞAMA	SİKLUS
95°C'de	5 dak	ilk denatürasyon	1 siklus
94°C'de	1 dak	denatürasyon	30 siklus
55°C'de	1 dak	primer bağlanması	30 siklus
72°C'de	1 dak	zincir uzaması	30 siklus
72°C'de	5dak	son uzatma	1 siklus

PZR ürünleri %1.5'lik agaroz jel elektroforezi ile analiz edildi. Elektroforez

işleminde 135 bp'lik ürünlerin elde edildiği örnekler *H. pylori* bakımından pozitif olarak değerlendirildi.

### **Agaroz jel elektroforezi**

#### **Elektroforetik analiz solüsyonları**

##### **10X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) stok solüsyonu**

- 108 g Tris-base (0,9 M)
- 55 g Borik asid (0,9 M)
- 8,3 g EDTA pH 8,0 (20mM)
- Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
- Manyetik karıştırıcıda çözülerek pH 8,0'e ayarlandı.
- Otoklavda sterilizasyon yapılarak oda ısısında saklandı

##### **1X TBE (Çalışma solüsyonu)**

- 100 ml 10X TBE üzerine, 900 ml distile su eklendi.
- Elektroforez tankına konularak kullanıldı.

##### **Etidyum Bromid solüsyonu (10mg/ml)**

- 0,1 g Etidyum bromid 10 ml distile su içinde çözüldü.

##### **Yükleme tamponu (6X)**

- 1X TBE
- %40 Sukroz
- %0,025 Brom fenol mavisi

##### **Bromtimol mavisi:**

- 0,4 gr bromtimol mavisi 100 ml distile su içerisinde çözüldü.

##### **Uygulama**

- 10X TBE 1X TBE şeklinde sulandırıldı.
- Bir balon içinde %1.5'lik olacak şekilde agaroz tartıldı.
- Üzerine 1X TBE tamponu ilave edilerek mikrodalga fırında eritildi.
- Bir süre soğutuldu.
- İçerisine etidyum bromid (3-4 µl) ilave edildi.
- Önceden hazırlanmış jel kalıbının üzerine yavaşça döküldü.
- Oda sıcaklığında 20-30 dak bekletilerek jelin katılaşması sağlandı.
- Taraklar çıkarılarak jel kalıbı elektroforez tankına yerleştirildi.
- Örneklerden 5'er µl alınarak parafilm üzerine 2 µl yükleme tamponu (%20 sükroz, %0.25 brom fenol mavisi (1X TBE ile hazırlanmış) ile karıştırılarak



kuyulara yüklendi.

- Tankın güç kaynağı çalıştırılarak 110 Volt akım verildi.
- Brom fenol mavisinin göçü takip edilerek jelin 2/3'lük kısmına ulaştığında elektroforez durduruldu.
- Jel tanktan çıkarıldı ve 312 nm dalga boyundaki UV transillüminatöründe (Salubris-technica) incelendi.

#### **Klaritromisin direncinin PCR-RFLP ile saptanması**

Biyopsi örneklerinden DNA ekstrakte ettikten sonra *H. pylori* suşlarında bulunan 23S rRNA bölgesindeki 2105.baz ile 2122.baz arasındaki 135 bp'lik bölgeyi hedef alan CRF-4 (5'-AGT GGA GGT GAA AATTCC-3') ve CRR-1 (5'-TAA GAG CCA AAG CCC TTAC-3') primerlerini kullanarak DNA'yı amplifiye edildi. Klaritromisin direnci için amplifiye edilen bölgedeki 2143. kodondaki A-G mutasyonunun saptanması için *MbolI* (A2143G) ve 2144. kodondaki A-G mutasyonunun saptanması için *BsaI* (A2144G) kesim enzimlerini kullanıldı.

#### **RFLP uygulaması**

PZR'ı pozitif olarak saptanan örneklere ait PZR ürünleri kalıp olarak kullanılmıştır. Bu ürünlerin 8 µl'si alınarak aşağıdaki reaksiyon karışımı hazırlandı (Tablo 7, Tablo 8).

Daha sonra kesim reaksiyonu 37°C'de bir gece inkübe edildikten sonra kesim ürünleri %1.5'lük agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu.

**Tablo 7.** *BsaI* enzimi ile kesim reaksiyonu karışımı

<b>Reaktif</b>	<b>Miktar (µl)</b>
Distile su	1
Tango Buffer(10x)	1
<i>BsaI</i> (5U/µl)	0.3
Pozitif PZR ürünü	8

**Tablo 8.** *MbolI* enzimi ile kesim reaksiyonu karışımı

<b>Reaktif</b>	<b>Miktar (<math>\mu</math>l)</b>
Distile su	1
Buffer G (10x)	1
<i>MbolI</i> (5U/ $\mu$ l)	0.3
Pozitif PZR ürünü	8

**Altın standart kriteri**

Çalışmamızda olguların *H. pylori* açısından pozitif veya negatif olduğuna şu şekilde karar verildi. Tek başına kültür yönteminin pozitif olması veya kültürün negatif olduğu durumlarda kullanılan diğer üç testten (üreaz test, PZR ve HpSA) en az ikisinin pozitif olması altın standart kriteri olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Polikliniği'ne Ocak 2009-Temmuz 2010 tarihleri arasında dispepsi şikayeti ile başvuran ve endoskopi uygulanan 73'ü erkek 76'sı kadın olmak üzere toplam 149 hasta dahil edilmiştir (Tablo 9). Hastaların yaşları 17 ile 83 arasında değişmekte olup yaş ortalaması  $47,8 \pm 14,9$  olarak saptanmıştır (Tablo10).

**Tablo 9.** Çalışmaya dahil olan hastaların cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	n	%
Kadın	76	51.0
Erkek	73	49.0
Toplam	149	100

**Tablo 10.** Çalışmaya dahil olan hastaların yaşlarına yönelik temel istatistikler ve analiz sonuçları

Yaş	n (sayı)	ortalama	ortanca	standart sapma	Min.	Maks.
	149	47,8	48	14,9	17	83

Kolmogorov – Smirnov Z= 0,711 ( Normal dağılıma uygun)

Çalışmaya dahil olan hastaların endoskopik tanıları; duodenal ülser, hiperemik gastropati, antral eroziv gastrit, atrofik gastrit, gastrik ülser, alt özafagus sfinkter gevşekliği (AÖSG), pilor stenozu, normal endoskopi ve portal hipertansif gastropati idi (Tablo 11 ).

**Tablo11.** Hastaların endoskopik tanılarına göre dağılımı

Endoskopik tanı	n	%
Duodenal Ülser	31	20.8
Hiperemik Gastropati	37	24.8
Atrofik Gastrit	12	8.1
AÖSG	21	14.1
Antral Eroziv Gastrit	24	16.1
Pilor Stenoza	2	1.3
Normal Endoskopi	6	4.0
Gastrik Ülser	15	10.1
Portal Hipertansif Gastropati	1	0.7
<b>Toplam</b>	<b>149</b>	<b>100</b>

Çalışmaya katılan 149 hastanın 4'ünde örnek uygun koşullarda gelmediği için kültür ve üreaz testi uygulanamamıştır. 145 hastanın 43 (%29,6)'ünün kültüründe üreme saptanırken 102 (70,3)'sinde üreme olmamıştır.

145 hastanın üreaz testi ile 80 (%55,2)'inde *H. pylori* pozitifliği saptanırken 65 (44,8)'inde negatif olarak bulunmuştur.

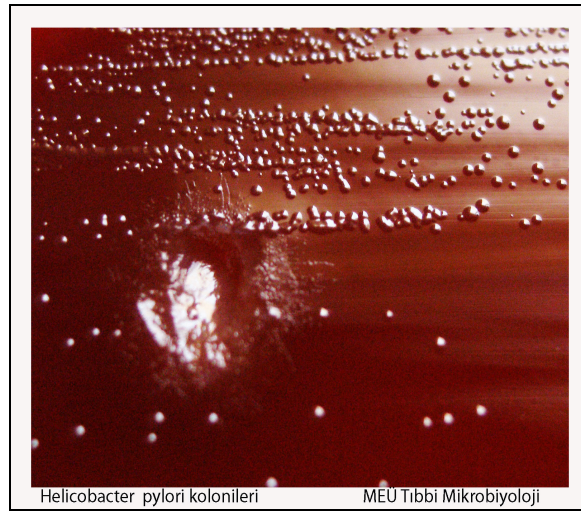
149 hastanın 6'sına örnek yeterli olmadığı için PZR yöntemi uygulanamamıştır. Toplamda 143 hastanın 102 (%71,3)'sinde PZR yöntemiyle *H. pylori* pozitif, 41 (28,7)'inde negatif olarak saptanmıştır.

149 hastanın 35'i dışkı örneği vermediği için çalışmaya alınamamıştır. Toplam 114 hastanın dışkısında ELISA yöntemiyle *H. pylori* antijeni varlığı araştırılmış, 65 (%57,0) hastada *H. pylori* antijeni pozitif, 49 (%43,0) hastada ise negatif olarak saptanmıştır (Tablo 12).

Toplam 149 hastadan 84 tanesi altın standart kriterine göre *H. pylori* pozitif olarak bulunmuştur.

**Tablo 12.** *H. pylori* varlığını gösteren testler

Yöntem	Örnek Sayısı	Pozitiflik Sayısı	%
Kültür	145	43	29,6
Üreaz test	145	80	55,2
HpSA	114	65	57,0
PZR	143	102	71,3

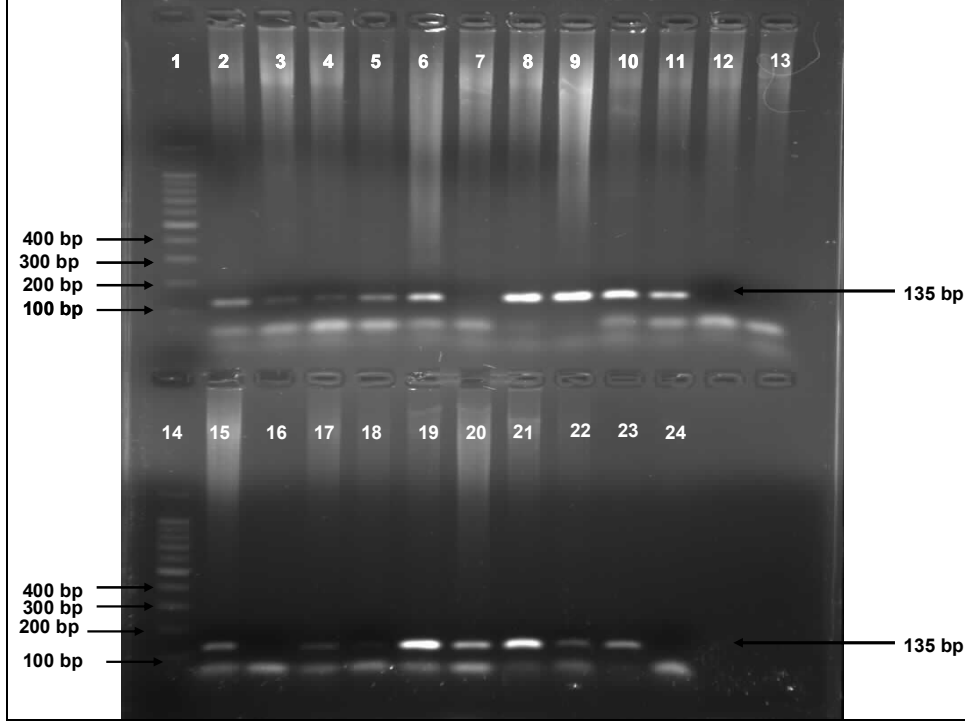


**Resim 7.** Çalışmamızdan, kültürde üremiş *H. pylori* kolonileri

Kültürde üremesi olmayan 102 hastanın 12'sinde PZR, HpSA ve üreaz testleri pozitif olarak bulunmuştur. Kültürde üremesi olmayan 102 hastanın 40'ında üreaz testi, 33'ünde HpSA testi ve 56'sında PZR pozitif bulunmuştur.

Kültürde üremesi olan 43 hastanın 27 tanesi PZR, üreaz, HpSA testi ile de

pozitif saptanmıştır. Kültürde *H. pylori* izole edilen tüm örneklerin PZR sonuçları da pozitif saptanmıştır. Üreaz negatif üç hasta kültür, PZR, HpSA yöntemleri ile pozitif bulunmuştur. PZR negatif üç hasta üreaz ve HpSA ile pozitif saptanmıştır. PZR negatif hiçbir hastada kültür pozitifliği saptanmamıştır.



**Resim 8.** PZR görüntüsü (1; DNA Ladder, 2; pozitif kontrol, 3-6; *H.pylori* pozitif, 7; *H.pylori* negatif, 8-11; *H.pylori* pozitif, 12; *H.pylori* negatif, 13; negatif kontrol)

**Tablo 13.** Kültür, PZR, HpSA, Üreaz yöntemlerinin *H. pylori* için altın standart kriteri ile karşılaştırılması (n).

Test	Sonuç	Altın Standart		Toplam
		Pozitif	Negatif	
Kültür	Pozitif	43	0	43
	Negatif	39	63	102
PZR	Pozitif	79	23	102
	Negatif	3	38	41
HpSA	Pozitif	57	8	65
	Negatif	14	35	49
Üreaz	Pozitif	71	9	78
	Negatif	11	54	65

Hastaların kültür, PZR, HpSA ve üreaz testi yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %52,44 ve %100,00, %96,34 ve %62,30 %80,28 ve %81,40, %86,59 ve %85,71 olarak saptanmıştır (Tablo 14)

**Tablo 14.** Kültür, PZR, HpSA ve Üreaz yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD değerleri.

	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)
Kültür	52.44 (41.11-63.59)	100.00 (94.3-100.00)	100.00 (91.78-100.00)	61.76 (51.61-71.21)
PCR	96.34 (89.68-99.24)	62.30 (48.96-74.39)	77.45 (68.11-85.14)	92.68 (80.08-98.46)
HpSA	80.28 (69.13-88.78)	81.40 (66.60-91.61)	87.69 (77.18-94.53)	71.43 (56.74-83.42)
Üreaz	86.59 (77.26-93.11)	85.71 (74.61-93.25)	88.75 (79.72-94.72)	83.08 (71.73-91.24)

a. PPD= Pozitif prediktif değer; b. NPD=Negatif prediktif değer

Kültürde izole edilen 43 *H. pylori* suşunun sadece 11'inde E-test yöntemi ile antibiyotik direnci araştırılabildiği görülmüştür. E-test yöntemi ile tespit edilen MİK değerleri Tablo 15'te gösterilmiştir.

**Tablo15.** *H.pylori* suşlarının E-test yöntemi ile tespit edilen MİK değerleri.

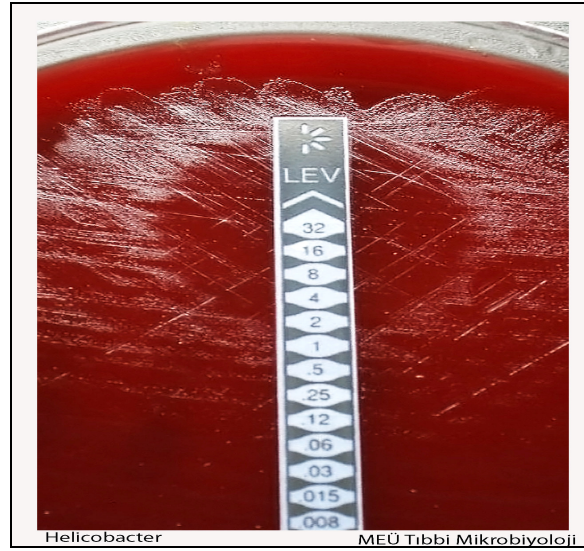
Sıra No	Klaritromisin (µg/ml)	Amoksisilin (µg/ml)	Metronidazol (µg/ml)	Tetrasiklin (µg/ml)	Levofloksasin (µg/ml)
1	0.047	0.015	>256	0.06	0.03
2	0.016	0.25	64	0.015	4
3	8	0.015	2	4	0.5
4	0.032	0.06	0.025	0.015	0.06
5	0.047	0.03	32	0.06	1
6	0.032	0.015	2	0.03	0.5
7	0.064	0.12	64	0.015	0.12
8	>250	0.015	>256	0.06	2
9	0.016	0.06	2	0.5	0.25
10	0.023	0.03	0.5	0.06	0.15
11	0.25	0.015	0.03	2	0.15



Suşlardan 2 (%18,2)'sinde klaritromisin direnci saptanmıştır. Suşlardan 1 (%9,1)'inde tetrasikline, 5 (45,5)'inde metronidazole ve 2 (%18,2)'sinde levofloksasine direnç saptanmıştır. Suşlardan hiçbirisinde amoksisilin direnci saptanmamıştır (Tablo 16).

**Tablo 16.** *H.pylori* suşlarının E-test sonuçlarına göre antibiyotik duyarlılık ve dirençlilikleri

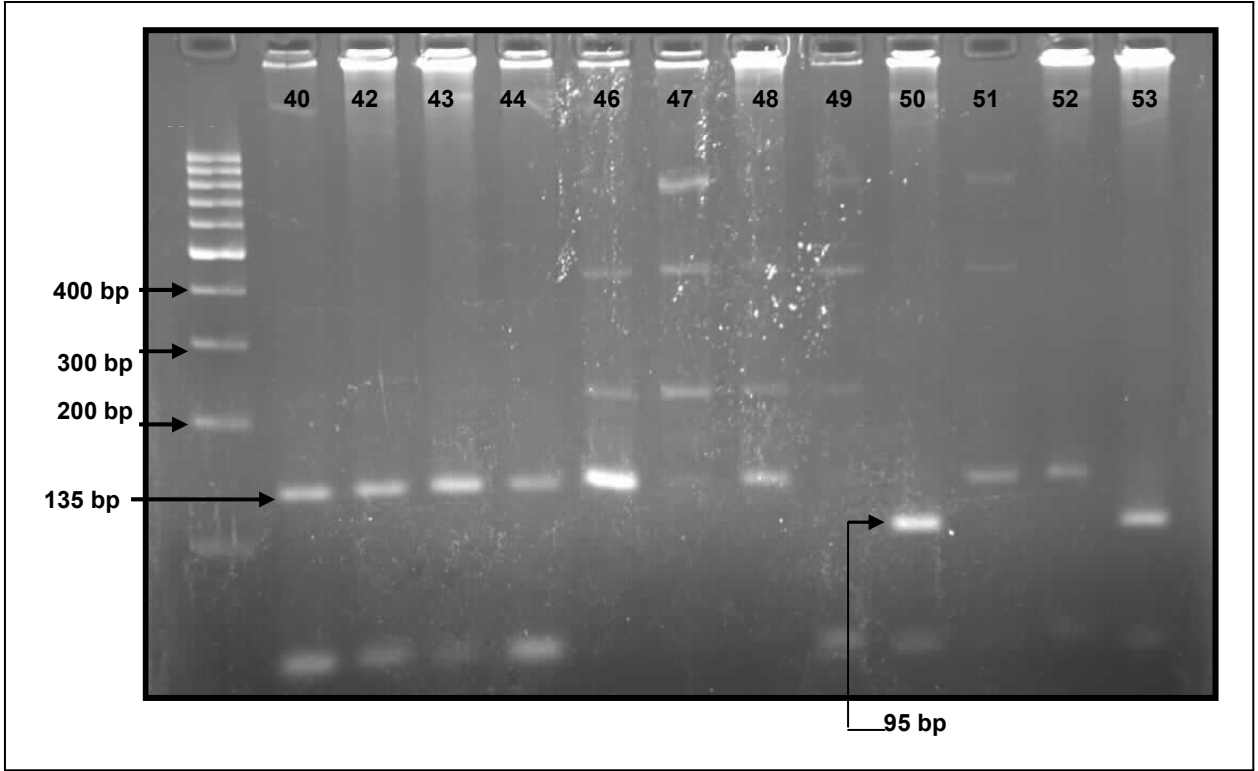
Antibiyotik	Dirençli		Duyarlı	
	n	%	n	%
Klaritromisin	2	18,2	9	81,8
Amoksisilin	0	0,0	11	100,0
Metronidazol	5	45,5	6	54,5
Tetrasiklin	1	9,1	10	90,9
Levofloksasin	2	18,2	9	81,8



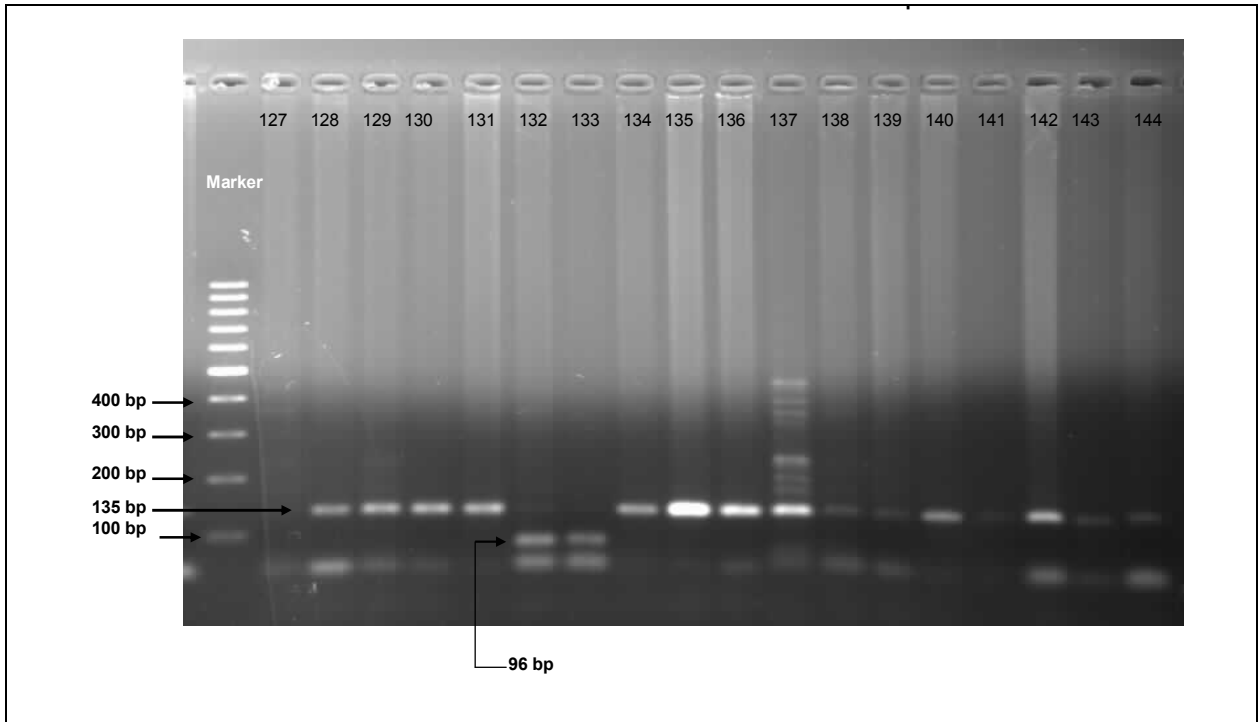
**Resim 9.** *H.pylori* suşunun E-test yöntemi ile levofloksasin duyarlılığı

PZR ile *H. pylori* pozitif bulunan 102 hastanın 94'ünde RFLP yöntemiyle klaritromisin direnci araştırılmıştır. 94 pozitif suşun 17 (%18,1)'sinde klaritromisine direnç saptanmıştır. Bu 17 suşun 11 (%64,7)'i A2144G, 6 (%35,3)'sında A2143G

olmak üzere nokta mutasyonu saptanmıştır.



**Resim 10.** *Bsal* enzimi ile kesim sonucu elde edilen bantlar



**Resim 11.** *MbolI* enzimi ile kesim sonucu elde edilen bantlar

## TARTIŞMA

Epidemiyolojik çalışmalar *H. pylori* infeksiyonunun; peptik ülser, gastrik kanser ve primer B hücreli lenfoma gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğunu göstermektedir<sup>3,71,72,113</sup>

Dünya nüfusunun %50'den fazlasının *H. pylori* ile infekte olduğu öngörülmektedir<sup>3</sup>. Gelişmekte olan ülkelerde infeksiyon etkeni yaşamın ilk on yılında alınmakta ve hayat boyu devam etmektedir. Bu ülkelerde nüfusun %80'i 50 yaşına kadar enfekte olmaktadır. Türkiye'de de durum aynıdır<sup>19</sup>. Gelişmiş ülkelerde *H. pylori* prevalansı %25-50 iken, gelişmekte olan ülkelerde %70-90'a kadar yükselmektedir. 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 Doğu Avrupa'da %70 olarak bildirilmiştir<sup>16</sup>.

Ülkemizde *H. pylori* prevalansı %63-89 arasında değişmektedir<sup>114,115</sup>. Sakarya'da 200 üniversite öğrencisi arasında HpSA testi ile yapılan bir çalışmada *H. pylori* sıklığı %63 olarak bulunmuştur<sup>114</sup>. Sarıbaşak ve ark. 73 hastanın mide biyopsi örneklerinde hızlı üreaz testi, kültür ve PZR yöntemleri ile yaptıkları çalışmada *H. pylori* prevalansını %89 olarak saptamışlardır<sup>115</sup>. Sandıkçı ve ark. endoskopi yapılan 500 hastada mikrobiyolojik ve histolojik yöntemlerle *H. pylori* prevalansını %86 olarak bulmuşlardır<sup>116</sup>. Ankara'da 7-14 yaş arası 403 çocuk ile yapılan bir çalışmada *H. pylori* seroprevalansı 1990 yılında %78,5, 2000 yılında ise %66,3 olarak bulunmuştur<sup>19</sup>. Afyon'da 2000 yılında değişik yaş gruplarını içeren 437 kişide yapılan bir başka çalışmada ise *H. pylori* sıklığı %79,7 olarak bulunmuştur<sup>20</sup>. 2004 yılında Akın ve ark. 24-65 yaş arası 1672 bireyde yaptıkları çalışmada prevalansı %77,5 olarak saptamıştır<sup>18</sup>. Çalışmamızda toplam 149 hastada kültür, üreaz test, PZR, HpSA yöntemiyle *H. pylori* sıklığı %56,37 olarak saptanmıştır.

*H. pylori*'nin tanımlanması için endoskopi gerektirmeyen non-invaziv testler ve özefagogastroduodenoskopi gerektiren birçok invaziv yöntem geliştirilmiştir. Non-invaziv testler; C<sup>13</sup> üre nefes testi, serolojik yöntemler, dışkı kültürü, dışkıda antijen aranması, dışkıdan PZR ile etkenin aranmasıdır. Invaziv yöntemler; kültür, histopatolojik inceleme, hızlı üreaz testi, moleküler yöntemler endoskopi gerektiren biyopsi temelli yöntemlerdir<sup>8,9</sup>.

*H. pylori*'nin tanısında altın standart yöntemin ne olduğu konusu tam olarak açık olmasa da kültür yöntemi birçok araştırmacı tarafından altın standart kabul edilmektedir<sup>2,25,117</sup>. Bununla birlikte tek bir yöntemin altın standart olarak kullanılması

hata oranını büyük ölçüde artıracığından güvenilir bir altın standart kriterinin iki veya daha fazla yöntemden oluşması gerektiği bildirilmektedir<sup>117,118</sup>.

Bu nedenle tanının doğruluğunun artırılması için, kültür ile birlikte biyopsi üreaz test ve/veya histoloji ve/veya dışkı antijen testleri ve/veya moleküler yöntemler gibi birden fazla yöntemin kullanılması gerekmektedir<sup>10,117,118,119</sup>.

Çalışmamızda, kültür yönteminin pozitif olması veya kültürün negatif olduğu durumlarda kullanılan diğer üç testten (üreaz test, PZR ve HpSA) en az ikisinin pozitif olması altın standart kriteri olarak kabul edilmiştir.

HpSA testi, dışkı örneğinde *H. pylori* spesifik antijenlerini ELISA yöntemiyle belirleyen bir testtir. Aktif infeksiyon varlığını gösteren, hızlı, non-invaziv, özel donanım gerektirmeyen ucuz bir yöntemdir. Monoklonal antikorların kullanıldığı testler, poliklonal antikorların kullanıldığı testlere göre daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. 2004 yılında Gisbert tarafından bildirilen yayında; 10858 çocuk hastayı değerlendiren 89 çalışma yer almış, monoklonal HpSA testinin duyarlılığı %96,91, özgüllüğü %97,93 olarak tespit edilmiştir<sup>93</sup>.

Bosso ve ark. çalışmalarında ÜNT ve histolojik inceleme sonucu *H. pylori* pozitif kabul edilen 60 hastanın 34'ünde HpSA testinin duyarlılığını %100, özgüllüğünü %97 olarak saptamışlardır<sup>120</sup>. Yeni Zelanda'da yapılan bir çalışmada hızlı üreaz testi ve histolojisi pozitif olan hastalar, ÜNT ve HpSA testi ile değerlendirilmiş, 112 hastadan 22'sinde üreaz testi ve histolojisi pozitif bulunmuş, üreaz test ve histoloji referans kabul edilerek HpSA testinin duyarlılığı %79, özgüllüğü %92 olarak saptanmıştır<sup>121</sup>. Vaira ve ark. 501 hastanın dışkıları ile yaptığı bir çalışmada HpSA yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünü sırasıyla %90 ve %95 olarak bulmuşlardır<sup>122</sup>. Antos ve ark. 159 çocuk hastada yaptıkları çalışmada monoklonal HpSA testinin duyarlılık ve özgüllüğünü %88,1 olarak saptamışlardır<sup>123</sup>.

Adiloğlu ve ark. 102 hastanın hızlı üreaz testi ve mikroskopik incelemesi pozitif olan 88'inde HpSA testinin duyarlılığı, özgüllüğü, pozitif ve negatif prediktif değerlerini sırasıyla %51,1, %100, %100 ve %14 olarak bildirilmişlerdir<sup>124</sup>. İstanbul'da 2004 yılında 102 hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada HpSA testinin duyarlılığı %92,2, özgüllüğü %91,2, PPD %95,2, NPD %86,1 olarak saptanmıştır<sup>125</sup>. Arıkan ve ark. toplam 100 hasta ile yaptıkları çalışmada HpSA testinin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'ni %91, %83, %96 ve %65, olarak bulmuşlardır<sup>126</sup>. 2004 yılında Erzin ve ark. monoklonal antikorlarla yaptıkları çalışmada HpSA testinin duyarlılığı %84, özgüllüğü %67 olarak bulunmuştur<sup>127</sup>. Manisa'da 2006 yılında monoklonal antikorların

kullanıldığı çalışmada HpSA testinin duyarlılığı %86, özgüllüğü %84,1 olarak bulunmuştur<sup>128</sup>. Monoklonal antikörlerin kullanıldığı çalışmamızda HpSA yöntemi ile toplam 114 dışkı örneğinde %57 pozitiflik saptanmış olup altın standart kriterine göre testin duyarlılığı %80,28, özgüllüğü %81,40, PPV %87,69, NPV %71,43 olarak saptanmıştır. Sonuçlarımız ülkemiz ve diğer ülkelerden bildirilen sonuçlarla uyumludur.

*H. pylori* varlığının araştırılması için kullanılan üreaz testi, kültür ve PZR zaman gerektiren, hasta için yüksek maliyete sebep olan ve endoskopik girişim gerektiren invaziv yöntemlerdir. *H. pylori* tanısında kültür tek başına altın standart yöntem olarak kabul edilmesine rağmen, bakterinin oksijene olan duyarlılığı, örneğin alındığı yer, taşınma koşulları, çalışanın tecrübesi gibi nedenlerden dolayı duyarlılığı oldukça düşüktür. İsveç'te 2006 yılında yapılan bir çalışmada 1000 biyopsi örneğinden 336 (%33,3)'sında kültürde *H. pylori* üremiş ve bunların 333 (%99,1) tanesinde antibiyotik duyarlılıkları elde edilmiştir<sup>129</sup>. Tankovic ve ark.'nın 2007 yılında yayınlanan çalışmalarında 518 biyopsi örneğinin %30'unda kültür pozitifliği tespit etmişlerdir<sup>130</sup>. Çalışmamızda 145 biyopsi örneğinin 43 (%29,7)'ünde kültür pozitifliği elde edilirken bunların ancak 11 (%25,6)'inde antibiyotik duyarlılığı araştırılabilmektedir. Üst gastrointestinal sistem kanaması olan 314 hastayı kapsayan bir metaanaliz çalışmasında kültür duyarlılığı %45, özgüllüğü %98 olarak bildirilmiştir<sup>131</sup>.

Ankara'da 2004 yılında 102 çocuk hasta üzerinde yapılan araştırmada histoloji altın standart olarak kabul edildiğinde kültür duyarlılığı %54,9, hızlı üreaz test duyarlılığı %89,2 olarak bildirilmiştir<sup>132</sup>. Tayland'da *H. pylori* tedavisi görmemiş 200 hasta ile yapılan araştırmada kültürün pozitif ya da negatif olduğu durumlarda histoloji ve hızlı üreaz testinin birlikte pozitif olması altın standart olarak kabul edilerek kültür, ticari hızlı üreaz testi ve ticari olmayan hızlı üreaz testinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %55,9 ve %100, %98,9 ve %91,9, %100 ve %88,9 olarak belirlenmiştir<sup>133</sup>. Kore'de toplam 601 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada kültür ve hızlı üreaz testi için duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla %56,2 ve %100, %80,4 ve %96,7 olarak bulunmuştur<sup>134</sup>. Çalışmamızdaki verileri altın standart kriterlerine göre değerlendirdiğimizde kültür ve üreaz testinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %52,44 ve %100, %86,59 ve %85,71 olarak saptanmış olup bu çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Kaklıkkaya ve ark.'nın 200 antral mide biyopsi örneklerinde yaptıkları bir çalışmada kültür ve hızlı üreaz testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %87,1 ve

%99, %77,2 ve %92 olarak saptanmıştır<sup>135</sup>. Çalışmamızda kültür yönteminin duyarlılığı bu çalışmaya göre oldukça düşük bulunmuştur.

Weiss ve ark. 95 hastanın mide biyopsi örneklerinde yaptıkları bir araştırmada, histoloji yöntemini altın standart olarak kabul ederek kültür, hızlı üreaz testi ve PZR yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllüklerini sırasıyla %70 ve %97,8, %88 ve %95,6, %94 ve %100 olduğunu bildirmişlerdir<sup>136</sup>. Doorn ve ark. tarafından yapılan toplam 500 hastanın katıldığı ve kullanılan invaziv yöntemlerden en az ikisinin pozitif olmasının altın standart olarak kabul edildiği bir çalışmada kültür yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %89,5 ve %99,1, hızlı üreaz testinin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %89 ve %98,1 ve PZR yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü ise sırasıyla %99,4 ve %99,6 olarak bildirilmiştir<sup>118</sup>. Fransa'da yapılan, 58 hastanın katıldığı bir çalışmada kültür, hızlı üreaz testi ve PZR yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %86 ve %100, %79 ve %92, %96 ve %100 bulunmuştur<sup>137</sup>. Sonuçlarımıza göre üreaz testi ve PZR yöntemi duyarlılıkları bu çalışmalarla uyumlu iken, kültür yönteminin duyarlılığı oldukça düşük bulunmuştur.

Belçika'da 104 hastanın dahil edildiği bir araştırma sonucunda kültür pozitifliğini veya kültürün negatif olduğu durumlarda hızlı üreaz testi ve histolojik incelemenin birlikte pozitifliğini altın standart kabul ederek hızlı üreaz testinin duyarlılık ve özgüllüğünü %90 ve %97, PZR yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünü ise %100 ve %97 olarak bildirmişlerdir<sup>138</sup>. Çalışmamızda ise altın standart kriterine göre üreaz test ve PZR'nin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %86,59 ve %85,71, %96,34 ve %62,30 olarak saptanmış, üreaz testin duyarlılık ve özgüllüğü bu çalışmayla uyumlu bulunmuştur. PZR'nin duyarlılığı bu çalışmayla uyumlu iken özgüllüğü düşük bulunmuştur.

Kültür yönteminin altın standart olarak kabul edildiği bir çalışmada 36 hastada PZR yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %92 ve %72,7 olarak bildirilmiştir<sup>139</sup>. Çalışmamızda PZR yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü bu çalışmayla uyumlu bulunmuştur. Weiss ve ark PZR, histoloji ve hızlı üreaz testini karşılaştırdıkları çalışmalarında PZR'nin diğer konvansiyonel yöntemlere göre *H. pylori*'nin saptanmasında daha yararlı olduğunu bildirmişlerdir<sup>140</sup>.

*H.pylori* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının tespiti agar dilüsyon, disk diffüzyon ve E-test gibi klasik yöntemler ile direnç gelişimine yol açan mutasyonların tespit edildiği PCR-RFLP gibi moleküler yöntemlerle yapılabilmektedir. Uluslararası konsensus raporlarında da yer alan kombine rejimlerle 1990'lı yılların sonlarına kadar

%98'lere kadar çıkan eradikasyon başarısı, gelişmekte olan ülkelerde 2000'li yıllarda %40-50'lere kadar gerilemiştir<sup>97</sup>. Tedavi başarısızlıkları; hastanın yaşı, sigara kullanımı, tedavi öncesi midedeki bakteri yükü, bakterinin genotipi, hastanın ilaç uyumu gibi nedenlere bağlanmaktadır. Ancak, tedavi başarısızlıklarının büyük bir kısmı ilk seçenek antibiyotiklere karşı direnç nedeni ile ortaya çıkmaktadır.

CLSI *H.pylori* direnç tespiti için, agar dilüsyon yöntemini standardize etmiş ve kullanımını önermiştir. E-test; disk difüzyon yöntemi ile agar difüzyon yönteminin bir bileşkesidir. Uygulama yöntemi disk difüzyona benzemekle birlikte agar dilüsyondaki gibi kantitatif sonuçlar elde edilir. E-test yöntemi çalışmalarda hem kullanım kolaylığı açısından hem de agar dilüsyonla benzer sonuçlar elde edildiğinden direnç tespitinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Metronidazol direnci *H. pylori*'de en yaygın antimikrobiyal dirençtir. Direnç oranları farklı bölgelerde ve ülkelerde oldukça değişik oranlardadır. Gelişmiş ülkelerde *H. pylori* suşlarının yaklaşık %35'i metronidazol dirençli iken gelişmekte olan ülkelerde bu oran çok daha yüksektir (%50-80). Bu farklılığın nedeni gelişmekte olan ülkelerde dental, genital, paraziter enfeksiyonların sık görülmesi ve bu hastalıkların tedavisi için metronidazolün seçilmesidir.<sup>17,87,101,104</sup>

1996 yılında 156 hasta ile yapılan bir çalışmada metronidazol direnci E-test yöntemi ile % 24 olarak tespit edilmiştir<sup>141</sup>. 1999'da 6 ülkeden 47 merkezde yapılan bir çalışma da metronidazol direnci Fransa'da %15,9, Almanya'da %18,8, Norveç'te %41,9, İsveç'te %26,1, İngiltere ve İrlanda' da ise %26,6 bulunmuştur<sup>142</sup>. Doğu Avrupa ülkelerinde 1996-2000 yılları arasında agar dilüsyon, E-test ve disk difüzyon yöntemleri ile yapılan çalışmada, metronidazol direnci %37,9, olarak saptanmıştır<sup>143</sup>. 2003'de Hindistan'ın farklı bölgelerinde *H. pylori*'nin metronidazol, direnci E-test yöntemiyle araştırılmış ve ülke ortalamasında %77,9 olarak bulunmuştur<sup>144</sup>. 2005 yılında E-test ve disk difüzyon yöntemiyle yapılan bir başka çalışmada ise metronidazol için %59 oranında direnç saptanmıştır<sup>145</sup>. İsveç'te 2006'da yapılan bir çalışmada suşların %16,2'si metronidazole dirençli saptanmıştır<sup>129</sup>.

Bölgemizde ve ülkemizde metronidazolün yaygın kullanılması, direnç oranının yüksek olmasına neden olmaktadır. 2000 yılında Kantarçeken ve ark. disk difüzyon yöntemiyle yaptıkları çalışmada metronidazol direncini %49 olarak bulmuşlardır<sup>146</sup>. Diyarbakır'da disk difüzyon yöntemiyle yapılan bir çalışmada metronidazole %62,5 oranında direnç saptanmıştır<sup>147</sup>. 2004'de Özçay ve ark. E-test ile metronidazole %36,4 direnç saptamışlardır<sup>132</sup>. Çalışmamızda E-test yöntemiyle metronidazol direnci

%45,5 olarak ve diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Amoksisilin direncinin saptanmadığı ya da yüksek saptandığı farklı çalışmalar mevcuttur<sup>129,132,148</sup>. 1996-2000 yılları arasında Boyanova ve ark. agar dilüsyon, E-test ve disk difüzyon yöntemleri ile amoksisilin direncini %0,9 olarak saptamışlardır<sup>143</sup>. İsveç'te 2006'da yapılan bir çalışmada amoksiline direnç saptanmamıştır<sup>129</sup>. Taiwan'da 2006 yılında 133 *H. pylori* suşunda E-test yöntemiyle amoksisiline direnç %36,1 oranında saptanmıştır<sup>148</sup>.

Ülkemizde Kantarçeken ve ark. disk difüzyon yöntemiyle 51 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada amoksisiline direnç saptanmamıştır<sup>146</sup>. Yine 2000 yılında Diyarbakır'da 50 hastada disk difüzyon yöntemiyle yapılan bir çalışmada *H. pylori* suşlarının amoksisilin direnci %9,4, oranında bulunmuştur<sup>147</sup>. 2004'de 102 pediatrik hastada yapılan bir çalışmada amoksisiline direnç saptanmamıştır<sup>132</sup>. Çalışmamızda da suşlardan hiçbirinde amoksisiline karşı direnç saptanmamıştır.

Tetrasiklin'e karşı değişik oranlarda direnç bildirilmiştir. 1999'da İtalya'da yapılan bir çalışmada E-test ile tetrasiklin direnci %14 bulunmuştur<sup>149</sup>. 1994-99 yılları arasında toplanan 652 *H. pylori* suşunda agar dilüsyon yöntemiyle yapılan tetrasiklin direnci, yıllara göre sırasıyla 1994'te %3, 1995'te %6,9, 1996'da %4,7, 1997'de %2,9, 1998-1999'da %7,7 ve toplamda % 5,3 olarak bildirilmiştir<sup>150</sup>.

Rozineck ve ark. 259 *H. pylori* suşunda E-test ile yaptıkları bir çalışmada tetrasiklin direncini %0,4 olarak tespit etmişlerdir<sup>151</sup>. Lang ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmalarında E-test ile tetrasikline karşı direnç saptayamamışlardır<sup>152</sup>. Diyarbakır'da yapılan bir çalışmada tetrasikline %9,4 oranında direnç saptanmıştır<sup>147</sup>. Özçay ve ark. 2004'de pediatrik hasta grubunda yaptıkları çalışmada; tetrasikline direnç saptanmamıştır<sup>132</sup>. Çalışmamızda tetrasikline karşı direnç E-test yöntemiyle %9,1 olarak diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Kinolonlar, *H. pylori'* ye karşı *invitro* etkili olmasına rağmen *invivo* olarak etkinliği sınırlıdır. Dirençli vakalarda üçlü tedavide kullanılabilirler. 2000 yılında Kantarçeken ve ark disk difüzyon yöntemiyle yaptıkları çalışmada siprofloksasin direncini %5,9 olarak bulmuşlardır<sup>146</sup>. 2004'te İtalya'da yapılan bir çalışmada levofloksasin direnci % 22,4 bulunmuştur<sup>153</sup>. Çalışmamızda ise levofloksasiline direnç %18,2 olarak saptanmıştır.

Klaritromisin düşük MİK değeri ve uygun farmakokinetik özellikleri nedeniyle *H. pylori* eradikasyonunda en çok tercih edilen antimikrobiktir. Ayrıca, diğer antibiyotiklerle yapılan monoterapide eradikasyonda başarı oranı %10-15 iken



klaritromisinde %40-45, üçlü tedavide %90'a kadar çıktığı için klaritromisin *H. pylori* eradikasyonunda kullanılan en etkili antibiyotiktir<sup>101</sup>. Ancak günümüzde klaritromisine karşı direnç artmakta ve eradikasyon tedavisinin başarısını azaltmaktadır<sup>12</sup>. Bu nedenle çalışmamızda klaritromisin direnci hem E-test, hem de PZR-RFLP tekniği ile araştırılmıştır.

1990-1999 yılları arasında toplam 473 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada; E-test yöntemiyle klaritromisin direnci 1990-1993 yılları arasında %4,6, 1994-1997 yılları arasında %12,2, 1998-1999 yılları arasında %22 olarak saptanmıştır<sup>154</sup>. Boyanova ve ark, 1996-2000 yılları arasında Doğu Avrupa ülkelerinde çok merkezli olarak yaptıkları çalışmada, agar dilüsyon, E-test ve disk difüzyon yöntemleri ile klaritromisin direncini %9,5 olarak bulmuşlardır<sup>143</sup>. Elvis ve ark. 2005 yılında E-test ve disk difüzyon metoduyla yaptıkları çalışmada klaritromisin direncini %11 olarak saptamışlardır<sup>145</sup>. Taiwan'da 2006 yılında 133 *H. pylori* suşunun klaritromisin direnci E-test ile %13,5 oranında saptanmıştır<sup>148</sup>. 2003'de Hindistan'ın farklı bölgelerinde klaritromisin direnci E-test yöntemiyle araştırılmış ve ülke ortalamasında %44,7 olarak saptanmıştır<sup>144</sup>. Tankovic ve ark. 518 hastada yaptıkları çalışmada klaritromisin direncini %30 olarak bulmuşlardır<sup>130</sup>.

Diyarbakır'da disk difüzyon yöntemiyle yapılan bir çalışmada *H. pylori* suşlarında klaritromisine %18,7 oranında direnç saptamışlardır<sup>147</sup>. Özçay ve ark. 2004'de pediatrik hasta grubunda yaptıkları çalışmada; klaritromisine %18,2 direnç bulmuşlardır.<sup>132</sup> Bağlan ve ark.'nın Ankara Üniversitesi'nde 2005 yılında yaptıkları çalışmada; E-test yöntemiyle klaritromisin direnci %54,5 olarak bulunmuştur<sup>155</sup>. Bu yüksek direnç oranı tedavi başarısızlıklarını açıklamaktadır. Çalışmamızda E-test yapılan 11 suşun 2 (%18,2)'sinde klaritromisin direnci saptanmıştır.

Klaritromisin direnci doğrudan mide biyopsi örneklerinden PZR-RFLP yöntemi ile araştırılabilmektedir. Bunun yanısıra 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 (2143, 2144) 3 büyük nokta mutasyonu tanımlanmıştır.

Malezya'da yapılan bir çalışmada, PZR ile 120 hastanın gastrik biyopsilerinden 187 *H. pylori* suşu izole edilmiştir. Daha sonra bu hastaların dördünde PZR-RFLP tekniği ile klaritromisin direnci saptanırken, 116 hastada 183 suş klaritromisin duyarlı olarak bulunmuştur. Klaritromisin direnci olan suşların ikisinde

A2142G nokta mutasyonu, diğer ikisinde A2143G nokta mutasyonu saptanmıştır. Malezya'da ilk defa yapılan bu çalışmada klaritromisin direncinin düşük bulunduğu ve ayrıca PZR-RFLP tekniğinin klaritromisin direncini saptamada hızlı ve kullanışlı bir teknik olduğu vurgulanmıştır<sup>156</sup>.

Liu ve ark. tarafından 1995–2003 tarihleri arasında yapılan çalışmada, 770 hasta içerisinde klaritromisin kullanım öyküsü olan 153 hasta ve olmayan 617 hastayla yapılan çalışmada, PZR-RFLP tekniği ile A2142G ve A2143G nokta mutasyonları incelenmiştir. Klaritromisin kullanım öyküsü olmayan hastalarda A2143G nokta mutasyonu prevalansı %14 bulunurken klaritromisin kullanım öyküsü olan hastalarda A2143G mutasyon oranı %32 olarak saptanmıştır. Ayrıca, PZR-RFLP tekniğinin duyarlılığı yüksek olan bir yöntem olarak bildirilmesine rağmen bu çalışmada üre solunum testi ve ELISA yönteminden duyarlılığın düşük bulunmuştur. Bunun sebebinin, biyopsi örneklerinin fiksatif ile birlikte uzun bir süre saklandıktan sonra çalışılması olarak bildirilmiştir<sup>157</sup>.

Alvarez ve ark. tarafından *H. pylori* tedavisinde amoksisilin, metronidazol ve klaritromisin gibi antimikrobiklerin yaygın olarak kullanıldığı Kolombiya'da 106 hasta üzerinde yapılan çalışmada PZR-RFLP tekniği ile metronidazol direnci %82, klaritromisin direnci %3,8 ve amoksisilin direnci %1,9 olarak belirlenmiş olup klaritromisin direnci olan dört suşun üçünde A2143G nokta mutasyonu, birinde ise A2142G mutasyonu saptanmıştır<sup>158</sup>. Yine bu çalışmada da PZR-RFLP yönteminin hızlı ve duyarlı bir yöntem olduğu bildirilmiştir.

Adana'da 2006 yılında PZR-RFLP yöntemi ile klaritromisin dirençli suşların %78,78'inde A2142G ve %13,63'ünde A2143G nokta mutasyonu saptanmıştır<sup>159</sup>.

Mersin'de 2008 yılında Sezgin ve ark. mide biyopsi örneklerinde yaptıkları çalışmada *H. pylori* suşlarında A2143G ve A2144G mutasyonu ve buna bağlı olarak ortaya çıkan klaritromisin direncinin sıklığı PZR-RFLP yöntemiyle araştırmışlardır. Toplam 37 *H. pylori* pozitif suşun 15 (%40,5)'i dirençli bulunmuş olup 11 suşta nükleotid 2144'te (%73,3), 4 suşta 2143'te olmak üzere (%26,7) nokta mutasyonu saptanmıştır<sup>160</sup>. Çalışmamızda ise 94 *H. pylori* pozitif suşun 17 (%18,1)'sinde klaritromisine direnç saptanmıştır. Bu 17 suşun 11 (%64,7)'inde A2144G, 6 (%35,3)'sında A2143G olmak üzere nokta mutasyonu saptanmıştır.

Sonuç olarak, *H. pylori*'nin tanımlanmasında en duyarlı yöntemin PZR olduğu görülmüştür. Fakat özgüllüğü düşük olduğundan en az bir farklı yöntemle desteklenmesi gerekmektedir. Kültür yönteminin özgüllüğünün yüksek olmasına

rağmen duyarlılığı diğer yöntemlere göre oldukça düşük saptanmıştır; *H. pylori*'nin nazlı, güç üreyen bir bakteri olması, klinik örneğin alınması, laboratuvara taşınması, işlenmesi aşamalarındaki koşulların etkili olduğu bilinmektedir. Üreaz test ve HpSA testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri birbirine benzer olarak saptanmıştır. Endoskopinin yapılamadığı olgularda non-invaziv, kolay uygulanabilir ve hızlı sonuç veren bir test olan HpSA yöntemi tanı ve tedavinin takibinde kullanılabilir.

*H. pylori* antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi önemlidir. Bölgemizde ve ülkemizde *H. pylori*'nin direnç durumunu takip etmek, doğru ve etkin tedaviyle gereksiz antibiyotik kullanımını önlemek için kültür yapılarak antibiyotik duyarlılığı araştırılmalıdır. Gelişmekte olan ülkelerde ve ülkemizde metronidazole karşı yüksek oranda direnç görülmesi nedeniyle tedavide birinci seçenek antibiyotik olarak kullanılması uygun değildir. Klaritromisin düşük MİK değeri ve uygun farmakokinetik özellikleri nedeniyle *H. pylori* eradikasyonunda hala en çok tercih edilen antimikrobiktir. Ancak günümüzde klaritromisine karşı direnç artmakta ve eradikasyon tedavisinin başarısını azaltmaktadır. Amoksisiline direnç henüz bir sorun oluşturmadığından tedavide ilk seçenek olarak tercih edilebilir ve klaritromisinle birlikte kombine edilebilir.

Fakat yıllar içinde direnç gelişiminde anlamlı artışlar olduğu ve gelecekte de olacağı öngörüsüyle özellikle birinci basamak tedavide dikkatli olunmalıdır.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmaya dispeptik şikayetleri bulunan 149 hasta dahil edilmiştir.
2. Hastaların antral biyopsi örneklerinde kültür, PZR ve üreaz testi; dışkı örneklerinde ise ELISA yöntemiyle *H. pylori* varlığı araştırılmıştır.
3. Kültürde üretilen suşlarda antimikrobik direnci E-test yöntemi ile araştırılmıştır.
4. Ayrıca mide biyopsi örneklerinde klaritromisin direnci PCR-RFLP yöntemi ile araştırılmıştır.
5. Kültür, üreaz test, PZR ve HpSA yöntemleri arasında en duyarlı yöntem PZR olarak bulunmuştur. Ancak PZR'nun özgüllüğünün diğer üç teste göre oldukça düşük olduğu gözlenmiştir.
6. Üreaz test ve HpSA testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri birbirine benzer olarak saptanmıştır. Endoskopinin endike olmadığı olgularda bakteri varlığını göstermek için non-invaziv bir test olan HpSA kullanılabilir.
7. Kültür yönteminin özgüllüğü en yüksek yöntem olmasına rağmen duyarlılığı diğer yöntemlere göre oldukça düşük saptanmıştır. Ancak tedavi başarısızlığının arttığı durumlarda kültür yapılarak antibiyotik duyarlılığı araştırılmalıdır.
8. Kültürü pozitif bulunan 43 suşun 11'inde E-test yöntemi ile antimikrobik direnci araştırılabilmıştır. Buna göre klaritromisine %18,2, tetrasikline %9,1, metronidazole %45,5, levofloksasine %18,2 direnç saptanmıştır. Suşlardan hiçbirisinde amoksisilin direnci saptanmamıştır.
9. Metronidazole karşı olan yüksek direnç nedeniyle tedavide ilk seçenek olarak tercih edilmemelidir.
10. PZR ile *H. pylori* pozitif bulunan 94 suşun 17 (%18,1)'sinde klaritromisine direnç saptanmıştır. Bu 17 suşun 11 (%64,7)'i A2144G, 6 (%35,3)'sında A2143G olmak üzere nokta mutasyonu saptanmıştır.
11. Klaritromisin direncinin önceki yıllara göre daha düşük olduğu gözlenmiştir.

## KAYNAKLAR

- 1) Kadanalı A, Özkurt Z. *Helicobacter pylori* infeksiyonu: Epidemiyoloji, patogenez ve ilişkili hastalıkları. Klimik Derg 2004; 17(3):146-50
- 2) Yılmaz YA. *Helicobacter pylori*: Mikrobiyolojik tanı yöntemleri. Hacettepe Tıp Derg 2004; 35:182-6
- 3) Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Rev 1997; 10(4):720-41
- 4) Kusters JG, van Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clin Microbiol Rev 2006; 19(3): 449–90
- 5) Buckley MJ, O'Morain CA. Helicobacter biology -discovery. Br Med Bull 1998; 54(1) 7-16
- 6) Versalovic J. *Helicobacter pylori*. Pathology and diagnostic strategies. Am J Clin Pathol 2003;119:403-12
- 7) Ciacci C, Mazzacca G. The history of *Helicobacter pylori*: A reflection on the relationship between the medical community and industry. Dig Liver Dis 2006; 38(10):778-80
- 8) Hirschl AM, Makristathis A. Methods to Detect *Helicobacter pylori* From Culture to Molecular Biology. Helicobacter .2007; 12(Suppl. 2): 6–11
- 9) Uyanık MH, Aktaş O. *Helicobacter pylori*'nin mikrobiyolojik tanısı. The Eurasian Journal of Medicine 2007; 39:205-9
- 10) Brown LM. *Helicobacter pylori*: Epidemiology and routes of transmission. Epidemiol Rev.2000; 22(2):283-97
- 11) Deloney CR, Schiller NL. Characterization of an in vitro-selected amoxicillin-resistant strain of *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44(12):3368–73
- 12) Xia HX, Fan XG, Talley NJ. Clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* and its clinical relevance. World J Gastroenterol 1999; 5(3):263-6
- 13) Kidd M, Modlin IM. A Century of *Helicobacter pylori*. Digestion 1998; 59:1–15
- 14) Konturek JW. Discovery by Jaworski of *Helicobacter pylori* and its pathogenetic role in peptic ulcer, gastritis and gastric cancer. J Physiol Pharmacol 2003; 54(3):23-41
- 15) Goodwin CS. *Helicobacter pylori* :10th anniversary of its culture in April 1982 Leading article. Gut 1993; 34:293-4

- 16) Özden A. *Helicobacter pylori* 2006. Güncel Gastroenteroloji. 2006; 10(4): 287-91
- 17) Gerrits MM, van Vliet AHM, Kuipers EJ, Kusters JG. *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance molecular mechanisms and clinical implications. Lancet Infect Dis 2006; 6:699-709
- 18) Akın L, Tezcan S, Haşçelik G, Çakır B. Seroprevalence and some correlates of *Helicobacter pylori* at adult ages in Gülveren Health District, Ankara, Turkey. Epidemiol Infect 2004;132:847–56.
- 19) Özden A, Bozdayı G, Özkan M, Köse KS. Changes in the seroepidemiological pattern of *Helicobacter pylori* infection over the last 10 years in Turkey. Turk J Gastroenterol 2004; 15(3):156-8
- 20) Altındış M. Afyon bölgesinde *Helicobacter pylori* infeksiyon sıklığı. Genel Tıp Derg 2001; 11(3):109-103
- 21) Kivi M, Johansson ALV, Reilly M, Tinberg Y. *Helicobacter pylori* status in family members as risk factors for infection in children. Epidemiol Infect 2005; 133:645–52
- 22) Dattoli VCC, Veiga RV, Cunha SS, et al. Seroprevalence and Potential Risk Factors for *Helicobacter pylori* Infection in Brazilian Children. Helicobacter 2010; 15:273–8
- 23) Garg PK, Perry S, Sanchez L and Parsonnet J. Concordance of *Helicobacter pylori* infection among children in extended-family homes. Epidemiol Infect 2006; 134:450-9
- 24) Özkan TB. Çocuklarda *H. pylori* infeksiyonunda seroloji, tanı ve tedavi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg 2007; 33(2): 81-5
- 25) Drumm B. *Helicobacter pylori*. Archives of Disease in Childhood 1990; 65: 1278-82
- 26) Logan RP, Walker MM. ABC of the upper gastrointestinal tract: Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. BMJ 2001; 323:920-22
- 27) Tünger Ö. *Helicobacter pylori* infeksiyonları. İnfeksiyon Derg 2008; 22(2):107-15
- 28) Haggerty T, Shmuelly H, Parsonnet J. *Helicobacter pylori* in cathartic stools of subjects with and without cimetidine-induced hypochlorhydria. J Med Microbiol 2003; 52:189–91

- 29) Queralt N, Bartolome R, Araujo R. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in human faeces and water with different levels of faecal pollution in the north-east of Spain. J Appl Microbiol 2005; 98:889–95
- 30) Margaret A Stone. Transmission of *Helicobacter pylori*. Postgrad Med J 1999; 75:198–200
- 31) Perez-Perez GI, Rothenbacher D, Brenner H. Epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection. Helicobacter 2004 ;9(1):1–6
- 32) Egemen A, Yılmaz Ö, Akil İ, Altuğlu İ. Evaluation of association between hepatitis A and *Helicobacter pylori* infections and routes of transmission. Turk J Pediatr 2006; 48:135-39
- 33) Malaty HM, Tanaka E, Kumagai T, Ota H, et al. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* and Hepatitis A virus and the mode of transmission of infection: A 9-year cohort study in rural Japan. Clin Infect Dis 2003; 37:1067-72
- 34) Baker KH, Hegarty JP. Presence of *Helicobacter pylori* in drinking water is associated with clinical infection. J Scand Infect Dis 2001; 33:744-46
- 35) Allaker RP, Young KA, Hardie JM, Domizio P, Meadows NJ. Prevalance of *Helicobacter pylori* at oral and gastrointestinal sites in children: evidence for possible oral-to-oral transmission. J Med Microbiol 2002; 51:312-17
- 36) Young KA, Akyon Y, Rampton DS, Barton SGRG, et al. Quantitative culture of *Helicobacter pylori* from gastric juice: the potential for transmission. J Med Microbiol 2000; 49:343-7
- 37) Marshall B. *Helicobacter pylori*: 20 years on. Clin Med 2002; 2(2):147–52
- 38) Owen RJ. *Helicobacter* - species classification and identification. Br Med Bull 1998; 54(1):17-30
- 39) Bağlan PH, Özden A. Mide ve enterohepatik hastalıklarla ilişkisi olan *Helicobacter pylori*'den farklı *Helicobacter* türleri. Güncel Gastroenteroloji 2006; 10(1):1-11
- 40) Suzuki N, Yoneda M, Naito T, Iwamoto T, et al. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in the saliva of patients complaining of halitosis. J Med Microbiol 2008; 57:1553–9
- 41) Blaser JM. Ecology of *Helicobacter pylori* in the human stomach. J Clin Invest 1997; 100(4):759–62

- 42) Noach LA, Rolf TM, Tytgat GNJ. Electron microscopic study of association between *Helicobacter pylori* and gastric and duodenal mucosa. J Clin Pathol 1994;47: 699-704
- 43) Dubois A, Boren T. *Helicobacter pylori* is invasive and it may be a facultative intracellular organism. Cell Microbiol 2007; 9(5):1108-16
- 44) Janulaityte-Günther D, Günther T, Pavilionis A, Kupcinskis L. What Bizzozero never could imagine – *Helicobacter pylori* today and tomorrow. Medicina 2003; 39(6):542-9
- 45) Glupczynski Y. Microbiological and serological diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: an overview. British Medical Bulletin 1998; 54(1):175-86
- 46) Kitsos CM, Stadlander CT. *Helicobacter pylori* in liquid culture: evaluation of growth rates and ultrastructure. Curr Microbiol 1998; 37: 88–93
- 47) Kolaylı F, Karadenizli A, Çelebi A, Şentürk Ö, Bingöl R. *Helicobacter pylori* 'nin izolasyonunda dört farklı taşıma ortamının karşılaştırılması. İnfeksiyon Derg 2003;17(3):333-5
- 48) Erdem B. *Campylobacter ve Helicobacter*. In: Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (eds.) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi;1999: 531-540.
- 49) Matsuyama N, Kırıkae T, Kırıkae F, Hashimoto M, et al. Non-standard biological activities of lipopolysaccharide from *Helicobacter pylori*. J Med Microbiol 2001; 50: 865-69
- 50) Muotiala A, Helander IM, Pyhala L, Kosunen TU, Moran AP. Low biological activity of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. Infect Immun 1992; 60(4):1714-6
- 51) Thoreson ACE, Hamlet A, Celik J, Bystrom M, et al. Differences in surface-exposed antigen expression between *Helicobacter pylori* strains isolated from duodenal ulcer patients and from asymptomatic subjects. J Clin Microbiol 2000; 38(9):3436–41.
- 52) Appelmelk BJ, Simmons-Smith I, Negrini R, Moran AP, et al. Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and host lewis blood group antigens in autoimmunity. Infect Immun 1996; 64(6): 2031-40
- 53) Yokota S, Amano K, Hayashi S, Kubota T, et al. Human antibody response to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide: Presence of an immunodominant epitope



- in the polysaccharide chain of lipopolysaccharide. *Infect Immun.* 1998; 66(6):3006-11
- 54) Yamaoka Y. Increasing evidence of the role of *Helicobacter pylori* SabA in the pathogenesis of gastroduodenal disease. *J Infect Dev Ctries.* 2010 ; 2(3):174–181
- 55) Figueiredo C, Machado JC, Yamaoka Y. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2005; 10(1):14–20
- 56) Marshall D.G, Dundon W.G, Beesley S.M, Smyth C.J. *Helicobacter pylori* - a conundrum of genetic diversity. *Microbiology* 1998;144: 2925-39
- 57) Israel DA, Salama N, Krishna U, Rieger UM, Atherton JC, Falkow S, Peek RM Jr. *Helicobacter pylori* genetic diversity within the gastric niche of a single human host *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(25):14625-30.
- 58) Alm RA, Ling L Lo-See, Moir DT, King BL, et al. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1999; 397:176-80
- 59) Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997; 388: 539-547
- 60) Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *New Engl J M* 2002; 347: 1175-86
- 61) Demiray E, Yılmaz Ö. *Helicobacter pylori* infeksiyonunda üreaz enziminin rolü ve önemi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2007; 37(2):112-17
- 62) Andersen LP. Colonization and Infection by *Helicobacter pylori* in Humans. *Helicobacter* 2007; 12(2):12–15
- 63) Mobley HLT, Island MD, Hausinger RP. Molecular Biology of Microbial Ureases. *Microbiol Rev* 1995; 59(3):451–80
- 64) Lee A, Fox J, Hazell S. Pathogenicity of *Helicobacter pylori*: a Perspective. *Infect Immun* 1993; 61(5):1601-10
- 65) Atherton JC. *H. pylori* virulence factors. *Br Med Bull* 1998;54(1): 105-20
- 66) Shimoyama T, Crabtree JE. Bacterial factors and immune pathogenesis in *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998;43(1):2–5
- 67) Blaser JM, Atherton JC. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 2004; 113:321–33

- 68) Zhong Q, Shao SH, Cui LL, Mu RH, Ju XL, Dong SR. Type IV secretion system in *Helicobacter pylori*: a new insight into pathogenicity. Chin Med J. 2007; 120(23):2138-42
- 69) Israel DA, Salama N, Arnold CN, Moss SF, Ando T, et al. *Helicobacter pylori* strain-specific differences in genetic content, identified by microarray, influence host inflammatory responses. J Clin Invest 2001; 107:611–20
- 70) Windle HJ, Fox A, Eidhin DN, Kelleher D. The Thioredoxin System of *Helicobacter pylori*. The Journal of Biological chemistry 2000; 275(7):5081-89
- 71) Yılmaz Ö, Okçu N. *Helicobacter pylori* ve gastrointestinal sistemle ilişkili hastalıklar. AÜTD 2006; 38:13-17
- 72) Marais A, Mendz GL, Hazell SL, Megraud F. Metabolism and Genetics of *Helicobacter pylori*: the Genome Era. Microbiol Mol Biol rev 1999; 63(3):642-74
- 73) Egan BJ, Holmes K, O'Connor HJ, O'Morain CE. *Helicobacter pylori* gastritis, the unifying concept for gastric diseases. Helicobacter 2007; 12(2):39-44
- 74) Sandıkçı M. Gastrit, peptik ülser ve *H. pylori*. Willke AT, Söyletir G, Doğanay M, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*'de. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 787-92.
- 75) Demiray M, Manavoğlu O. *Helicobacter pylori* ve Gastrik Karsinogenez Uludağ Ünv Tıp Fak Derg 2003; 29(2):29-33
- 76) Kupcinskas L, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* and non-malignant diseases. Helicobacter 2005;10(1):26–33.
- 77) Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. World J Gastroenterol 2006;12(3):354-62
- 78) Houghton JM, Wang TC, *Helicobacter pylori* and gastric cancer a new paradigm for inflammation-associated epithelial cancers. Gastroenterol 2005;128:1567-78.
- 79) Farinha P, Gascoyne RD. *Helicobacter pylori* and Malt Lymphoma. Gastroenterol 2005;128:1579-1605.
- 80) Varia D, Holton J, Menegatti M, Ricci C, et al. Review article: invasive and non-invasive tests for *Helicobacter pylori* infection. Aliment Pharmacol Ther 2000; 14(3):13-22
- 81) Sönmez C. *Helicobacter pylori* infeksiyonu tanısında yeni yaklaşımlar. Güncel Gastroenteroloji 2002; 6(3):137-46

- 82) Vega AE, Cortinas TI, Mattana CM, Silva HJ, Puig de Centorbi O. Growth of *Helicobacter pylori* in medium supplemented with cyanobacterial extract. J Clin Microbiol 2003; 41(12): 5384–88
- 83) Glupczynski Y, Broutet N, Cantagrel A, Andersen LP, et al. Comparison of the E test and agar dilution method for antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21:549–52
- 84) Levin DA, Watermeyer G, Mohamed N, Epstein DP, et al. Evaluation of a locally produced rapid urease test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. SAMJ.2007; 97(12):1281-84
- 85) Huijsdens WX, Linskens RK, Koppes J, Tang YL, et al. Detection of *Helicobacter* species DNA by quantitative PCR in the gastrointestinal tract of healthy individuals and of patients with inflammatory bowel disease. FEMS Immunol Med Microbiol 2004; 41:79-84
- 86) Doorn L J, Glupczynski Y, Kusters JG, Mégraud 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; 45(5):1500–4.
- 87) Mégraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. Clin Microbiol Rev 2007; 20(2):280–322
- 88) Rüssmann H, Kempf VAJ, Koletzko S, Heesemann J et al. Comparison of fluorescent *in situ* hybridization and conventional culturing for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. J Clin Microbiol 2001; 39: 304-8.
- 89) Trebesius K, Panthel K, Strobel S, Vogt K et al. Rapid and specific detection of *Helicobacter pylori* macrolide resistance in gastric tissue by fluorescent *in situ* hybridization. Gut 2000; 46: 608-614.
- 90) Logan RPH. Urea breath tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. Gut 1998; 43(1):47–50
- 91) Savarino V, Vigneri S, Celle G. The <sup>13</sup>C urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Gut 1999; 45(1):118–22
- 92) Krausse R, Müller G, Doniec M. Evaluation of a rapid new stool antigen test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult patients. J Clin Microbiol 2008; 46(6):2062–65

- 93) Gisbert JP, Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter* 2004; 9(4):347–68
- 94) Uzunismail H. *Helicobacter Pylori* ve eradikasyon. İÜ. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu 11-12 Ocak 2001; İstanbul, sempozyum özet kitabı, 19-26
- 95) Özçakır O, Yılmaz YA. *Helicobacter pylori*'de antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Derg* 2007; 38:75-9
- 96) Kasapoğlu B, Türkay C. *Helicobacter pylori*'de tedavi ve direnç. *Güncel Gastroenteroloji* 2008; 12(3):141-5
- 97) Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56:772–81
- 98) Qasima A, O'Morain CA, O'Connor HJ. *Helicobacter pylori* eradication: role of individual therapy constituents and therapy duration. *Clinical Pharmacology* 2009; 23:43–52
- 99) Mönkemüller K, Malfertheiner P. Drug treatment of functional dyspepsia. *World J Gastroenterol* 2006; 12(17):2694-2700
- 100) Ford A.C, Malfertheiner P, Giguère M, Santana J, et al. Adverse events with bismuth salts for *Helicobacter pylori* eradication: Systematic review and meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2008; 14(48):7361-70
- 101) Bağlan P. Özden A. *Helicobacter pylori*'nin antibiyotiklere direnci. *Güncel Gastroenteroloji* 2003; 7(3): 220-3
- 102) Godoy APO, Reis FC, Ferraz LFC, Gerrits MM, et al. Differentially expressed genes in response to amoxicillin in *Helicobacter pylori* analyzed by RNA arbitrarily primed PZR. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007; 50:226-30
- 103) Co EM, Schiller NL. Resistance mechanisms in an in vitro-selected amoxicillin-resistant strain of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(12):4174–6
- 104) Alancon T, Vega AE, Domingo D, Martínez MJ, et al. Clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* strains isolated from children prevalence and study of mechanism of resistance by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis. *J Clin Microbiol* 2003; 41(1):486–88
- 105) Owen RJ. Molecular testing for antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Gut* 2002; 50:285–9

- 106) Mégraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 2004; 53:1374-84
- 107) Gerrits MM, de Zoete MR, Arents NL, Kuipers EJ, Kusters JG. 16S rRNA mutation-mediated tetracycline resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46(9):2996–3000
- 108) Glocker E, Berning M, Gerrits MM, Kusters JG, Kist M. Real-time PZR screening for 16S rRNA mutations associated with resistance to tetracycline in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob agents chemother* 2005; 49(8):3166–70
- 109) Paul R, Postius S, Melchers K, Schafer KP. Mutations of the *Helicobacter pylori* genes *rdxA* and *pbp1* cause resistance against metronidazole and amoxicillin. *Antimicrob agents chemother* 2001; 45(3):962–5
- 110) Sijun H, Yong X. *Helicobacter pylori* vaccine: mucosal adjuvant & delivery systems. *Indian J Med Res*. 2009; 130(2):115-24
- 111) Permin H, Andersen L.P. Inflammation, immunity and vaccines for *Helicobacter* infection. *Helicobacter* 2005; 10(1):21–25
- 112) Agarwal K, Agarwal S. *Helicobacter pylori* vaccine: from past to future. *Mayo Clin Proc* 2008; 83(2):169-75
- 113) Yu X-W, Xu Y, Gong Y-H, Qian X, Yuan Y. *Helicobacter pylori* induces malignant transformation of gastric epithelial cells in vitro. *APMIS* 2010; 1-11
- 114) Yücel T, Aygin D, Şen S, Yücel O. The prevalence of *Helicobacter pylori* and related factors among university students in Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61:179-183
- 115) Saribasak H, Salih, BA, Yamaoka Y, Sander E. Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. *J Clin Microbiol* 2004; 42(4):1648-51
- 116) Sandıkçı MU, Doran F, Köksal F, Sandıkçı S et al. *Helicobacter pylori* prevalence in a routine upper gastrointestinal endoscopy population. *Br J Clin Pract* 1993; 47(4): 187-89.
- 117) IJzendoorn MC, Laheij RJF, Boer WA, Jansen JBMJ. The importance of corpus biopsies for the determination of *Helicobacter pylori* infection. *Neth Jour Med* 2005; 63(4):141-5
- 118) Doorn LV, Henskens Y, Nouhan N, Verschuuren A, et al. The efficacy of laboratory diagnosis of *Helicobacter pylori* infections in gastric biopsy

- specimens is related to bacterial density and *vacA*, *cagA* and *ice A* genotypes. J Clin Microbiol 2000; 38(1):13-7
- 119) Andrews J, Marsden B, Brown D, Wong VS, et al. Comparison of three stool antigen tests for *Helicobacter pylori* detection. J Clin Pathol 2003; 56:769–71
- 120) Bosso S, Balbo L, Lerro P, Kuvidi M, et al. Antigen detection in stools as a first choice for laboratory diagnosis of *Helicobacter pylori* disease. Minerva Gastroenterol Dietol 2000; 46(1):15-8.
- 121) Islam S, Weilert F, Babington R, Dickson G, Smith AC. Stool antigen testing for the diagnosis and confirmation of eradication of *Helicobacter pylori* infection: a prospective blinded trial. Intern Med J 2005; 35: 526–9
- 122) Vaira D, Malfertheiner P, Megraud F, Axon ATR, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. HpSA European study group. Lancet 1999; 354:30-33
- 123) Antos D, Crone J, Konstantopoulos N, Koletzko S. Evaluation of a novel rapid one-step immunochromatographic assay for detection of monoclonal *Helicobacter pylori* antigen in stool samples from children. J Clin Microbiol 2005; 43:2598-601
- 124) Adiloğlu AK, İşler M, Gören İ, ve ark. Quantitative correlation of *Helicobacter pylori* stool antigen (HpSA) test with the severity of *H. pylori* related gastritis. Tohoku J Exp Med 2007; 212:159-67
- 125) Durmaz-Çetin B, Gündüz A, Erdem L, Seber E, Sökmen M. *Helicobacter pylori* infeksiyonları ve dışkı antijen testinin tanıdaki değeri. Klimik Derg 2004; 17(3):177-80
- 126) Arikan S, Kocakuşak A, Barut G, Şengoz G, ve ark. *Helicobacter pylori* stool antigen test: results of a prospective study. Surg Today 2004; 34:318–22
- 127) Erzin Y, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, et al. Comparison of two different stool antigen tests for the primary diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Turkish patients with dyspepsia. Helicobacter 2004; 9:657–62
- 128) Tiryaki Z. Üst GİS yakınmalı çocuklarda *Helicobacter pylori* infeksiyonunun tanı ve tedavisinde dışkı antijen testi ve serolojinin önemi. Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık tezi 2006; 50-63
- 129) 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.

- 130) Tankovic J. Routine use of real-time PCR for detection of *Helicobacter pylori* and of clarithromycin resistance mutations. *Gastroenterol Clin Biol* 2007;31:792-5
- 131) Gisbert JP, Abaira V. Accuracy of *Helicobacter pylori* diagnostic tests in patients with bleeding peptic ulcer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2006 ;101(4):848-63
- 132) 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):242-8
- 133) Kullavanijaya P, Thong-Ngam D, Hanvivatvong O, Nunthapisud P, et al. Analysis of eight different methods for the detection of *Helicobacter pylori* infection in patients with dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 1392-6
- 134) Shin CM, Kim N, Lee HS, Lee HE, et al. Validation of diagnostic tests for *Helicobacter pylori* with regard to grade of atrophic gastritis and/or intestinal metaplasia *Helicobacter* 2009; 14(6):512-9
- 135) Kaklıkkaya N, Çubukçu K, Yazıcı Y, Özgür O, ve ark. Gastrointestinal yakınması olan hastalarda gram boyama, üreaz ve kültür testleri ile *Helicobacter pylori* varlığının belirlenmesi. *İnfek Derg* 2003, 17(3): 329-32
- 136) Weiss J, Mecca J, Da Silva E, Grassner D. Comparison of PCR and other diagnostic techniques for detection of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients. *J Clin Microbiol* 1994; 32(7):1663-8
- 137) Fabre R, Sobhani I, Laurent-Puig P, Hedef N, et al. Polymerase chain reaction assay for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens: comparison with culture, rapid urease test, and histopathological tests. *Gut* 1994, 35: 905-908
- 138) Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A, Burette A, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: Comparison with invasive techniques and detection of *cagA* gene in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 1995; 33(10):2752-56
- 139) Uyanık MH, Aktaş O, Özbek A, Yılmaz Ö, Ayyıldız A. *Helicobacter pylori* tanısında çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması. *İnfek Derg* 2007, 21(3): 123-8
- 140) Weiss J, Tsang TK, Meng X, Zhang H, et al. Detection of *Helicobacter pylori* gastritis by PCR. *Am J Clin Pathol* 2008; 129:89-96

- 141) Weel JFL, van der Hulst WM, Gerrits Y, Tytgat GNJ, et al. Heterogeneity in susceptibility to metronidazole among *Helicobacter pylori* isolates from patients with gastritis or peptic ulcer disease. *J Clin Microbiol* 1996; 34(9):2158-62
- 142) Megraud F, Lehn N, Lind T, Bayerdörffer E, et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in a large multicenter trial: the MACH 2 study, *Antimicrob Agents and Chemother* 1999; 43(11):2747-52
- 143) Boyanova L, Mentis A, Gubina M, Rozynek E, et al. The status of antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in eastern Europe. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8:388-96
- 144) Thyagarajoin SP, Ray P, Kumar Das B, Ayyagari A, et al. Resistant *Helicobacter pylori*. Geographical difference in antimicrobial resistance pattern of *Helicobacter pylori* clinical isolates from Indian patients: Multicentric study. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003; 18:1373-8
- 145) Elviss N, Owen R, Breathnach A, Palmer C, Shetty N. *Helicobacter* antibiotic resistance patterns and risk factors in adult dyspeptic patients from ethnically diverse populations in central and south London during 2000. *J Med Microbiology* 2005; 54:567-74
- 146) Kantarçeken B, Yıldırım B, Karıncaoğlu M, Aladağ M, Hilmioğlu F. *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance. *Turk J Gastroenterol* 2000; 11(2):141-5
- 147) Göral V, Zeyrek FY, Gül K. *Helicobacter pylori* infeksiyonunda antibiyotik Direnci. *T Klin Gastroenterohepatol* 2000; 11:87-92
- 148) 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
- 149) Realdi G, Dore MP, Diana A, Atzei A, et al. Pretreatment antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* infection: Results of three randomized controlled studies, *Helicobacter* 1999; 4(2):106-12
- 150) Kim JJ, Reddy R, Lee M, Kim JG, et al. Analysis of metronidazole, clarithromycin, and tetracycline resistance of *Helicobacter pylori* isolates from Korea, *J Antimicrob Chemother* 2001; 47:459-61
- 151) Rozyneck E, Dzierzanowska- Fangrat K, Celinska-Cedro D, et al. Primary resistance of *Helicobacter pylori* to antimicrobial agents in Polish children, *Acta Microbiol Pol* 2002; 51(3):255-63



- 152) Lang L, and Garcia F: Comparison of E- test and disk diffusion assay to evaluate resistance of *Helicobacter pylori* isolates to amoxicillin, clarithromycin, metronidazole and tetracycline in Costa Rica, Int J Antimicrob Agents 2004.; 24:572-7
- 153) 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
- 154) Cabrita J, Oleastro M, Matos R, Manhente A, et al. Features and trends in *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Lisbon area, Portugal (1990-1999). J Antimicrob Chemother. 2000; 46(6):1029-31
- 155) Bağlan P, Bozdayı G, Özkan M, Özden A. Klaritromisin dirençli *Helicobacter pylori*'nin saptanmasında E-test ve Agar dilüsyon metodlarının karşılaştırılması. Akademik Gastroenteroloji Derg 2005;4(2): 83-7
- 156) 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
- 157) Liu Z, Shen J, Zhang L, Shen L, et al. Prevalence of A2143G mutation of *H. pylori*-23S rRNA in Chinese subjects with and without clarithromycin use history. BMC Microbiology 2008; 8(81):1-8
- 158) 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
- 159) Yetkin M. Mide duodenum hastalıklarında izole edilen *Helicobacter* suşlarında amoksisilin, klaritromisin, tetrasiklin, metranidazol ve rifampisin direncinin agar dilüsyon yöntemiyle araştırılması. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık tezi 2006;60-5
- 160) Sezgin O, Aslan G, Altıntaş E, Tezcan S, Serin MS, Emekdaş 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; 19(3):163-7

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>BHIA</b>	: Brain Hearth Infusion Agar (Beyin Kalp İnfüzyon Agar)
<b>BHIB</b>	: Brain Hearth Infusion Broth (Beyin Kalp İnfüzyon Buyyon)
<b>BabA</b>	: Blood Group Antigen-Binding Adhesin
<b>cagA</b>	: Cytotoxin associated gene A
<b>cagPAI</b>	: <i>cag</i> Patojenite Adası
<b>CLO</b>	: Hızlı Üreaz Testi
<b>CLSI</b>	: Clinical Laboratory Standards Institue
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Karbondioksit
<b>DNA</b>	: Deoksinükleik asit
<b>DSÖ</b>	:Dünya Sağlık Örgütü
<b>EHSG</b>	: Avrupa <i>H. pylori</i> Çalışma Grubu
<b>E-test</b>	: Epsilometrik test
<b>ELISA</b>	: Enzyme-linked immunosorbant assay
<b>FISH</b>	: Floresan in- situ hibridizasyon
<b>frxA</b>	: Flavin Oksidoredüktaz
<b>GÖRH</b>	: Gastroözefajial reflü hastalığı
<b>HAV</b>	: Hepatit A virusu
<b>HE</b>	: Haemotoksilen-Eozin
<b>HpSA</b>	: <i>H. pylori</i> Stool Antigen
<b>H<sub>2</sub></b>	: Hidrojen
<b>H<sub>2</sub>S</b>	: Hidrojen sülfid
<b>IL-8</b>	: İnterlökin-8
<b>IF-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon- $\gamma$
<b>iceA</b>	: İnducible by Contact with Epithelium Gene A
<b>IARC</b>	: International Agency for Research on Cancer Working Group
<b>MALT</b>	: Mukoza ile ilişkili lenfoid doku
<b>MIK</b>	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
<b>NSAİİ</b>	: Steroid olmayan anti-inflamatuar ilaç
<b>N<sub>2</sub></b>	: Nitrojen
<b>NPD</b>	: Negatif prediktif değer

<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>OMP</b>	: Dış zar proteini
<b>oipA</b>	: Outer Inflammatory Protein A
<b>PZR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>PPI</b>	: Proton pompa inhibitörü
<b>PNL</b>	: Polimorfonükleer lökosit
<b>PBP</b>	: Penisilin bağlayan protein
<b>PPD</b>	: Pozitif prediktif değer
<b>RFLP</b>	: Restriction Fragment Length Polymorphism
<b>rRNA</b>	: ribozomal RNA
<b>RFLP</b>	: Restriksiyon fragment length polimorfizm
<b>rdxA</b>	: Nitroredüktaz
<b>SabA</b>	: Sialic acid binding adhesin
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>TSI</b>	: Üç sekerli demirli besiyeri
<b>T4SS</b>	: Tip IV sekresyon sistemi
<b>TNF-α</b>	: Tümör nekroz faktör-α
<b>ÜNT</b>	: Üre nefes testi
<b>vacA</b>	: Vacuolating cytotoxin gene A
<b>WS</b>	: Warthin-Starry
<b>ZES</b>	: Zollinger-Ellison Sendromu

## ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1 ( <i>Helicobacter</i> cinsi bakterilerin 16s RNA filogenetik sınıflandırması)	15
Şekil 2 ( <i>H. pylori</i> genomu)	21
Şekil 3 ( <i>H. pylori</i> ile ilişkili hastalıklar)	30
Şekil 4 ( <i>H. pylori</i> eradikasyonu)	43

Resimler	Sayfa No
Resim 1 (%7 At kanlı selektif Columbia agar' da üremiş <i>H. pylori</i> kolonileri)	56
Resim 2 (Çalışmamızdan koloniden Gram ile boyanmış <i>H. pylori</i> )	57
Resim 3 (Doku örneklerinin üreaz aktivitesi)	58
Resim 4 (Mide biyopsi örneğinde Giemsa ile boyanmış <i>H. pylori</i> )	58
Resim 5 ( <i>H.pylori</i> suşunun E-test yöntemi ile tetrasiklin duyarlılığı)	60
Resim 6 (HpSA testi, <i>H. pylori</i> antijenleri varlığında renk değişikliği gözlenmiştir)	61
Resim 7 (Çalışmamızdan, kültürde üremiş <i>H. pylori</i> kolonileri)	68
Resim 8 (PZR görüntüsü)	69
Resim 9 ( <i>H.pylori</i> suşunun E-test yöntemi ile levofloksasin duyarlılığı)	72
Resim 10 ( <i>Bsal</i> enzimi ile kesim sonucu elde edilen bantlar)	73
Resim 11 ( <i>MbolI</i> enzimi ile kesim sonucu elde edilen bantlar)	73
(Resim 1,2,3,4,5,6,7 Olympus C-7070 wide zoom ile çekilmiştir)	

## TABLolar DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
<b>Tablo 1</b> ( <i>Helicobacter</i> türleri, konak ve doku tropizmi)	14
<b>Tablo 2</b> ( <i>H. pylori</i> ' nin mikrobiyolojik ve virülans ve patojenite özellikleri)	23
<b>Tablo 3</b> ( <i>H. pylori</i> enfeksiyonu tanısında kullanılan testlerin genel özellikleri)	34
<b>Tablo 4</b> ( <i>H. pylori</i> pozitif hastalarda eradikasyon endikasyonları)	44
<b>Tablo 5</b> (PZR solusyonu)	62
<b>Tablo 6</b> (PZR programı)	62
<b>Tablo 7</b> (Bsa I enzimi ile kesim reaksiyonu karışımı)	64
<b>Tablo 8</b> (Mbo II enzimi ile kesim reaksiyonu karışımı)	65
<b>Tablo 9</b> (Çalışmaya dahil olan hastaların cinsiyete göre dağılımı)	66
<b>Tablo10</b> (Çalışmaya dahil olan hastaların yaşlarına yönelik temel istatistikler ve analiz sonuçları)	66
<b>Tablo 11</b> (Hastaların endoskopik tanılarına göre dağılımı)	67
<b>Tablo 12</b> ( <i>H. pylori</i> Varlığını Gösteren Testler)	68
<b>Tablo 13</b> (Kültür, PZR, HpSA, Üreaz yöntemlerinin <i>H. pylori</i> için altın standart kriteri ile karşılaştırılması)	70
<b>Tablo 14</b> (Kültür, PZR, HpSA ve Üreaz yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD değerleri)	71
<b>Tablo 15</b> ( <i>H.pylori</i> suşlarının E-test yöntemi ile tespit edilen MIK değerleri)	71
<b>Tablo 16</b> ( <i>H.pylori</i> suşlarının E-test sonuçlarına göre antibiyotik duyarlılık ve dirençlilikleri)	72