

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GASTROENTEROLOJİ KLİNİĞİNE BAŞVURAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN
Helicobacter pylori **SUŞLARININ KLARİTROMİSİN, TETRASİKLİN, METRONİDAZOL,**
AMOKSİSİLİN, LEVOFLOKSASİN DİRENÇLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esmâ AKYILDIZ

AĞUSTOS - 2010

TRABZON

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GASTROENTEROLOJİ KLİNİĞİNE BAŞVURAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN
Helicobacter pylori **SUŞLARININ KLARİTROMİSİN, TETRASİKLİN, METRONİDAZOL,**
AMOKSİSİLİN, LEVOFLOKSASİN DİRENÇLERİNİN BELİRLENMESİ

Esmâ AKYILDIZ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 12.07.2010
Tezin Sözlü Savunma Sınavı : 09.08.2010

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Neşe KAKLIKKAYA
Jüri Üyesi : Doç. Dr. İlknur TOSUN
Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Arif Mansur COŞAR

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Orhan DEĞER

AĞUSTOS - 2010

TRABZON

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada bilgi ve deneyimlerini aktaran, her konuda bana yardımcı olan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Neşe KAKLIKKAYA başta olmak üzere, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Murat ERTÜRK'e, Sayın Doç. Dr. Faruk AYDIN'a, Sayın Yard. Doç Kurtuluş BURUK'a, Sayın Doç. Dr. İlknur TOSUN'a ve Sayın Yard Doç. Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU'na, materyal temininde Sayın Uzman Dr. Murat ERKUT ve Sayın Sami FİDAN'a

Yardımlarından dolayı, çalışma arkadaşım Dr. Taylan CALP'a,

Anabilim dalındaki tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve tüm mikrobiyoloji çalışanlarına,

Beni bu günlere getiren ve her zaman destekleyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca, tez çalışmamı Doç. Dr. Neşe KAKLIKKAYA yönetimindeki 2001.114.001.10 nolu proje ile destekleyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu'na teşekkür ederim.

Trabzon, 2010

Esma AKYILDIZ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. <i>Helicobacter pylori</i> 'nin Genel Özellikleri.....	4
2.2.1. Sellüler Morfoloji.....	4
2.2.2. Koloni Morfolojisi.....	4
2.2.3. Yapısal Özellikleri.....	5
2.2.4. Biyokimyasal Özellikleri.....	5
2.2.5. Makromoleküler Özellikleri.....	5
2.2.6. Kültür ve Üreme Özellikleri.....	5
2.2.7. Saklama Koşulları.....	6
2.2.8. Patogenezi.....	6
2.3. Sınıflandırma.....	7
2.4. Epidemiyolojisi.....	7
2.4.1. Prevalans.....	7
2.4.2. Bulaşma Yolları.....	8
2.4.3. <i>Helicobacter pylori</i> Virülans Faktörleri.....	8
2.5. <i>Helicobacter pylori</i> Enfeksiyonları.....	8
2.6. <i>Helicobacter pylori</i> Enfeksiyonlarında Tanı.....	9
2.6.1. Non-invaziv Testler.....	9
2.6.1.1. Serolojik Testler.....	9
2.6.1.2. Üre Nefes Testi.....	9
2.6.1.3. Dışkıda Antijen Arayan Testler.....	10
2.6.2. İnvaziv Testler.....	10
2.6.2.1. Histopatolojik İnceleme.....	10

2.6.2.2.	Üreaz Testi.....	11
2.6.2.3.	Kültür.....	11
2.6.2.4.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu	12
2.7.	<i>Helicobacter pylori</i> ile İlişkili Klinik Tablolar.....	12
2.7.1.	<i>Helicobacter pylori</i> ve Duodenal Ülser.....	12
2.7.2.	<i>Helicobacter pylori</i> ve Gastrik Ülser.....	12
2.7.3.	<i>Helicobacter pylori</i> ve Gastrit	13
2.7.4.	<i>Helicobacter pylori</i> ve Non-ülser Dispepsi	13
2.7.5.	<i>Helicobacter pylori</i> ve Mide Kanseri	13
2.7.6.	<i>Helicobacter pylori</i> ve MALT Lenfoma	13
2.7.7.	<i>Helicobacter pylori</i> ve Gastroözophageal Reflü Hastalığı.....	14
2.7.8.	Gastrointestinal Sistem Dışı Hastalıklar.....	14
2.8.	Tedavi	14
2.8.1.	<i>Helicobacter pylori</i> Tedavisinde kullanılan Antibiyotikler.....	15
2.8.1.1.	Klaritromisin.....	15
2.8.1.2.	Tetrasiklin.....	15
2.8.1.3.	Levofloksasin.....	16
2.8.1.4.	Metronidazol.....	16
2.8.1.5.	Amoksisilin.....	16
2.8.2.	Tedavi Rejimleri	17
3.	MATERYAL VE METOD	19
3.1.	Materyal.....	19
3.1.1.	Çalışma Grubu.....	19
3.1.2.	Kullanılan Araç ve Gereçler	19
3.1.3.	Kullanılan Besiyerleri.....	20
3.1.4.	Kullanılan Kimyasallar	21
3.1.5.	Antibiyotik solüsyonlarının Hazırlanması	21
3.2.	Metod.....	21
3.2.1.	Çalışma Planı ve Numunelerin toplanması	21
3.2.2.	Mikrobiyolojik İnceleme	22
3.2.2.1.	Kültür.....	22
3.2.2.2.	Direkt Mikroskopi	23
3.2.2.3.	Üreaz Testi.....	24
3.2.3.	Antibiyotik Duyarlılık Testleri	24

3.2.3.1.	Agar Dilüsyon Yöntemi İle Metronidazol, Amoksisilin, Tetrasiklin, Levofloksasin Direncinin Tespit Edilmesi	24
3.2.3.2.	E- Test Yöntemi ile Klaritromisin Direncinin Tespit Edilmesi.....	25
3.2.4.	İstatistiksel Analizler	26
4.	BULGULAR	27
5.	TARTIŞMA.....	32
6.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	37
7.	ÖZET	39
8.	SUMMARY.....	40
9.	KAYNAKLAR.....	41
	EK 1: HASTA/DENEĞİN AYDINLATILMIŞ ONAMI	51
	ÖZGEÇMİŞ.....	52

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Gelişmiş dünya ülkelerindeki Maastricht III uzlaşI raporu önerileri tedavi seçenekleri	18
Tablo 2. Çalışmada elde edilen <i>H. pylori</i> suşları ile yapılan antibiyotik duyarlılık Sonuçları.....	28
Tablo 3. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 <i>H. pylori</i> suşunun yaş gruplarına göre antibiyotik dirençleri	28
Tablo 4. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 <i>H. pylori</i> suşunun cinsiyete göre antibiyotik dirençleri.....	29
Tablo 5. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 <i>H. pylori</i> suşunun Grup A Grup B'ye göre antibiyotik dirençleri.....	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Kültürde saf olarak üreyen <i>H. pylori</i> 'lerin oluşturduğu şeffaf yuvarlak, konveks ve saydam kolonilerin görünümü.....	23
Şekil 2. Gastrik biyopsi örneklerinden hazırlanan preparatlarda <i>H. pylori</i> 'lerin görünümü (Gram boyama x100)	23
Şekil 3. Amoksisiline dirençli (MİK>0.5) dirençli hemolizsiz <i>H. pylori</i> kolonileri	25
Şekil 4. Klaritromisine dirençli (MİK≥1) hemolizsiz <i>H. pylori</i> kolonileri.....	26
Şekil 5. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 <i>H. pylori</i> suşunun yaş gruplarına göre antibiyotik dirençleri	29
Şekil 6. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 <i>H. pylori</i> suşunun cinsiyete göre antibiyotik dirençleri.....	30
Şekil 7. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 <i>H. pylori</i> suşunun Grup A ve Grup B'ye göre antibiyotik dirençleri	31

KISALTMALAR

AD	: Agar Dilüsyon
Amx	: Amoxicillin
bp	: base pair (baz çifti)
BHIA	: Brain Heart Infusion Broth
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CLO	: Campylobacter Like Organism
Cla	: Clarithromycin
C	: Sitozin
Cag	: Cytotoxin Associated Gene
DD	: Disk Difüzyon
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DMSO	: Dimetilsülfoksit
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
E-Test	: Epsilometrik Test
EHPS	: Europe <i>Helicobacter pylori</i> Study Group
G	: Guanin
GÖRH	: Gastroözefageal Reflü Hastalığı
H. pylori	: <i>Helicobacter pylori</i>
Hsp	: Isı Şok Proteinleri
IARC	: International Agency for Research on Cancer Working Group
Ig	: Immunoglobulin
Kb	: Kilo baz
LPS	: Lipopolisakkarit
Lev	: Levofloxacin
MALT	: Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
Met	: Metronidazole

NÜD	: Non-ülser Dispepsi
NPV	: Negatif Prediktif Değer
N ₂	: Nitrojen
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standarts
PÜ	: Peptik Ülser
PPI	: Proton Pompa İnhibitörü
PCR	: Polymerase Chain Reaction
pH	: Asidite Değer
PBS	: Phospate Buffer Salin
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
PPV	: Pozitif Prediktif Değer
RNA	: Ribonükleik Asit
rRNA	: Ribozomal RNA
R	: Resistance
rdxA	: Nitroredüktaz
frxA	: Flavin Oksidoredüktaz
SF	: Serum Fizyolojik
S	: Sensitivite
Tet	: Tetracycline
O ₂	: Oksijen
Vac	: Vacuolating cytotoxin
μ	: Mikron

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Helicobacter pylori dünya nüfusunun yaklaşık yarısını enfekte ederek en sık saptanan bakteriyal patojenlerden biri olma özelliğini taşımaktadır (1). Gastrik mukozaya kolonize olarak peptik ülserden adenokarsinomaya kadar ciddi gastrointestinal hastalıklara neden olabilen, konak ve doku tropizmi gösteren Gram negatif, spiral şeklinde, mikroaerofil bir bakteridir (2, 3, 4). Az gelişmiş ve gelişmekte olan toplumlarda prevalans %70-90 iken gelişmiş toplumlarda bu oran %40'dan daha düşük seviyelere gerilemiştir (5, 6). Birçok çalışma asemptomatik kolonize kişilerin en az %20'sinde, kolonizasyonu takip eden yıllar içerisinde tedaviyi gerektirecek klinik bulguların ortaya çıkabileceğini, bunların da %15-20'sinde peptik ülser, %1-3'ünde gastrik kanser gelişebileceğini ortaya koymaktadır (7).

H. pylori enfeksiyonunun eradikasyon endikasyonları ve bunun nasıl yapılacağı ilk kez 1997 yılında Avrupa *Helicobacter pylori* Çalışma Grubu (EHPSG) tarafından, sonuncusu 2005'te yapılan uzlaşma toplantıları ile Maastricht III - 2005 Konsensus Raporu adıyla yayınlanmıştır (8).

H. pylori enfeksiyonunun tedavisindeki amaç, mikroorganizmayı tamamen elimine etmektir. Tedavide antibiyotikler ile proton pompa inhibitörü (PPI) kombinasyonu önerilmekte ve genellikle herhangi bir duyarlılık testi yapılmaksızın ampirik olarak başlanmaktadır. *H. pylori* in-vitro olarak birçok antibiyotiğe duyarlı olmasına rağmen aslında bunların bir kaçı in-vivo olarak *H. pylori* tedavisinde kullanılabilir. *H. pylori* eradikasyonu için farklı tedavi rejimleri incelenmiştir. Konsensus grubu 3'lü tedavinin en uygun seçim olabileceğini düşünmektedir. Üçlü tedavi ilk basamak antibiyotik olarak amoksisilin ve klaritromisin ile kombine PPI'ndan oluşmaktadır. Ancak bu rejim kullanıldığında olguların %15-40'ında tedavi başarısızlığı rapor edilmiştir (9, 10). Persistan enfeksiyonlu hastalarda amoksisilin ya da klaritromisin yerine metronidazol, tetrasiklin veya levofloksasin kullanılması ve bu tedaviye bizmut kaynaklı bir ürün eklenmesi tercih edilmektedir (11).

Son yıllarda primer ve / veya sekonder direnç gelişimi karşısında 4'lü kısa süreli tedavi rejimleri önerilmeye başlanmıştır (PPI + bizmut + iki antibiyotik) (12).

Antibiyotik duyarlılık testlerinin pahalı olması, her hastanede bulunmaması ve en önemlisi de sadece endoskopi sırasında alınan biyopsilerde uygulanabilmesi nedeni ile duyarlılık testlerinin kullanımı çok kısıtlıdır (13). *H. pylori* izolatlarında antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi için Agar Dilüsyon (AD), Disk Difüzyon (DD), Epsilometrik test (E-testi), Polymerase Chain Reaction (PCR), PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) yöntemleri kullanılmıştır (14, 15).

Çeşitli ülkelerde yapılan antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına göre metronidazol direnci %50-80, klaritromisin direnci %5-25, tetrasiklin direnci %0-5, amoksisilin direnci %0-1 oranlarında tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da metronidazol için %9-88, klaritromisin için %0-64, tetrasiklin için %0-9.4, amoksisilin için %0-33 direnç oranları bildirilmiştir. Levofloksasin için yeterli veri yoktur. Bölgemizdeki *H. pylori* antibiyotik direnç oranları ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır.

Bu çalışmada Hastanemiz Gastroenteroloji Kliniğine dispeptik şikayetlerle başvuran hastalardan izole edilen *H. pylori* suşlarının klaritromisin, tetrasiklin, amoksisilin, metronidazol ve levofloksasin dirençlerinin AD ve E-test yöntemleri kullanılarak belirlemek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Helicobacter pylori'nin sebep olduğu gastrointestinal hastalıklara tıbbın ilgisi yazılı tıbbın ilk günlerine kadar uzanmaktadır. Hipokrat'ın "epigastrik yanma ve şişlik" olarak tanımladığı gastrointestinal hastalıkların etyolojisini, İbn-i Sina (980-1037) "yemek ile gastrik ağrı" arasındaki ilişkide aramıştır. M. Donati (1586) ülserli hastalarda mide asidine dikkat çekmiş, 1688 yılında İsveçli M. Johannes otopsiyle ilk duodonal ülseri rapor etmiştir. Alman bakteriyolog G. Bottcher ve arkadaşı Fransız M. Letulla gastrik ülserli alanlarda bakteriyi keşfetmiş, kültür ortamında üretemedikleri bu bakterilerin ülsere neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (1875) (16). W. Jaworski 1889 yılında insan mide sedimentinde çomak şeklindeki bakterilerin yanı sıra spiral şekilli basillerin varlığını göstererek, bunlara *Vibrio regula* adını vermiştir (15). İtalyan araştırmacı G. Bizzozero 1892'de köpek midesinde spiral şeklindeki bakterileri ve artmış üreaz aktivitesini göstererek, gastrit ve ülserin hem etyoloji hem de patofizyolojisi hakkında oldukça faydalı bilgiler sunmuştur. Benzer mikroorganizmalar 1906'da insanların mide kanseri biyopsi örneklerinde gösterilmiştir. 1938'de 242 otopsi vakasının %43'ünün midesinde hematoksilin-eozin boyasıyla spiral şeklinde bakterilerin varlığını gösterilmiştir (17, 18). 1940'da A. S. Freedberg ve L. Baron tarafından ülser ya da karsinomalı hastaların gastrik rezeksiyon örneklerinin %37'sinde spiroketler tespit edilmiştir (19). H. W. Steer ve J. Colin (1975) midedeki ülseratif lezyonların %80'inde spiral şeklindeki bakterileri göstermişler, fakat midenin yüksek asiditesi nedeni ile bakteriyi izole edip tanımlayamamışlardır. Sonunda R. Warren 1979'da *H. pylori* ile gastroduodenal hastalıklar arasındaki ilişkiyi keşfetmiş, spiral bakterileri mide mukus tabakası altında saptamıştır. Mikroorganizma in-vitro şartlarda ilk defa B. J. Marshall tarafından 1982 yılında üretilmiştir (18). B. Marshall ve R. Warren yaklaşık dört yıl süren çalışmalarını Lancet dergisinde yayınlanan makaleleri ile Tıp Dünyasına duyurmuşlardır (19). Morfolojik özellikleri ile kampilobakterlere benzettikleri için *Campylobacter-like microorganism* (CLO) olarak adlandırılmış, daha sonra S. C. Goodwin tarafından 1989'da yapılan

çalışmada 16S rRNA yapısı, yağ asitleri kompozisyonu, DNA zincir yapısı ve enzimlerindeki farklılıklardan dolayı *Campylobacter* genusuna ait olmadığı gösterilerek yeni bir genus ismi önerilmiştir. İn-vivo şartlardaki helikal görüntüsü ve sıklıkla midenin pilor bölgesinden izole edilmelerinden dolayı bu bakteriye *H. pylori* adını vermişlerdir (19). 1994 yılında International Agency for Research on Cancer Working Group (IARC) tarafından *H. pylori*'nin Tip I karsinojen olduğu ilan edilmiş ve National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement tarafından gastrit veya duodenal ülser ile birlikte *H. pylori* enfeksiyonu olan hastaların bakteri eradikasyon tedavisi almaları gerektiği belirtilmiştir (20, 21). 1997'de Avrupa konsensus panelinde *H. pylori* enfeksiyonu ve peptik ülser, ciddi makroskopik ya da mikroskopik gastrit, düşük derece MALT lenfoma hastalarında proton pompa inhibitörüyle (PPI) beraber üçlü tedavinin enfeksiyonun eradikasyonu için kullanılması önerilmiştir (22). *H. pylori*'nin genomu 1997'de çözümlenmiştir. Bu keşif bilim adamlarının bakteriye karşı etkili bir ilaç tedavisi geliştirmelerine yardımcı olmuştur.

H. pylori'nin 20. yüzyılda peptik ülser ve gastritle ilişkili olduğu çalışmaları B. J. Marshall ve R. Warren'e 2005 yılında Nobel Tıp ödülünü kazandırmıştır (23).

2.2. *H. pylori*'nin Genel Özellikleri

2.2.1. Sellüler Morfoloji

H. pylori 2.5-3.5 µm uzunluğunda 0.5-1.0 µm genişliğinde virgül, spiral veya martı kanadı şeklinde görülen polar flagellalı, hareketli, mikroaerofilik, gram negatif çomaktır. Katı besiyerinde kültürü yapıldığında spiral yapısı ortadan kalkar ve basil şeklinde görülür. Bakteri sporsuz ve kapsülsüzdür (24, 25, 26).

2.2.2. Koloni Morfolojisi

H. pylori çeşitli maddeler ilave edilmiş kanlı agarda 37°C'de 3-5 günde 1-2 mm çapında yuvarlak, konveks ve saydam koloniler olarak görülür. Kanlı agarda zayıf bir hemoliz oluşmasından dolayı koloniler etrafında gri bir zon görülebilir (27).

2.2.3. Yapısal Özellikleri

H. pylori Gram negatif bakteri hücre duvarı özelliklerine sahiptir. Hücre duvarı lipopolisakkarid (LPS)'den zengin, büyüklüğü 31-80 kDa arasında değişen dış membran, 3 katmanlı iç membran ve periplazmik alandan meydana gelir.

Dış membran üzerinde LPS dışında 12-15 nm çapında halka şeklinde duvara bağlı üreaz ve HspB agregatları yer almaktadır. Dış membranda ayrıca en az bir tane demir bağlayan protein, mide epiteline adezyondan sorumlu glikokaliks benzeri yapılar ve molekül ağırlıkları 48-67 kDa arasında değişen, HopA, HopB, HopC ve HopD olarak tanımlanan 4 porin proteini bulunur (28).

2.2.4. Biyokimyasal Özellikler

H. pylori üreaz, katalaz, oksidaz, alkalen fosfataz, DNAaz, lösinaminopeptidaz enzimleri salgılayabilir. Üreaz ve katalaz negatif olan suşlar da bildirilmiştir. Hippurat hidrolizi, indol formasyonu, H₂S üretimi, nitrat redüksiyonu, arilsülfataz aktivitesi %1 ve %3,5'lik NaCl'da üreme ve indoksilat hidrolizi yönünden negatiftir (29).

2.2.5. Makromoleküler Özellikler

İlk defa 1997 yılında *H. pylori* 26695 suşunun, 1999 yılında da *H. pylori* J99 suşunun genomik dizi analizi tamamlanmıştır. Bu suşların gen büyüklükleri sırasıyla 1.667.867 ve 1.643.831 bp olarak tespit edilmiştir. Genomda ortalama %39 olan G+C oranı, bakterinin çevre şartlarına uyum için gerekli mutasyonları yapabilme yeteneğini açıklamaktadır. *H. pylori* suşlarının en az %40'ında büyüklükleri 1,5 ile 23,5 kb arasında değişen plazmidler bulunur (30).

2.2.6. Kültür ve Üreme Özellikleri

H. pylori zor üreyen, mikroaerofilik bir mikroorganizmadır. İn-vitro koşullarda üretilmeleri için %5 O₂, %10 CO₂, %85 N₂ gereklidir. Bekletilmiş at, koyun veya insan kanı ilaveli (%5'lik) Brucella agar, Mueller-Hinton, Columbia agar, Beyin kalp infüzyon

agar (BHIA) gibi zenginleştirilmiş besiyerleri *H. pylori* için ideal besiyeridir (14, 31). Besiyerlerine amfoterisin-B, vankomisin, trimetoprim, polimiksin-B, kanamisin, sefaperazon gibi antibakteriyel ve antimikotiklerin ilavesiyle seçicilik artar. Üremeleri için en uygun sıcaklık 35-37°C'dir. İnkübasyon için en az 4 gün olmak üzere 7-10 günlük sürenin gerekli olduğu görülmüştür. İnkübasyon sonunda *H. pylori* suşları besiyerinin yüzeyinde 0.3-1 mm çaplı renksiz veya gri renkli, nonhemolitik, su damlasına benzeyen koloniler şeklinde ürerler. Optimal üreme pH'ları 6.8-7.6 arasında olmasına karşılık pH aralığı oldukça geniştir (5.5-8.5). *H. pylori* inkübasyon süresinin uzatılması, düşük pH derecesi ve oksijen ile temas gibi çevresel faktörlere oldukça duyarlıdır. Metabolizmaları için gerekli olan enerjiyi aminoasitlerden, CO₂ ve üre'den sağlarlar (25, 31).

2.2.7. Saklama Koşulları

Helicobacter pylori -80°C'de % 20 gliserol içeren brucella broth, nutrient broth ya da brain heart infusion broth içerisinde veya likit nitrojende (-196°C) yıllarca korunabilir (31, 32).

2.2.8. Patogenezi

H. pylori primer olarak mide antrumunda kolonize olur. Genellikle mukus tabakasının altında gastrik epitel üzerinde bulunur ve nadir olarak intrasellüler gözlenir. Mide mukozasını örten mukus tabakasındaki nötrale yakın pH mikroorganizmanın yaşamasına imkan sağlar (33, 34). Gastrik inflamasyon mekanizması henüz tam anlaşılamamıştır, ancak *H. pylori*'de bulunan üreaz enzimi gastrik mukozal hasarın nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Üreaz gastrik mukoza'daki üreyi, amonyak ve bikarbonata parçalayarak ortamı nötralize eder. Açığa çıkan amonyak gastrik mukozal epitel hücrelerine toksik etki etmesinin yanısıra mukozal yüzeyde pH'yı arttırır ve mukus sekresyonu gibi gastrik epitel fonksiyonlarını da bozar (35). Duyarlı bir kişide *H. pylori* enfeksiyonundan sonra kronik aktif gastrit, duodenal ve gastrik ülser, gastrik kanser ve MALT lenfoma gelişebilir (36, 37).

2.3. Sınıflandırma

H. pylori 1989'da *Campylobacter* genusundan çıkartılarak yeni bir tür olarak *Helicobacter* genusunda sınıflandırılmıştır. *H. pylori*'nin gastroduodenal hastalıklar ile ilişkilendirilmesi sonucunda insan, kedi, köpek ve domuz ve kemiricilerde benzer mikroorganizmaların varlığı araştırılmış, bu çalışmaların sonunda 24'ü adlandırılmış, en az 35'i adlandırılma aşamasında olan türler tanımlanmıştır.

İnsanlarda *H. pylori* dışında *H. heilmannii* tip-I (*Gastrospirillum hominis*) de yüksek oranda midede kolonize olabilmektedir (15).

2.4. Epidemiyoloji

2.4.1. Prevalans

H. pylori infeksiyonları dünyada oldukça yaygındır. Sosyoekonomik koşulları bozuk, aile birey sayısı fazla gelişmekte olan ülkelerde populasyonun %70-90'ı *H. pylori* taşımakta bireyler genellikle enfeksiyonu 10 yaşından önce almaktadır. *H. pylori*'nin mide mukozasındaki prevalansı ve insidansı gelişmişlik oranlarına ve yaşa göre ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Gelişmekte olan ülkelerde %70-90 arasında değişen prevalans, gelişmiş ülkelerde kişisel hijyene verilen önem ve yapılan başarılı eradikasyon çalışmaları ile %10-40'lara kadar gerilemiştir. Gelişmekte olan ülkelerde prevalans oranı yaşa bağlı olarak da değişmekte, genel olarak 0-5 yaş arasında %5 olan oran, 30'lu yaşlarda %25'e ve 60 yaş üzerinde ise %50'lerin üzerine çıkmaktadır (7, 38).

Ülkemizde *H. pylori* prevalansının araştırıldığı bir çalışmada mide ülseri olan hastaların %45'inde, duodenal ülserli hastaların %96'sında ve non-ülser dispepsilerde %88'inde *H. pylori* tespit edildiğini rapor etmişlerdir (39). Bölgemizde 1999 yılında yapılan bir çalışmada kadın hastaların % 60.63'ünde, erkek hastaların % 69.74'ünde *H. pylori* pozitif saptanmıştır (40, 41). *H. pylori* ile enfekte bireylerde *H. pylori* negatif bireylere göre daha çok peptik ülser gelişme riski vardır. Prospektif ve retrospektif çalışmalarda gastrik kanser ve gastrik lenfomalı hastaların %90'ında *H. pylori* saptanmıştır (41).

Son yıllarda yapılan çalışmalara göre *H. pylori* prevalansının azalmakta olduğu ileri sürülmüştür. Tam olarak nedeni bilinmemekle birlikte ancak sosyoekonomik koşulların iyileşmesi, hijyen, sağlık ve antibiyotik kullanımına bağlı olabileceği düşünülmektedir (42, 43).

2.4.2. Bulaşma Yolları

H. pylori'nin rezervuarı kesin olarak bilinmemektedir. Bulaşma yolu kesin olmamakla beraber oral-oral, fekal-oral yolla olduğu düşünülmektedir. Cinsel yolla bulaştığını gösteren epidemiyolojik veri yoktur (38, 44). Mikroorganizmanın tükürük, dışkı ve diş plağından da izole edilmesi bulaş yollarını destekler niteliktedir (45). Endoskopi sonrasında da bulaşma olabilir. Mesleki risk grupları arasında gastroenterologlar, endoskopi personeli ve diş hekimleri yer almaktadır (15, 46).

2.4.3. *H. pylori* Virülans Faktörleri

H. pylori virülansında mikroorganizmanın midenin asit ortamına uyum sağlamasında rol alan üreaz aktivitesi (47), mukus içerisinde hareket etmesini sağlayan flagellar yapısı (48), mukus tabakasını incelten musinaz ve fosfolipaz A2 ve C, serbest radikallerin etkisine karşı bakteriyi koruyan katalaz, oksidaz ve süperoksid dismutaz enzimleri (49, 50), gastrik hücelere adezyonu kolaylaştıran molekülleri (28, 50), demir bağlayan proteinler, konak immün sisteminden kaçışı sağlayan LPS yapısı ve konak hücre antijenleri ile homoloji gösteren Hsp ve diğer antijenik yapılar ve en önemlisi, bakterideki patojenik gen adasının göstergesi olarak tanımlanan Cytotoxin Associated Gene A (*CagA*) geni ve konakta inflamatuvar cevabı başlatan, vakuolizasyonu düzenleyen efektör proteinler (*VacA*) rol oynamaktadır (28, 51).

2.5. *H. pylori* Enfeksiyonları

H. pylori mide mukozasındaki asemptomatik kolonizasyonun yanı sıra ülcersiz karın ağrısı, akut gastrit, kronik aktif gastrit, atrofik gastrit, duodenal ülser, gastrik adenokarsinomalar, MALT Lenfomalar ve Gastroözefageal Reflü Hastalığı (GÖRH) gibi

gastroduodenal patolojilerden sorumlu bulunmuştur. Mide kolonizasyonu ile gastrik atrofiye bağlı olarak kanamasız demir eksikliği anemilerine yol açtığı ileri sürülmekte, gastrointestinal sistem dışında arterit ve ateroskleroz gibi önemli hastalıklarla da etyolojik ilişkisi tartışılmaktadır (49, 52).

2.6. *H. pylori* Enfeksiyonlarında Tanı

H. pylori enfeksiyonunu tanımlamada kullanılan testler iki grupta incelenir. Non-invaziv testler; üre nefes testi, serolojik testler ve dışkıda antijen arayan testleri içerir. İnvaziv testler olarak; hızlı üreaz testi, histoloji, kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılmaktadır.

2.6.1. Non- İnvaziv Testler

2.6.1.1. Serolojik Testler

Serolojik testler ilk uygulanan non- invaziv testlerdir. Hasta serumundan IgG antikorları tespiti için geliştirilmiştir. Antikorlar enfeksiyona karşı koruyucu olmaktan çok tanı değeri taşımaktadır (53). Mide mukozasında lokal olduğu kadar sistemik immün yanıtta da yol açan *H. pylori* enfeksiyonu serumda spesifik IgA ve IgG'nin, midede ise sekretuar IgA ve IgM'nin artışına neden olur. Bireyin *H. pylori* enfeksiyonu ile ilişkisinin araştırılmasında kanda anti-*H. pylori* IgG, IgM veya IgA antikorlarının aranması yararlı, ucuz ve hızlı testlerdendir. *H. pylori* tanısında ilk kullanılan serolojik test ELISA'dır. Farklı ticari ELISA kiti kullanılarak yapılmış çalışmalara ait sonuçlar bu testlerin duyarlılığının %85, özgüllüğünün de %79 olduğunu ortaya koymuştur (54, 55). Serolojik yöntemler, özellikle epidemiyolojik çalışmalarda ve tedavinin izlenmesinde faydalı olabilir (53).

2.6.1.2. Üre Nefes Testi

Bu testin prensibi *H. pylori*'nin üreyi parçalayarak nitrojene ve karbondioksit çevirmesi esasına dayanır. Yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir (56).

^{14}C veya ^{13}C ile işaretlenmiş üre içeren solüsyon hastaya içirilir. Mide mukozasından emilen üre *H. pylori* ile karşılaşır, üreaz üreyi amonyak ve işaretli CO_2 'ye parçalar. İşaretli CO_2 kana geçerek akciğere taşınır ve birkaç dakika içinde nefeste belirir. Hasta solüsyonu içmesinin ardından 30.dak'da hastanın nefesindeki işaretli CO_2 özel yöntemlerle tespit edilir (57). Test, antibiyotik ve PPI veya ranitidin kullanan hastalarda yalancı negatif sonuçlar verebilmektedir (58).

2.6.1.3 Dışkıda Antijen Arayan Testler

Gaitada *H. pylori* antijenlerini tespit amacı ile kullanılan ve ticari olarak testler geliştirilmiştir. Bunlardan bir kısmı poliklonal antikorların kullanıldığı testler, diğerleri ise monoklonal antikorların kullanıldığı testlerdir Enfeksiyonun teşhisinde ilk olarak ve tedavi sonrası eradikasyonun değerlendirilmesinde kullanılabilir (15, 57).

Gaita antijen testi, antikor değil antijeni göstererek aktif enfeksiyonu teşhis eder (59).

Taze ya da dondurulmuş dışkı örnekleri kullanılabilir. Örnek mümkün olduğunca çabuk test edilmelidir. Kullanımı kolay, ucuz ve hızlı sonuç veren bir yöntemdir.

Yapılan çalışmaların çoğunda, tedavi öncesi ve sonrası bu yöntemin duyarlılık ve özgüllüğü yüksek bulunurken; birkaç çalışmada daha düşük tespit edilmiştir. Eradikasyon tedavisinin tamamlanmasından 4 hafta sonra bu testin yapılması önerilmektedir (60, 61).

2.6.2. İnvaziv Testler

2.6.2.1. Histopatolojik İnceleme

H. pylori enfeksiyonlarında histolojik tanı, dokudaki enflamasyonun ve varsa prekarsinojen değişimlerin şiddetini belirlemek amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır (62, 63).

Biyopsi örnekleri histokimyasal ve immünokimyasal boyalarla boyanarak değerlendirilir. Bu amaçla Gram, Warthin Starry, hematoksilen-eozin, Giemsa, Gimenez, akridin orange ve fuksin boyası kullanılabilir. Gram boyama antrum ve fundus bölgelerinden alınan biyopsi örnekleri için oldukça duyarlı (%92) ve özgül (%100)'dür. Akridin-orange boyası son derece duyarlı (%89) ve özgül (%97) olup, floresan mikroskoba

ihtiyaç göstermesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır. Hematoksilen-eozin boyasının kültürlerle %83 uyumlu olduğu buna karşın boya çok çabuk solduğundan kısa sürede negatif sonuç verebileceği bildirilmiştir (64, 65). Biyopsi örneklerinin Giemsa ile boyanarak incelenmesi de mümkündür. Patolojik değerlendirmeler için hazırlanan kesitler Warthin-Starry gümüşleme yöntemi ile boyanarak incelenebilir (58). Bu incelemeyle gastroduodenal patolojinin düzeyi ve premalign değişiklikler de saptanabilir.

2.6.2.2. Üreaz Testi

Mide biyopsi örneklerinde *H. pylori* üreaz aktivitesinin tespitine dayalı bir testtir. Test ortamında kullanılan üre besiyerinde örnekte bulunan *H. pylori*'nin üreyi hidrolizi sonucu açığa çıkan amonyağın pH'yı yükselterek renk indikatörü olan fenol kırmızısında renk değişikliği yaratması esasına dayanır. Sonuçlar 20 dakika ile bir saat gibi kısa bir sürede alınabilmektedir. Testin duyarlılığını %80-95, özgüllüğünü %95-100 olarak bildirenler vardır. Doku örneğindeki bakteri sayısının azlığı ve sonuçların erken okunması gibi nedenlerden dolayı yalancı negatiflik görülebilmektedir. Üreaz testleri hızlı sonuç alınabilen testler arasında sınıflandırılır (66).

2.6.2.3. Kültür

H. pylori'nin seçici kültür ortamlarında üretilmesi tanıda altın standarttır (55, 63). Ancak bu yöntemin duyarlılığı, örneğin sayısı ve büyüklüğü, örnekteki bakteri miktarı, örneğin transport şekli ve süresi, kullanılan besiyerleri ve inkübasyon şartları ile çalışanın tecrübesine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Optimal şartlarda duyarlılık ve özgüllük sırası ile <%90 ve >%95'dir (67).

Oksijene duyarlı olan bakterinin laboratuvara ulaştırılması ve ekimi uygun koşullarda ve hızlı olmalıdır. Serum fizyolojik ve ticari olarak hazırlanmış besiyerleri taşıyıcı besiyeri olarak kullanılmaktadır. *H. pylori* kültürünün başarısı biyopsi örneğinin alımıyla ekimi arasındaki süreye ve oksijenle temasına bağlıdır. Alınan örnekler en fazla dört saat içinde ekilmeli bu süre boyunca +4°C'de bekletilmelidir. Örnek hemen ekilemeyecekse -80°C'de saklanabilir, bu işlem kültürde üretmeyi azaltacaktır. *H. pylori* seçici (antibiyotik içeren) ve seçici olmayan besiyerlerinde, mikroaerofilik ortamda 3-10 günde üretilmektedir. %5-10

yalancı negatif sonuç alınmaktadır (24). Çeşitli ticari kitler kullanılarak, anaerob kavanozda ya da içindeki hava bir vakum yardımıyla çekilmiş desikatör içerisine %5 O₂, %10 CO₂, % 85 N₂'den oluşan özel gaz karışımı verilerek mikroaerofil ortam sağlanabilir. Kültürde üretilen *H. pylori*'ye antibiyotik duyarlılık uygulanabilir.

2.6.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Biyopsi örneklerinde, mide sıvısı ve dışkıda PCR ile *H. pylori* tespit edilebilir. Son derece duyarlı ve özgül bir testtir. Amplifikasyon yöntemleri ile *H. pylori*'ni 16S *rRNA* geni, *cagA*, *vacA* ve allelleri bu genlerin birliktelik gösterdiği hastalıklar ve antibiyotik direnci araştırılabilir (15).

2.7. *H. pylori* ile İlişkili Klinik Tablolar

2.7.1. *H. pylori* ve Duodenal Ülser

Genellikle midenin başlangıç bölgesi olan bulbusda yerleşim söz konusudur. Duodenal ülserli hastaların %90'dan fazlası *H. pylori* ile enfektedir. Bu hastaların çoğunda asit salgısı artmış veya normal olarak bulunur. Araştırmalarda asit baskılayıcı tedavilere antibiyotik eklenmesinin ülser iyileşmesini hızlandırdığı ve *H. pylori* eradikasyonu sağlandığında daha az nüks görüldüğü bulunmuştur. Bu durum *H. pylori*'nin duodenal ülser patogenezindeki fonksiyonunu açıklamaktadır (15, 53, 68). Bunlarda *H. pylori* gastriti korpusta değil antrumdadır (7).

2.7.2. *H. pylori* ve Gastrik Ülser

Mukozadan başlayarak muskularis mukozayı da içine alan lokalize bir doku kaybı olan ülser, kronikleşebilen tekrarlayıcı bir hastalıktır. Gastrik ülserli hastalar duodenal ülserli hastalara oranla daha az *H.pylori* ile kolonizedirler (69). Bununla beraber gastrik ülser hastalarının en az %70'inin bu bakteriyle enfekte olduğuna dair yayınlar mevcuttur (70, 71).

2.7.3. *H. pylori* ve Gastrit

Gastrit, gastrik mukozanın kronik inflamasyonudur. *H. pylori*, mide mukozasında hem korpus, hem de antrum bölgesinde kolonize olmasına karşın, *H. pylori*'nin neden olduğu gastritler antral kronik gastrik olarak antrumda daha belirgindir (68).

2.7.4. *H. pylori* ve Non-Ülser Dispepsi

Non-ülser dispepside, hasta semptomlarını açıklayacak klinik, biyokimyasal, endoskopik ve ultrasonografik olarak organik bir bozukluk bulunmaz (72). *H. pylori* ile non-ülser dispepsi arasındaki ilişki tam olarak ortaya konamadığından bu konudaki tartışmalar halen devam etmektedir. Ancak non-ülser dispepsili hastaların bir kısmının semptomları, *H. pylori* eradikasyonu ile iyileştiği artık kesinleşmiştir (73).

2.7.5. *H. pylori* ve Mide Kanseri

Mide adenokarsinomu dünyadaki en yaygın malignitelerden biridir (74). *H. pylori* 1994 yılında Kanser Çalışma Grubu tarafından Tip 1 karsinojen olarak ilan edilmiştir. Yapılan prospektif epidemiyolojik çalışmaların meta analiz sonuçları *H. pylori* pozitif hastaların normallere göre kanser gelişme riskinin daha yüksek olduğunu göstermiştir (75, 76).

İntestinal metaplazi ve gastrik atrofi kansere neden olan öncül değişikliklerdir. Mide kanseri oluşumunda *H. pylori* kadar çevresel irritan maddeler, nitritler ve beslenme yetersizliğinin de rolü vardır (77).

2.7.6. *H. pylori* ve MALT Lenfoma

Mukoza ile ilişkili doku tümörü *H. pylori* enfeksiyonu ile doğrudan ilişkilendirilen ikinci tümöral oluşumdur. MALT lenfomalı hastaların %72-98'inde *H. pylori* pozitifliği saptanmış *H. pylori* eradikasyonu ile olguların %70-80'inde remisyon sağlanmıştır. Bu oranlar MALT lenfomanın *H. pylori* ile ilişkisinin delili olarak kabul edilmelidir (78, 79).

2.7.7. *H. pylori* ve Gastroözefageal Reflü Hastalığı (GÖRH)

H. pylori enfeksiyonu ile GÖRH arasındaki ilişki tam olarak bilinmemektedir. Bazı araştırmacılar GÖRH ve onun komplikasyonları konusunda *H. pylori*'nin koruyucu rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak bazıları ise bu bulguları doğrulamamıştır (80). Gastroözefageal reflü hastalarında yapılan çalışmalarda *H. pylori* enfeksiyonu prevalansı genel populasyona göre daha düşük bulunmuştur. Bu durumun nedeni kesin olarak bilinmemekle birlikte, *H. pylori* enfeksiyonunun mide pH'sını yükseltmesine bağlı olduğu düşünülmektedir (81, 82).

2.7.8. Gastrointestinal Sistem Dışı Hastalıklar

H. pylori'nin diğer hastalıklarla ilişkisine yönelik yapılmış çok sayıda çalışma olmakla birlikte, kesin kanıtlar bulunamamıştır. Koroner kalp hastalığı, demir eksikliği anemisi, pernisiyöz anemi, otoimmün trombositopenik anemi, ürtiker, skleroderma, rozasea, Raynaud fenomeni, migren, diabetes mellitus, gıda alerjisi, tiroid *H. pylori* ile ilişkili olduğu ileri sürülen, fakat aralarındaki ilişki tam olarak açıklanamamış hastalıklardır (83, 84, 85).

2.8. Tedavi

H. pylori enfeksiyonunu tedavisindeki amaç mikroorganizmayı tamamen elimine etmektir. *H. pylori*'yi eradike etmek için farklı tedavi rejimleri kullanılmaktadır. Ancak bunların hiç biri optimal eradikasyon sağlamamaktadır (86). *H. pylori* eradikasyonunda metronidazol, klaritromisin, tetrasiklin, amoksisilin en sık kullanılan antibiyotiklerdir. Bunlardan başka florokinolon ve furazolidon dünya çapında yaygın olmayan kullanıma sahip antibakteriyellerdir. Antibiyotiklerle birlikte bizmut tuzları, H₂ antagonistleri ve PPI'leri gibi anti-ülser bileşikler de kullanılmaktadır (87). Maastricht III Konsensus Raporunda eradikasyon oranı %80 olan rejimler kabul edilebilir tedavi olarak gösterilmiştir (88). Ancak klinik uygulamada eradikasyon oranı çoğu standart tedavi rejiminde %80'den azdır ve bu oranın son yıllarda azaldığı bildirilmektedir (89). Antimikrobiyal ilaç direnci tedavinin etkinliğini düşüren en önemli nedenlerden biridir (90).

2.8.1. *H. pylori* Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler

2.8.1.1. Klaritromisin

Bakteriyel RNA'ya bağımlı protein sentezini inhibe eden genellikle bakteriyostatik etkili bir makrolittir. Asite dayanıklıdır. Beraberinde PPI kullanımı etkisini artırır (53).

Etkisini 70S bakteriyel ribozomun 50S alt biriminde bir bölgeye bağlanarak göstermektedir. Bu alan ribozomun 50S alt ünitesinin peptidil-tRNA bağlayan bölgesinde lokalize olup, antibiyotiğin buraya bağlanmasının peptidil-tRNA translokasyonunu engellediği düşünülmektedir (91).

Klaritromisine karşı direnç gelişiminde değişik mekanizmaların rolü vardır; bakteri hücre duvarının impermeabilitesi, hedef bölge değişikliği ile ilaç inaktivasyonu, antibiyotiğin aktif pompa sistemiyle dışarı atılması en sık gözlenenlerdir (91)

H. pylori klaritromisin direncinin en sık nedeni 23S rRNA geninin peptidil transferaz bölgesinde yer alan 2142 (A2142G ve A2142C) ve 2143 (A2143G) nükleotidlerdeki mutasyonlardır (92).

2.8.1.2. Tetrasiklin

Ribozomun 30S alt birimine bağlanarak etki gösteren bakteriyostatik bir antibiyotiktir. Aminoasil tRNA'nın ribozoma bağlanmasını engelleyerek protein sentezini inhibe etmektedir (91).

Birçok bakteride tetrasiklin direnci hem aktif pompa proteinlerin aşırı ekspresyonundan hem de ribozomal koruyucu proteinlerdeki değişikliklerden ileri gelmektedir.

H. pylori'de tetrasikline direnç mekanizması ribozoma bağlanma bölgesinde bitişik üç nükleotiddeki yapısal değişime bağlıdır (AGA926-928_TTC). Bu üç bazda oluşan mutasyon yüksek düzeyde dirence neden olurken, eğer mutasyon bu nükleotidlerden bir ya da ikisinde olursa direnç düşük düzeyde olmaktadır (1, 93).

2.8.1.3. Levofloksasin

Levofloksasin *gyrA* geni tarafından kodlanan DNA giraz enziminin A subünitesini bloke ederek etki göstermektedir. Etkileri bakterisidaldir. Levofloksasinin bakteri hücreindeki temel hedefi DNA-giraz (topoizomeraz II) enzimidir (91).

Bakterilerde levofloksasine karşı plazmid yoluyla direnç gelişimi gösterilmemiştir. Kromozomal mutasyonla direnç gelişebilmekte ve iki farklı mekanizma ile ortaya çıkabilmektedir. Levofloksasine direnç hedef enzimde oluşan *gyrA* genindeki mutasyonlara bağlı olarak gelişir (94). Diğer bir direnç ise kromozomal mutasyonlar sonucu dış membran porinlerinde oluşan değişiklikler nedeniyle ilacın hücre içine girişinin azaltılmasıdır (91).

2.8.1.4. Metronidazol

Bakterisidal etkili bir nitroimidazol türevidir.

İlacın duyarlı mikroorganizmaların hücre içine girmesinden sonra nitro grubu bakterilerdeki nitroredüktaz enzimi tarafından sitoplazmada indirgenerek toksik ara metabolitlere veya serbest radikallere dönüştürülür. Oluşan bu toksik ara ürünler ve/veya serbest radikaller hücre DNA'sına bağlanıp hasar oluşturarak hücre ölümüne yol açarlar (91).

İlacın bakteri hücrelerine girişi ve etkinliği pH'dan etkilenmez. Tedavide tek başına kullanıldığında etkili olmayıp ikinci bir antimikrobik ajan ve / veya bizmut tuzları ile birlikte verildiklerinde etkinlikleri artar.

H. pylori'de metronidazole karşı primer ve sekonder direnç oranları yüksektir (53). Metronidazol direnci metronidazolün bakteri içinde aktif toksik şekle geçmesini sağlayan nitroredüktaz enzimini kodlayan *rdxA* geninde oluşan mutasyon sonucu oluşmaktadır. Bunun dışında *frxA* ve *fdxB* genlerindeki mutasyonlar da sorumlu tutulmaktadır (95).

2.8.1.5. Amoksisilin

Bakterilerde hücre duvarı sentezinde görev alan ve penisilin bağlayan proteinler (PBP) olarak tanımlanan transpeptidazlar, karboksipeptidazlar ve endopeptidazlara bağlanarak

peptidoglikan sentezini inhibe eden bakterisidal etkili antibiyotiktir (1, 93). Asite dayanıklı semisentetik bir penisilindir. İn-vitro şartlarda *H. pylori* suşları amoksisiline karşı oldukça duyarlıdır. Ancak in-vivo şartlarda tek başına kullanıldığında etkinlik düşmektedir. Bu zıtlığın oral yolla kullanılan antibiyotiğin midenin asidik pH'sında kısmen inaktive edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (96).

H. pylori suşlarında amoksisilin etkili olabilmesi için hücrenin dış membranından geçebilmesi, hedef bölgeye bağlanabilmesi, beta-laktamazlardan etkilenmemesi gerekir. Direnç gelişiminde beta-laktamaz enzimlerinin rolü tartışmalıdır (91).

H. pylori'de amoksisiline karşı direnç gelişimi nadirdir. pbp-1A'da oluşan nokta mutasyonları sonucu amoksisilin direnci gelişir (1).

2.8.2. Tedavi Rejimleri

H. pylori'nin eradikasyonu için 1990'lı yıllarda tekli tedavi rejimleri tercih ediliyordu, daha sonra üçlü ve dördü tedaviler kullanılmaya başlanmıştır (97).

H. pylori enfeksiyonunun eradikasyon endikasyonları ve bunun nasıl yapılacağı ilk kez 1997 yılında Avrupa *Helicobacter pylori* Çalışma Grubu (EHPSG) tarafından, sonuncusu 2005'te yapılan uzlaşma toplantıları ile Maastricht III- 2005 Konsensus Raporu adıyla yayınlanmıştır (8).

Üçlü tedavi ile 1993 yılında çok iyi sonuçlar elde edilmiştir. Daha sonra üçlü tedavi rejimi dünya çapında en sık kullanılan rejim olmuştur (98). Son kılavuzlarda üçlü tedavinin süresi 14 gün olarak önerilmektedir (88). Tedavideki başarısızlığın temel nedeni antimikrobiyal dirençtir (8). Tedaviye yanıtı belirlemede ilaç direnci ve hastanın tedaviye uyumu çok önemlidir. Klaritromisin direncinin %15-20 olduğu bölgelerde 3'lü tedavi ile eradikasyon oranları genellikle %80'den daha düşük olmaktadır (99).

Klaritromisin direncinin fazla olduğu yerlerde PPI, amoksisilin ve metronidazolden oluşan alternatif bir üçlü tedavi önerilmektedir. Ancak bu tedavinin etkinliği metronidazol direncinin yüksek olduğu bölgelerde düşük bulunmuştur (87).

Bizmut içeren 4'lü tedavi (10-14 gün) hem klaritromisin hem de metronidazole direnç artmasına rağmen güvenli eradikasyon sağlayan birinci basamak tedavi içerisinde bir seçenektir (11). Bir meta analizde PPI, bizmut, tetrasiklin ve metronidazol içeren 4'lü tedavi rejimi ile eradikasyon oranının %80'in üzerinde olduğu saptanmıştır (100).

Maastricht III-2005 Konsensus Raporunda önerilen tedavi seçenekleri Tablo 1’de belirtilmiştir.

Tablo 1. Maastricht III (2005) Gelişmiş Dünya Ülkelerindeki Maastricht III Uzlaşma Raporu Önerileri Tedavi Seçenekleri

Birinci Basamak Tedavi	
PPI+Klaritromisin+Amoksisilin (veya Metronidazol)	Klaritromisin direnci %20’den az ise
PPI+Klaritromisin+Metronidazol	Metronidazol direnci %40’dan az ise
Dörtlü tedavi (PPI+Bizmut+Metronidazol+Tetrasiklin/Furazolidon)	Bizmut varlığında
İkinci Basamak Tedavi	
En iyi ikinci basamak tedavi (PPI+Bizmut+Metronidazol+Tetrasiklin/Amoksisilin)	Bizmut tabanlı dörtlü tedavi
En iyi ikinci basamak tedavi (PPI+Amoksisilin/Tetrasiklin+Metronidazol)	Bizmut yokluğunda
Kurtarma Tedavisi	
	Antibiyotik duyarlılık testi

Maastricht III doz içermez (88).

PPI+Levofloksasin+Amoksisilin ikinci basamak tedavilerde en ümit verici kombinasyondur (101). Çok sayıda çalışma üçlü tedavide klaritromisin yerine levofloksasin kullanılmasının iyileşme oranlarını yaklaşık %10 arttırdığını göstermiştir (102). Ancak *H. pylori*’nin levofloksasine direnci varlığında bu rejimin etkinliğinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir ve eradikasyon oranındaki azalma %40’tan fazladır (103). Levofloksasine primer direnç düşük olsa da, hızla direnç kazanıldığı gösterilmiştir (104).

Rifabutin ve furazolidon içeren rejimler de *H. pylori* eradikasyonunda önerilmiştir. Ancak levofloksasin içeren rejimlerle, bu ilaçlara göre çok daha etkili sonuçlar alınması ve bu ilaçların yan etkilerinin daha fazla olması nedeniyle eradikasyon tedavisinde kullanılmamaktadır (12).

Sonuç olarak, ampirik *H. pylori* tedavi stratejisi son kılavuzlara göre birinci ve ikinci basamak tedavi kullanımını içermelidir (88).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma Grubu

Temmuz 2009-Mart 2010 tarihleri arasında yapılan bu çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı (BD) polikliniğine dispeptik şikayetlerle başvuran ve klinik muayenede endoskopi endikasyonu alan 187 hastaya ait gastrik biyopsi örneğinden izole edilen 49 suş dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan hastalar endoskopik tanılarına göre iki gruba ayrıldı. Gastrik-duodenal ülser veya gastrik-duodenal mukozal hasarı olan hastalar (Grup A), herhangi bir gastroduodenal mukozal lezyonu olmayan sağlam mukozalı hastalar (Grup B). Araştırma bu tanı grupları üzerinden karşılaştırılmalı olarak yapıldı.

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Otoklav (Kermanlar, Türkiye), etüv (Memmert, Almanya), desikatörler, su banyosu, ışık mikroskobu, hassas terazi (Sartorius), vorteks (Heidolph), santrifüj, mikrosantrifüj, pH ölçer (Hanna), mcfarland cihazı, plastik petri kapları, otomatik pipetler, otomatik pipet uçları, enjektörler, çeşitli tüpler, manyetik karıştırıcı, balon joje, penset, lam, deiyonize su cihazı, distile su cihazı, -20°C (Philco) ve -80°C'lik (Nuair) derin dondurucular, vakum motoru, mikroaerofilik gaz içeren tüp

3.1.3. Kullanılan Besiyerleri

a. Brucella Agar (HIMEDIA, INDIA)

H. pylori izolasyonu ve antibiyogram testleri için kullanıldı.

Casein enzymic hydrolysate	10.0 gr
Peptic digest of animal tissue	10.0 gr
Yeast extract	2.0 gr
Dextrose	1.0 gr
Sodium Chloride	5.0 gr
Sodium Bisulphite	10.0 gr
Agar	15.0 gr
pH: 7.0 ± 0.2	

Brucella Agar Besiyerinin Hazırlanması

43 gram toz besiyeri 1000 ml distile suda çözüldü. Otoklavda 121°C'de 15 dak steril edildi. 45°C'ye soğutularak %5 koyun kanı veya insan kanı ilave edildi. Hemen ardından 10 mg/L vankomisin(sigma), 5 mg/L trimetoprim (sigma), 1 mg/L amfoterisin B ilave edildi. Daha sonra besiyeri petri kutularına döküldü.

b. Brucella Broth (CRITERION, ABD)

H. pylori suşlarının saklanması için kullanılmak üzere hazırlandı.

Casein Peptone	10.0 gr
Animal Tissue Peptone	10.0 gr
Sodium Chloride	5.0 gr
Yeast Extract	2.0 gr
Dextrose	1.0 gr
Sodium Bisulphite	0.1gr
pH: 7.0 ± 0.2	

Brucella Broth Saklama Besiyerinin Hazırlanması

28 gram toz besiyeri 1000 ml distile suda çözüldü. %20 gliserol ilavesinden sonra otoklavda 121°C'de 15 dak. steril edildi. Hazırlanan besiyeri steril tüplere 400µl olarak dağıtıldı.

3.1.4. Kullanılan Kimyasallar

Urea Agar Base (Christensen), trimetophrim (sigma), vancomycin (sigma), amphotericin B (sigma), metronidazole (sigma), amoxicillin (sigma), tetracycline (sigma), levofloxacin (sigma), Dimetil Sülfoksit (DMSO)

3.1.5. Antibiyotik Solüsyonlarının Hazırlanması

Amoksisilin Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS) (pH 6.0)'de, metronidazol DMSO içerisinde, tetrasiklin suda, levofloksasin ½ hacim su, sonra eriyinceye kadar 0.1 mol/L NaOH içerisinde çözüldü ve son konsantrasyonları; 0.125-128 µg/ml arasında olacak şekilde besiyerlerine eklendi.

Klaritromisinin etken maddesi temin edilemediği için E-test yöntemi kullanıldı.

3.2. Metod

3.2.1. Çalışma Planı ve Numunelerin Toplanması

Çalışmaya başlamadan önce Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu onayı alındı. Gastroenteroloji Bilim Dalı (BD) polikliniğine dispeptik şikayetlerle başvuran, rutin muayene ve tetkikler neticesinde endoskopi endikasyonu alan Grup A ve Grup B tanısı almış hastalar çalışmaya dahil edildi. Üniversite hastanesinin etik komitesince hazırlanan aydınlanmış onam formu hastalara sunuldu.

Klinik muayene ve değerlendirme sonucu Grup A ve Grup B tanısı alan her bir hastadan ikisi antrum ve ikisi korpus bölgelerinden olmak üzere dört adet biyopsi örneği alındı. Örneklerden biri üreaz testi için kullanılırken diğer örnekler kültür için Brucella agara ekildi ve 2 örnek saklandı. Direkt mikroskopi için biri yedek olmak üzere iki ayrı

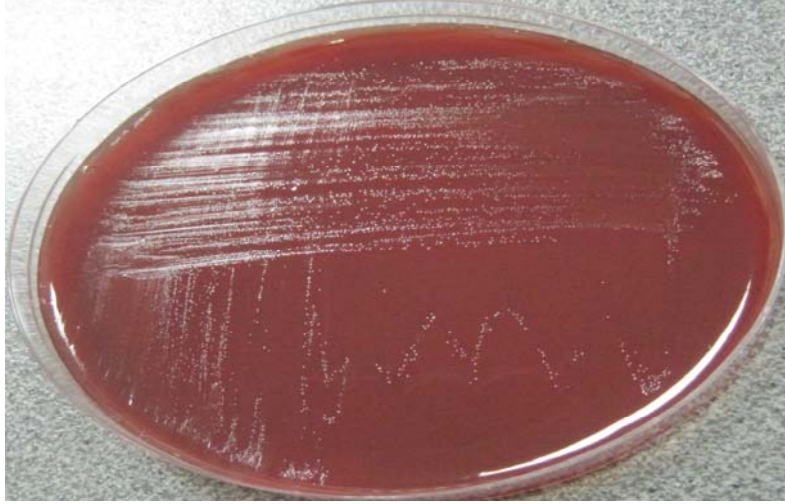
preparat hazırlandı. Üreaz, direkt mikroskopi ve kültür pozitif olan hastalar değerlendirilmeye alındı. Üreyen *H. pylori* suşları antibiyogramı yapılmak üzere %20 gliserol içeren Brucella broth besiyerinde saklanarak -80°C'deki derin dondurucuya kaldırıldı.

3.2.2. Mikrobiyolojik İnceleme

3.2.2.1. Kültür

H. pylori'nin kültürü için Brucella agar kullanıldı. Besiyerine %5 koyun kanı veya insan kanı, 1mg/L amfoterisin B, 5 mg/L trimetoprim ve 10 mg/L vankomisin ilave edildi. Serum fizyolojik içinde taşınan biyopsi örnekleri steril penset yardımı ile mukuslu tarafı besiyerine sürülerek ekim yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri desikatör içine yerleştirildikten sonra desikatörün içindeki hava bir vakum ile boşaltıldı ve içine %5 O₂, %10 CO₂, %85 N₂'tan oluşan gaz karışımı doldurularak 37°C'de 5-7 gün süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda kültürler *H. pylori* kolonileri varlığı açısından değerlendirildi. Gram negatif, üreaz, katalaz ve oksidaz pozitif olan bakteriler *H. pylori* olarak belirlendi.

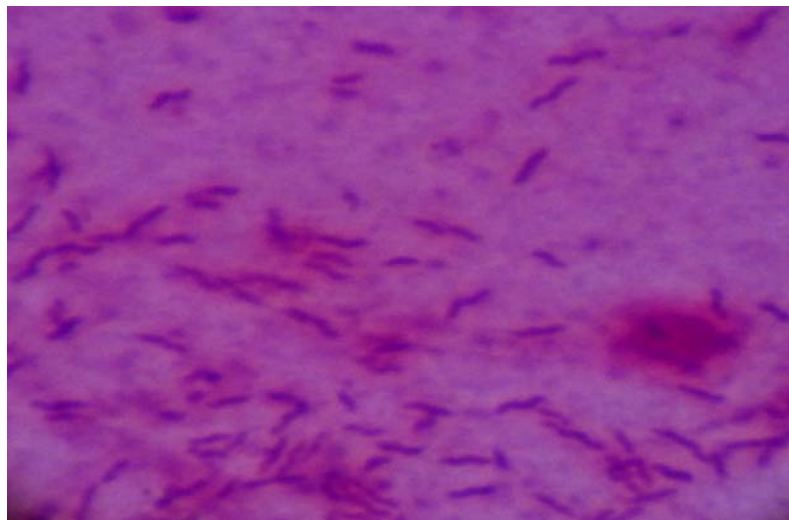
Üreyen *H. pylori* kolonilerinden biri alınarak çoğaltıldı. 1-2 petriden toplanan bakteriler 1.5 ml'lik bir ependorfta %20 gliserol içeren 400 µl Brucella broth içerisinde süspanse edildi. %96'lık etanol içerisine bir miktar kuru buz atıldı ve bakteri süspansiyonunu içeren ependorf bu alkole batırılarak hızlı bir şekilde donması sağlandı. Donan bu süspansiyon -80°C'de saklandı.



Şekil 1. Kültürde saf olarak üreyen *H. pylori*'lerin oluşturduğu şeffaf, yuvarlak, konveks ve saydam kolonilerin görünümü

3.2.2.2. Direkt Mikroskopi

Kültürü yapılan gastrik biyopsi örneği penset yardımı ile mukuslu yüzey altta kalacak şekilde steril iki ayrı lama sürülerek preparatlar hazırlandı. Preparatlardan biri sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere boyasız olarak saklandı, diğeri ise Gram boyama yöntemi ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi. Preparatlarda mukus tabakası içerisine yerleşmiş Gram negatif, kıvrık, martı kanadı şeklinde bakterilerin tespit edilmesi durumunda *H. pylori* pozitif olarak değerlendirildi.



Şekil 2. Gastrik biyopsi örneklerinden hazırlanan preparatlarda *H. pylori*'lerin görünümü (Gram boyama x100)

3.2.2.3. Üreaz Testi

Üreaz testinde Urea agar base kullanıldı. Distile su içerisinde çözölen üre 121°C’de 15 dak otoklavlanarak steril edildi. İçine önceden hazırlanan ve filtreden geçirilerek steril edilen %40’lık üreden son konsantrasyon %2 olacak şekilde eklenerek steril plaklara döküldü. Bistüri yardımı ile besiyeri küçük parçalara ayrıldı. Parçalar steril bir penset yardımı ile lam üzerine aktarıldı. Biyopsi örnekleri bu besiyerine batırıldıktan sonra 37°C’de inkübe edildi. bir saat içerisinde rengin sarıdan pembeye dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

H. pylori izolatlarının metronidazol, tetrasiklin, amoksisilin ve levofloksasin duyarlılık testleri agar dilüsyon yöntemi ile klaritromisin ile E-test yöntemi ile yapıldı.

3.2.3.1. Agar Dilüsyon Yöntemi ile Metronidazol, Amoksisilin, Tetrasiklin, Levofloksasin Direncinin Tespit Edilmesi

Antibiyotik duyarlılık testinde bu çalışmada kullanılan metronidazol, amoksisilin, tetrasiklin ve levofloksasinin her biri için 0.125-128 µg/ml arasında 11 farklı konsantrasyon hazırlandı.

Stok besiyeri olarak %5 oranında insan kanı veya koyun kanı içeren 1 litre Brucella agar besiyeri kullanıldı. 121°C’de 15 dak otoklavlanarak steril edilen besiyeri 50°C’ye ayarlanmış su banyosuna konuldu. Her bir petri için besiyerinden cam pipetle 20 ml alındı sonra 50°C’deki su banyosu içerisinde bulunan üzerinde antibiyotiğin adı ve seri sulandırma numarası yazan 50’lik falkon tüplerine aktarıldı.

Çalışmada kullanılan metronidazol, amoksisilin, tetrasiklin ve levofloksasinin her bir dilüsyonu için gerekli olan miktar $M_1.V_1=M_2.V_2$ formülünden hesaplandı ve 50’lik falkon tüplerine ilave edildi. Bu şekilde hazırlanan falkon tüplerindeki besiyeri üzerinde antibiyotiğin adı ve seri sulandırma numarası yazan 90 mm’lik petri kaplarına döküldü.

Test edilecek her suş için serum fizyolojik (SF) içinde McFarland 2’ye göre hazırlanan bakteri süspansiyonundan 3 µl alınarak Brucella agar test plaklarına inoküle edildi.

Her suşda üreme kontrolünü yapmak için antibiyotik içermeyen %5 insan kanlı Brucella agar plaklarına 2 McFarland bulanıklıktaki bakteri süspansiyonundan 3 µl inokülasyon yapıldı.

Ekim yapılan plaklara mikroaerofilik ortam sağlayan, özel olarak hazırlanmış %5 O₂, %10 CO₂, %85 N₂ gaz karışımı ile muamele edildi. Daha sonra 37°C sıcaklıkta 72 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda plaklarda gözle görülür koloni oluşumu not edilerek her suş için çalışmada kullandığımız metronidazol, tetrasiklin, amoksisilin, levofloksasin antibiyotiklerinin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri okundu. Üreme görülmeyen son dilüsyonlar MİK değeri olarak belirlendi. Metronidazol, amoksisilin, levofloksasin, tetrasiklin, klaritromisin MİK sınır değerleri sırasıyla MİK>8µg/ml, MİK>0.5µg/ml, MİK>1µg/ml, MİK>2µg/ml, MİK≥1µg/ml olarak kabul edildi (105, 106, 107).



Şekil 3. Amoksisiline dirençli (MİK>0.5) dirençli hemolizsiz *H. pylori* kolonileri

3.2.3.2. E-Test Yöntemi ile Klaritromisin Direncinin Tespit Edilmesi

Klaritromisin duyarlılığını belirlemek için E-test yöntemi kullanıldı.

Daha önce midenin antrum ve korpus kısımlarından izole edilen Brucella agar besiyerinde üretilip Brucella broth besiyerinde saklaması yapılan *H. pylori* suşları tekrar çoğaltıldı. Üreyen her suş için SF içinde 2 McFarland bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonu eküvyon çubuğuyla antibiyotiksiz, % 5 koyun kanlı veya insan kanlı

Brucella agar besiyerinin yüzeyine ekildi. Kuruması için bir süre beklenildi. Ardından klaritromisin E-test şeritleri plaklara yerleştirilip plaklar 72 saat süre ile 37°C'de mikroaerofilik koşullarda inkübe edildi. Üç gün sonunda MİK değeri $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ bulunan *H. pylori* suşları klaritromisine dirençli kabul edildi (108).



Şekil 4. Klaritromisine dirençli (MİK ≥ 1) hemolizsiz *H. pylori* kolonileri

3.2.4. İstatistiksel Analizler

Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ki kare analizi kullanıldı. Kültür pozitifliği altın standart alındığında mikroskopi ve üreaz için sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer (PPV), negatif prediktif değer (NPV) hesaplandı. Ölçümle elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma, sayımla elde edilen veriler sayı (%) olarak ifade edildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Temmuz 2009-Mart 2010 döneminde çalışmaya alınan 187 hastanın 113'ü (%60.4) kadın, 74'ü (%39.6) erkekti. Yaşları 17-83 arasında olup yaş ortalaması 38.3 ± 15.7 idi.

Çalışma grubuna alınan vakaların endoskopik tanıları; 187 hastanın 98'i (%52.4) Grup A, 89'u (%47.6) Grup B şeklindeydi.

Direkt mikroskopik inceleme ile 91 hastada (%48.7), üreaz ile 45 hastada (%24.1), kültür ile 73 hastada (%39.0) *H. pylori* pozitif bulundu.

Çalışmaya alınan erkek hastalarda mikrobiyolojik testlerden herhangi birisiyle *H. pylori* tespit edilme oranı %48.6, kadın hastalarda ise %48.7 olarak belirlendi ve bu oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Çalışma grubuna dahil edilen hastalarda mikrobiyolojik testlerden herhangi birisiyle *H. pylori* tespit edilme oranı, yaşı 40'ın altında olanlarda %50.9, yaşı 40'ın üzerinde olanlarda ise %45.6 olarak belirlendi ve bu oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Çalışmaya alınan ve Grup A tanısı almış 98 hastada mikrobiyolojik testlerden herhangi birisiyle *H. pylori* tespit edilme oranı %45.9, Grup B tanısı konmuş 89 hastada ise %31.5 olarak belirlendi ve bu oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0.043$).

Kültür pozitifliği altın standart alındığında direkt mikroskopinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %84.2, pozitif prediktif değeri %80.2, negatif prediktif değeri %100 bulundu. Kültür sonuçlarına göre üreaz testinin duyarlılığı %52.1, özgüllüğü %93.9, pozitif prediktif değeri %84.4, negatif prediktif değeri %75.4 olarak bulundu.

Çalışmaya alınan 187 hastanın 73'ü kültürde üretilbildi. *H. pylori* kültür pozitif 73 suşun 49'u tekrar saf kültür şeklinde çoğaltılabildi. Elde edilen *H. pylori* suşları ile yapılan antibiyotik duyarlılık çalışması sonucunda bulunan değerler tablo 2'de gösterildi.

Tablo 2. Çalışmada elde edilen *H. pylori* suşları ile yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları

İlaçlar	Duyarlı		Dirençli	
	Sayı	%	Sayı	%
Metronidazol	29	59.2	20	40.8
Amoksisilin	46	93.9	3	6.1
Tetrasiklin	49	100	0	0.0
Levofloksasin	29	59.2	20	40.8
Klaritromisin	39	79.6	10	20.4

Bu çalışma sonuçlarına göre direnç oranları sınıflandırıldığında; metronidazol'e %40.8, levofloksasin'e %40.8, klaritromisin'e %20.4, amoksisiline %6.1 direnç saptandı. Tetrasikline karşı dirençli *H. pylori* suşu tespit edilemedi.

Yapılan çalışmada yaş aralıklarında istatistiksel analiz yapacak kadar yeterli sayıyı sağlayabilmek için yaş grupları 40 yaş altı (n=25) ve 40 yaş üzeri (n=24) olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel analizde anlamlı bir direnç farkı bulunamadı (p>0.05). Yaş gruplarına göre antibiyotik dirençleri tablo 3'te gösterildi.

Tablo 3. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 *H. pylori* suşunun yaş gruplarına göre antibiyotik dirençleri

	^a Met		^b Amx		^c Tet		^d Lev		^e Cla	
	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%
40 yaş altı (n=25)	10	40.0	0	0.0	0	0.0	7	28.0	4	16.0
40 yaş üzeri (n=24)	10	41.7	3	12.5	0	0.0	13	54.2	6	25.0
Toplam (n=49)	20	40.8	3	6.1	0	0.0	20	40.8	10	20.4

^aMet; metronidazol

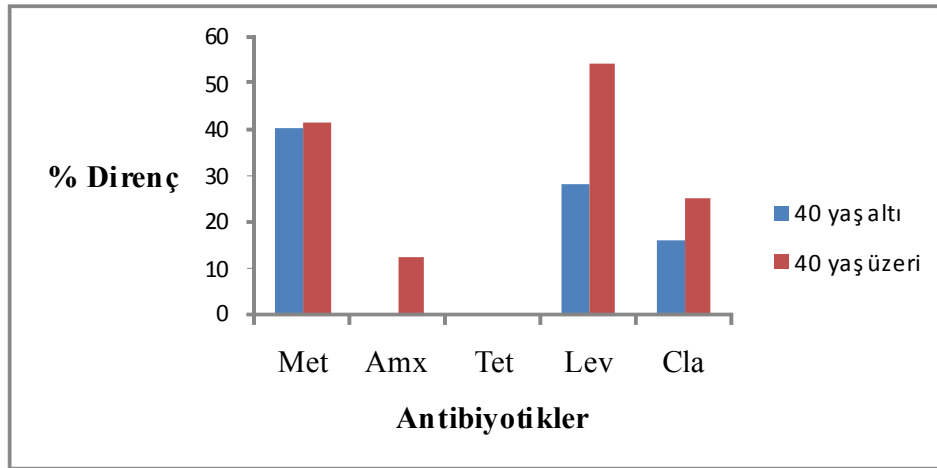
^bAmx; amoksisilin

^cTet; tetrasiklin

^dLev; levofloksasin

^eCla; klaritromisin

R; direnç



Şekil 5. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 *H. pylori* suşunun yaş gruplarına göre antibiyotik dirençleri

Çalışmaya dahil edilen hastaların 28'i kadın, 21'i erkek idi. Hastaların cinsiyetleri ile antibiyotiklere olan dirençler arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). Cinsiyete göre antibiyotik dirençleri tablo 4'te verildi.

Tablo 4. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 *H. pylori* suşunun cinsiyete göre antibiyotik dirençleri

	^a Met		^b Amx		^c Tet		^d Lev		^e Cla	
	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%
Kadın (n=28)	11	39.3	1	3.6	0	0.0	10	35.7	7	25.0
Erkek (n=21)	9	42.9	2	9.5	0	0.0	10	47.6	3	14.3
Toplam (n=49)	20	40.8	3	6.1	0	0.0	20	40.8	10	20.4

^aMet; metronidazol

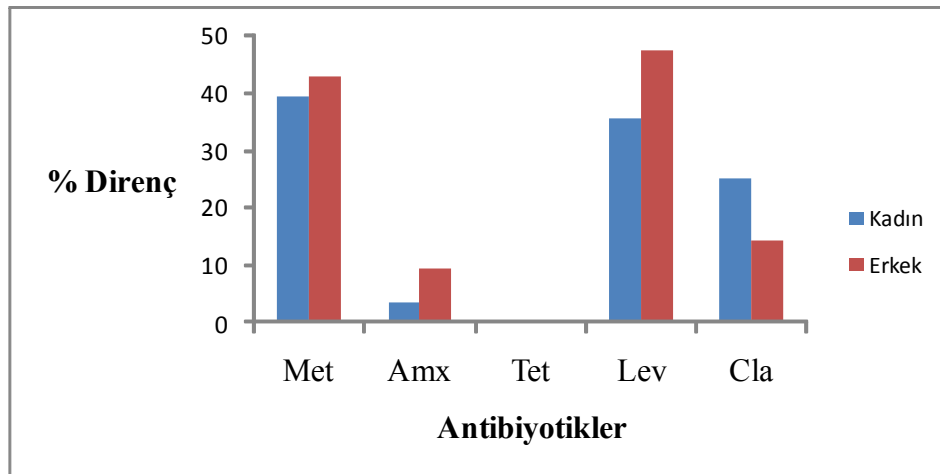
^bAmx; amoksisilin

^cTet; tetrasiklin

^dLev; levofloksasin

^eCla; klaritromisin

R; direnç



Şekil 6. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 *H. pylori* suşunun cinsiyete göre antibiyotik dirençleri

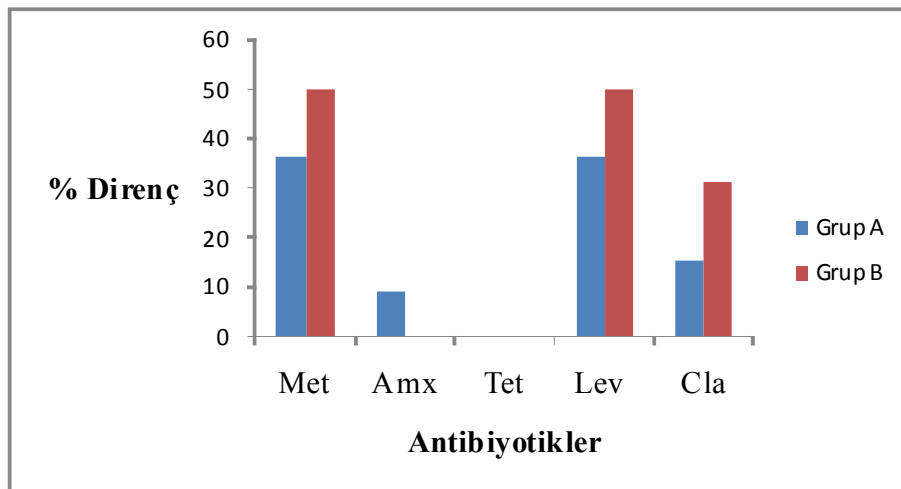
Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 hastanın 33'ü Grup A, 16'sı Grup B şeklindeydi. Hastaların endoskopik tanıları ile ilaçlara karşı geliştirdikleri direnç arasında anlamlı fark görülemedi ($p>0,05$). Grup A ve Grup B'ye göre antibiyotik dirençleri tablo 5'te verildi.

Tablo 5. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 *H. pylori* suşunun Grup A ve Grup B'ye göre antibiyotik dirençleri

	^a Met		^b Amx		^c Tet		^d Lev		^e Cla	
	R		R		R		R		R	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
*Grup A (n=33)	12	36.4	3	9.1	0	0.0	12	36.4	5	15.2
**Grup B (n=16)	8	50.0	0	0.0	0	0.0	8	50.0	5	31.3
Toplam (n=49)	20	40.8	3	6.1	0	0.0	20	40.8	10	20.4

*Grup A; Gastrik-duodenal ülser veya gastrik duodenal mukozal hasarı olan hastalar
 **Grup B; Herhangi bir gastroduodenal mukozal lezyonu olmayan sağlam mukozalı hastalar

^aMet; metronidazol ^bAmx; amoksisilin ^cTet; tetrasiklin ^dLev; levofloksasin
^eCla; klaritromisin R; direnç



Şekil 7. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 49 *H. pylori* suşunun Grup A ve Grup B'ye göre antibiyotik dirençleri

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda Doğu Karadeniz Bölgesinde dispeptik yakınmaları olan hastaların %48.7'sinde Gram boyama ile *H. pylori*'nin gastrik kolonizasyonu gösterilmiştir. Aydın ve ark'nın (109) 1993'te aynı bölgede yaptığı çalışmada bu oran %73.80 iken Kaklıkkaya ve ark'nın (43) yine bu bölgede yaptıkları çalışmada bu oran %64.64 olarak tespit edilmiştir. Bu üç çalışmanın bulguları göz önüne alındığında son yıllarda Doğu Karadeniz Bölgesi'nde *H. pylori* pozitifliğinde bir azalma olduğu görülmektedir. Nijerya'da yapılan bir çalışmada %77.5 mikroskopi pozitifliği elde edilirken (110) Almanya'da yapılan bir çalışmada %30 gibi düşük bir oran bulunmuştur (111). *H. pylori* enfeksiyonu dünyanın her yerinde sık olarak karşımıza çıkmakla birlikte coğrafik varyasyonlar da göstermektedir (112). Çeşitli bölgelerde farklı sonuçlar elde edilmesi sosyoekonomik durum, hijyen koşulları, etnik grup ve ırk gibi bazı faktörlerin enfeksiyonun yaygınlığını etkilediğini düşündürmektedir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların tümünün mide biyopsi örneklerinden yapılan kültürde %39 oranında *H. pylori* üretilmiştir. Mikroskopisinde *H. pylori* tespit edilen biyopsilerden yapılan kültürde bu mikroorganizmayı üretme başarıımız %80.21 olarak belirlenmiştir. Aydın ve ark (109) tarafından yapılan çalışmada mikroskopisi pozitif olarak tespit edilen biyopsilerdeki kültür başarıları %80.65 olarak tespit edilmiş, Kaklıkkaya ve ark'nın yaptığı çalışmada bu oran %60.98 olarak bulunmuştur (43).

Çalışmamızın tamamına yakın bölümünde insan kanı, az bir bölümünde ise koyun kanı kullanıldı ve koyun kanı kullanılan besiyerleri ile insan kanı kullanılanlar arasında *H. pylori* üretimi açısından önemli bir fark görülmedi. Yapılan bir çalışmada da taze kan ilave edilerek hazırlanan besiyerinde yapılan *H. pylori* üretimi bizim sonuçları destekler niteliktedir (101).

H. pylori zor üreyen bir bakteridir. Üretilmesi için özel atmosferik koşullara ve zengin besiyerine ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda Brucella agar ve Müeller-Hinton agar kullanıldı. *H. pylori*'nin üremesini desteklemesi açısından Brucella agar besiyeri Müeller-Hinton'a göre daha uygun bulundu. Çalışmamızda mikroaerofilik şartları sağlamak amacı

ile Habaş A.Ş. 'nde hazırlanmış olduğumuz gaz karışımını kullandık ve bu sistemin *H. pylori* üretimi için mikroaerofilik ortam yaratan ticari kitler kadar başarılı olduğunu tespit ettik.

Çalışmamızda mide biyopsi örneklerinden izole edilen *H. pylori*'nin metronidazol, amoksisilin, tetrasiklin, levofloksasin, klaritromisine direncini belirlemeyi amaçladık.

Çalışma grubumuz 113'ü (%60.4) kadın, 74'ü (%39.6) erkek olmak üzere toplam 187 hastadan oluşmaktadır. Bu hastaların 98'i (%52.4) Grup A, 89'u (%47.6) Grup B endoskopik tanısı almıştı.

Çalışmaya alınan erkek hastalarda mikrobiyolojik testlerden herhangi birisiyle *H. pylori* tespit edilme oranı %48.6, kadın hastalarda ise %48.7 olarak belirlendi ve bu oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Bizim çalışmamız cinsiyetin *H. pylori* enfeksiyonu için bir risk faktörü olmadığını gösteren çalışmalarını desteklemektedir (113).

Çalışma grubuna dahil edilen hastalarda mikrobiyolojik testlerden herhangi birisiyle *H. pylori* tespit edilme oranı, yaşı 40'ın altında olanlarda %50.9, yaşı 40'ın üzerinde olanlarda ise %45.6 olarak belirlendi.

Çalışmaya alınan ve Grup A tanısı almış 98 hastada mikrobiyolojik testlerden herhangi birisiyle *H. pylori* tespit edilme oranı, %45.9, Grup B tanısı konmuş 89 hastada ise %31.5 olarak belirlendi ve bu oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0.043$).

Biyopsi örnekleri histokimyasal ve immünokimyasal boyalarla boyanarak değerlendirilir. Bu amaçla Gram, Warthin-Starry, hematoksilen-eozin, Giemsa, akrinin oranj ve fuksin boyası kullanılabilir. Direkt mikroskopide kullanılan boyama yönteminin duyarlılığı da sonuçlar arasında farklılık yaratabilir. Çalışmamızda duyarlılığının yüksek olması, kolay ve hızlı uygulanabilmesi ve ucuz olması neden ile Gram boyama yöntemini kullandık. Yapılan bir çalışmada bu boyama yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünün %100'e yakın olduğu belirtilmiştir (113).

Kültür pozitifliği altın standart test alındığında üreaz testinin sensitivitesi %52.1, spesifitesi %93.9, pozitif prediktif değeri %84.4, negatif prediktif değeri %75.4 olarak bulundu. Araştırmamızda Gram boyama ile pozitif sonuç elde edilen olgularda üreaz testiyle pozitif sonuç elde edilemedi. Bu sonuç *H. pylori*'nin dokularda az sayıda bulunmasına ve dağınık yerleşmesine ve dolayısıyla üreaz aktivitesinin az olmasına bağlı olabilir.

Kültür pozitifliği altın standart test alındığında biyopsi örneklerinde *H. pylori* tespiti için Gram boyamanın sensitivitesi %100, spesifitesi %84.2, pozitif prediktif değeri %80.2, negatif prediktif değeri %100 olarak tespit edildi. Çok sayıdaki çalışmada kültürde izolasyonun spesifitesinin %100 olmasına karşılık bizim çalışmamızda bu oran %84.2 olarak bulunmuştur. Kullanılan boyanın türü, incelemeyi yapan kişinin tecrübesi ve örneğin kalitesi sonuçların sensitivite ve spesifitesini önemli ölçüde etkilemektedir.

Çalışmaya alınan 187 hastanın 73'ü kültürde çoğaltılabildi. Bunun da 49'unun antibiyotik duyarlılık testi yapılabildi.

H. pylori'nin antibiyotiklere karşı duyarlılık derecesinin bilinmesi önemlidir. İn-vitro şartlarda çok sayıda antibiyotik bakteriye etkili bulunmuştur ancak gastrik mukozaya penetrasyonun zor olması ve ortam pH'sının düşük olması antibiyotiklerin klinik etkilerini sınırlamaktadır. *H. pylori* zor ve yavaş üreyen bir mikroorganizma oluşu nedeniyle, tedavide kullanılacak antibiyotikleri daha da seçici yapmaktadır. Antibiyotikler tek kullanıldıklarında etkilerini tam gösteremezler ve direnç gelişimi artar. Bu durum tedavide kombinasyonların gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır (114).

Metronidazol, anaerobik, jinekolojik ve paraziter enfeksiyon tedavilerinde kullanılmaktadır. Tek başına kullanıldığında orta seviyede eradikasyon sağlar. Çoğu hastada direnç gelişebildiği için kombinasyonlarda kullanılır. Metronidazole karşı farklı direnç oranları bildirilmiştir. Q. Sun ve ark %42.1 oranında (115), W.M. Wong ve ark %76 oranında (116), M. Romano ve ark %41.3 oranında (117), S. P. Thyagarajan ve ark %77.9 oranında (118), N. Roland ve ark (119) %6.8 oranında metronidazol direnci bildirmişlerdir. Ülkemizde Göral ve ark'nın yaptığı çalışmada %62.5 oranında (114), Kantarçeken ve ark (120) ise yaptıkları çalışmada %49 oranında, Engin ve ark (121) %38.6 oranında, Işıksal ve ark (122) %39, Hülagü ve ark (123) %9 oranında metronidazol direnci bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise %40.8 oranında metronidazole direnç bulundu. Bölgemizde ve ülkemizde metronidazolün çok yaygın kullanılması direnç oranının yüksek olmasına neden olmaktadır.

Klaritromisinin *H. pylori*'deki MİK değeri düşüktür. İlacın aktif metabolitleri *H. pylori* tedavisinde aktiftir ve bu şekilde etkili olur. Son zamanlarda klaritromisine direncin arttığını gösteren çalışmalar vardır. Q. Sun ve ark %18 oranında (115), W.M. Wong ve ark %71 oranında (116), M. Romano ve ark %45.8 oranında (117), S. P. Thyagarajan ve ark %44.7 oranında (118). N. Roland ve ark (119) %55.3 oranında direnç bildirmişlerdir. Ülkemizde Göral ve ark'nın yaptığı çalışmada %18.7 oranında (114), Kantarçeken ve ark

(120) ise yaptıkları çalışmada %9.8 oranında, Engin ve ark (121) %11.4 oranında, Işıksal ve ark (122) %24.5, Hülagü ve ark (123) %9, Özden ve ark (124) %56, Tüzün ve ark (125) %16.4 oranında klaritromisin direnci bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise %20.4 oranında klaritromisine direnç bulundu. Bu oran, dünya genelindeki klaritromisin antibiyotik direnç aralığında yer almaktadır.

H. pylori çoğunlukla in-vitro şartlarda amoksisiline duyarlıdır. *H. pylori*'nin tek başına eradikasyon oranı %20'nin altındadır. Bu nedenle kombine kullanılır. S. P. Thyagarajan ve ark %32.8 oranında (118), N. Roland ve ark (119) %14.4 oranında klaritromisin direnci bildirmişlerdir. W.M. Wong ve ark (116), Q. Sun ve ark (115) çalışmalarında amoksisiline direnç tespit edememişlerdir. Ülkemizde Göral ve ark'nın yaptığı çalışmada %9.4 oranında (114), Hülagü ve ark (123) %9 oranında amoksisilin direnci bildirmişlerdir. Kantarçeken ve ark (120), Engin ve ark (121) amoksisiline direnç tespit edememişlerdir. Bizim çalışmamızda ise %6.1 oranında direnç saptanmıştır. Bu oran dünya genelindeki direnç aralığından biraz daha yüksek bulundu. Bu bölgesel bir özellik olabilir. Özellikle alt ve üst solunum yolu enfeksiyonlarında amoksisilin yaygın kullanılması buna neden olabilir.

Tetrasiklin asit stabildir ve asit pH'da etkilidir. Tek başına *H. pylori* eradikasyonunda etkisizdir. Bu nedenle üçlü tedavide kullanılmaktadır. Tetrasikline karşı değişik direnç oranları bildirilmiştir. M. Romano ve ark %2 oranında, (117). N. Roland ve ark (119) %56 oranında direnç bildirmişlerdir. Bartoleme ve ark'ları tetrasikline direnç bulamamışlardır (126). Ülkemizde Göral ve ark'nın yaptığı çalışmada %9.4 oranında (114), Kantarçeken ve ark (120) ise yaptıkları çalışmada %3.9 oranında tetrasikline direnç bildirmişlerdir. Engin ve ark (121) tetrasikline direnç bulamamışlardır. Bizim çalışmamızda da tetrasikline direnç tespit edilmedi.

İn-vitro olarak *H. pylori*'ye etkili olan levofloksasin in-vivo olarak etkileri daha sınırlıdır. W.M. Wong ve ark %18 oranında (116), F. Perna ve ark (103) %30.3 oranında levofloksasine direnç bildirmişlerdir. Ülkemizde ve bölgemizde levofloksasin direnç oranları ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda %40.8 oranında levofloksasine direnç tespit edildi.

Çalışmamızda cinsiyet ile antibiyotik direnç arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi. Qinjuan ve ark'nın agar dilüsyon yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada metronidazol, klaritromisin ve amoksisilin dirençlerine bakıldı. Buldukları oranlarla cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edemediklerini

bildirmişlerdir (115). Ülkemizde Önder ve ark'nın *H. pylori*'nin antibiyotik direncini belirledikleri çalışmada cinsiyet ile antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edemediklerini bildirmişlerdir (127).

Çalışmamızda yaş ile antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Qinjuan ve ark'nın yapmış oldukları çalışmada da yaş ile antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (115).

Çalışmamızda Grup A ve Grup B ile antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Ülkemizde Önder ve ark yaptıkları çalışmada koydukları endoskopik tanı ile antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadıklarını bildirmişlerdir (127).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Hastanemize başvuran hastalarda *H. pylori* antibiyotik direnç oranlarının belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1. Çalışma grubuna dahil edilen 187 hastanın 98'i (%52.4) Grup A, 89'u (%47.6) Grup B endoskopik tanısı almıştı.
2. *H. pylori* tespitine yönelik gastrik biyopsi örneklerinde yapılan incelemelerde mikroskopik olarak %48.7, üreaz testinde %24.1, kültürde %39 pozitiflik saptandı.
3. Çalışmaya alınan erkek hastalarda mikrobiyolojik testlerden herhangi birisiyle *H. pylori* tespit edilme oranı %48.6, kadın hastalarda ise %48.7 olarak belirlendi ve bu oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi.
4. Çalışma grubuna dahil edilen hastalarda mikrobiyolojik testlerden herhangi birisiyle *H. pylori* tespit edilme oranı, yaşı 40'ın altında olanlarda %50.9, yaşı 40'ın üzerinde olanlarda ise %45.6 olarak belirlendi ve bu oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi.
5. Çalışmaya alınan ve Grup A tanısı almış 98 hastada mikrobiyolojik testlerden herhangi birisiyle *H. pylori* tespit edilme oranı %45.9, Grup B tanısı konmuş 89 hastada ise %31.5 olarak belirlendi ve bu oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0.043$).
6. Kültür pozitifliği altın standart test alındığında üreaz testinin sensitivitesi %52.1, spesifitesi %93.9, pozitif prediktif değeri %84.4, negatif prediktif değeri %75.4 olarak bulundu.
7. Kültür pozitifliği altın standart test alındığında biyopsi örneklerinde *H. pylori* tespiti için Gram boyamanın sensitivitesi %100, spesifitesi %84.2, pozitif prediktif değeri %80.2, negatif prediktif değeri %100 olarak tespit edildi.
8. Antibiyogramı yapılan 49 *H. pylori* suşunun antibiyotik direnç oranları; metronidazol için %40.8, amoksisilin için %6.1, levofloksasin için %40.8,

klaritromisin için %20.4 olarak bulundu. Tetrasikline dirençli *H. pylori* suşu tespit edilemedi.

9. Metronidazol, amoksisilin, levofloksasin, tetrasiklin, klaritromisin dirençlerinin yaş gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fark göstermediği tespit edildi ($p>0.05$).
10. Metronidazol, amoksisilin, levofloksasin, tetrasiklin, klaritromisin antibiyotik dirençlerinde cinsiyete bağlı istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi ($p>0.05$).
11. Grup A ve Grup B tanısı konmuş hastalardan izole edilen *H. pylori* suşlarında metronidazol, amoksisilin, levofloksasin, tetrasiklin ve klaritromisine istatistiksel olarak anlamlı bir direnç farkı görülemedi ($p>0.05$).

Öneriler;

1. Antibiyotik duyarlılık testi yapılan *H. pylori* suş sayısının artırılması çalışmanın güvenilirliğini artıracak yaş, cinsiyet ya da endoskopik bulgular ile antibiyotik dirençleri arasındaki bağlantı olup olmadığının daha iyi değerlendirilmesini sağlayacaktır.
2. *H. pylori* tedavisinde kullanılan diğer antibiyotikler için de antibiyotik duyarlılık testi yapılabilir.
3. Hastaların tedavi sonrası biyopsi örnekleri alınarak antibiyotik direnci ile klinik ve mikrobiyolojik tedavi başarısı arasındaki bağlantı araştırılabilir.

7. ÖZET

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

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

Gastrointestinal şikayetlerle KTÜ Farabi Hastanesi Gastroenteroloji kliniğine başvuran ve endoskopi endikasyonu alan 187 hastanın biyopsi örneklerinden izole edilen 73 (%39) suşun 49'unda antibiyotik duyarlılık testi yapıldı. Metronidazol, amoksisilin, tetrasiklin, levofloksasin dirençleri agar dilüsyon, klaritromisin direnci ise E-test yöntemi ile araştırıldı.

Gram boyama ile 187 biyopsi örneğinin %48.7'sinde mikroskopi pozitifliği gözlenirken örneklerin sadece %24.1'inde üreaz testi ve %39'unda kültür pozitifliği saptandı.

Agar dilüsyon yöntemi ile Tetrasikline karşı direnç görülmezken, metronidazol, amoksisilin, klaritromisin ve levofloksasine direnç oranları sırasıyla; %40.8, %6.1, %20.4, %40.8 olarak tespit edildi.

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

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, Antibiyotik direnci.

8. SUMMARY

Resistance Determination of *Helicobacter pylori* Strains Isolated From Patients Admitted to Karadeniz Technical University Faculty of Medicine's Gastroenterology Clinic to Clarithromycin, Tetracycline, Metronidazole, Amoxicillin And Levofloxacin

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

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

Antibiotic susceptibility testing was performed for 49 strains which were isolated from 187 biopsy samples from 73 patients with gastrointestinal complaints and endoscopy indication referred to KTU Farabi Hospital, gastroenterology clinic. Metronidazole, amoxicillin, tetracycline, levofloxacin resistance were determined by agar dilution, clarithromycin resistance was determined by the E-test method.

While 48.7% of 187 biopsy samples were positive in Gram stains only 24.1% were positive in urease test and culture positive rate was 39%.

No resistance was established to tetracycline in agar dilution method, while metronidazole, amoxicillin, clarithromycin and levofloxacin resistance rate were: 40.8%, 6.1%, 20.4%, 40.8% respectively.

Metronidazole, amoxicillin, tetracycline, levofloxacin, clarithromycin resistance and patient gender, age and endoscopic findings were not.

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

Keywords: *Helicobacter pylori*, Antibiotic resistance.

9. KAYNAKLAR

1. Gerritis, M.M., Vliet, A.H.M., Kusters, E.J. and Kusters, J.G.: *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: Molecular mechanism and clinical implications, *Lancet Infect Dis*, 6:699-709, 2006.
2. Toracchio, S. and Marzio, L.: Primary and secondary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated in central Italy during the years. *Dig and Liver Dis*, 35:541-545, 1998-2002, 2003.
3. Özçakır, O. ve Yılmaz, Y.A.: *Helicobacter pylori*'de antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Derg*, 38:75-79, 2007.
4. Robert, W., Frenck, Jr. and Clemens, J.: *Helicobacter* in the developing world. *Microbes and Infection*, 5:705-713, 2003.
5. Brown, L.M.: Epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev*, 22(2):283-297, 2000.
6. Kandulski, A., Selgrad, M. and Malferttheiner, P.: *Helicobacter pylori* infection: A clinical overview. *Dig and Liver Dis*, 40:619-626, 2008.
7. Yılmaz, Ö. ve Okcu, N.: *Helicobacter pylori* ve gastrointestinal sistemle ilişkili hastalıklar. *AÜTD*, 38:13-17, 2006.
8. Malferttheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C., et al.: Current toncepts in The management of the *Helicobacter pylori* infection. *Maastricht III Consensus Report Gut* 56: 772-781, 2007.
9. McLoughlin, R., Racz, I., Buckley, M., O'Connor, HJ. and O'Morain, C.: Therapy of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 9(Supl. 1):42-48, 2004.
10. Vilaichone, R.K., Mahachai, V. and Graham, DY.: *Helicobacter pylori* diagnosis and management. *Gastroenterol Clin N Am*, 35:229-247, 2006 .
11. Saad, R.J., Schoenfeld, P., Kim, H.M. and Chey, W.D.: Levofloxacin based triple therapy versus bismuth based quadruple therapy for persistent *Helicobacter pylori* infection: A meta-Analysis. *Amer J Gastroenterol*, 101:488-496, 2006.
12. Kasapoğlu, B. ve Türkay, C.: *Helicobacter pylori*'de tedavi ve direnç. *Güncel Gastroenteroloji*, 12/3:141-145, 2008.

13. Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C., et al.: Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection- The Maastricht-2 2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther*, 16:167-180, 2002.
14. The European *Helicobacter pylori* Study Group : Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report *Gut*, 41:8-13, 1997.
15. Altındis, M. ve Özdemir, M.: *H. pylori* ve tanısı. *Kocatepe Tıp Derg*, 2:1-12, 2003.
16. Warren, J.R.: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*, 1273, 1983
17. Köksal, F., Topçu, A.W., Söyletir, G. ve Doğanay, M.: İnfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi İstanbul, 1643-1647, 2002.
18. Dooley, C.P.: Background and historical considerations of *H.pylori*. *Gastroenterol Clin of North Am*, 22:1-5, 1993.
19. Marshall, B.J. and Warren, J.R.: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 21:1311-1315, 1984.
20. Infection with *Helicobacter pylori* in: IARC Working Group on the evaluation of carcinogenesis risk to humans, shistosomes,liver flukes and *Helicobacter pylori*: IARC monographs on evaluation of carcinogenic risks to humans. IARC Lyon, 61:177-240, 1994.
21. NIH consensus development panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA*, 272:65-69, 1994.
22. Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C.: Current European concepts in the management of *H. pylori* infection-The Maastricht Consensus Report. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 9:1-2, 1997.
23. Megraud, F.: A humble bacterium sweeps this year's Nobel Prize. *Cell*, 123:975-976, 2005.
24. Goodwin, C.S., McCulloch, R.K., Armstrong, J.A. And Wee, S.H.: Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. *J Med Microbiol*, 19:257-267, 1987.
25. Dunn, B.E., Cohen, H. and Blaser, M.J.: *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), 720-741, 1997.
26. Goodwin, C.S. and Armstrong, J.A.: Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). *Eur J Clin Microbiol*, 9:1-13, 1990.

27. Owen, R.J. and Farthing, M.: *Helicobacter* species classification and identification, British Medical Bulletin, London. Royal Society of Medicine Press Limited, 17-31, 1998.
28. Wirth, H.P., Yang, M, Peek, R.M., Tham, K.T. and Blaser, M.J. : *Helicobacter pylori* lewis expression is related to the host lewis phenotype. Gastroenterology, 113:1091-1098, 1997.
29. Sandıkçı, M.Ü., Köksal, F.A. Söyletir, G. ve Doğanay, M. (Eds.): *Helicobacter* enfeksiyonları, topçu enfeksiyon hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1005-1009, 1996.
30. Trevisani, L., Sartori, S., Galvani, F. and Rossi. M.R.: Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in faeces: A prospective pilot study. Am J Gastroenterol, 94: 1830-1833, 1999.
31. Dzierzanowska, K. et all.: Antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in Poland: a multicentre study. International Journal of Antimicrobial Agents, 26:230-234, 2005.
32. Kitsos, C.M., Christian, T.K. And Stadtländer, H.: *Helicobacter pylori* in liquid culture: evaluation of growth rates and ultrastructure. Current Microbiology, 19,88-93, 2004.
33. Glupczynski, Y.: *H. pylori*: techniques for clinical diagnosis and basic research. Eds: Lee Adrian, Megraud Francis. Glupczynski, Y.: Culture of the *Helicobacter pylori* from gastric biopsies and antimicrobial susceptibility testing., W.B. Saunders Company Lmt, London. England, 17-32, 1996.
34. O'Connor, H.J.: Review article: *Helicobacter pylori* and gastro-oesophageal reflux disease-clinical implications and management. Aliment Pharmacol Ther., 13:117-120, 1999.
35. Chelimsky, G, Blanchard, S.S., Czinn, S.J. : *Helicobacter pylori* in children and adolescents. Adolesc Med Clin, 15:53-66, 2004.
36. Graham, J.R.: *Helicobacter pylori*: human pathogen or simply an opportunist? Lancet, 345:1095-1097, 1995.
37. Cardenas, V.M., Mulla, Z.D., Ortiz, M., et al.: Iron deficiency and *Helicobacter pylori* infection in the United States. Am J Epidemiol, 163:127-134, 2006.
38. Goodman, K.J.: Transmission of *Helicobacter pylori* among sibling, Lancet; 355:358–362, 2000.
39. Us, D. and Hasçelik, G.: Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in an asymptomatic Turkish population. Journal of Infection, Volume, 37:148-150, 1998.

40. Forman, D.: The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer, *Aliment Pharmacol Ther*, 9(supp12):71-76, 1995.
41. Kikuchi, S., Wada, O., Nakajimi, T.: Serum anti *Helicobacter pylori* antibody and gastric carcinoma among young adults cancer, 75:2789-2793, 1995.
42. Everhart, J.E.: Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin of North Am*, 29:559-579, 2000.
43. Kaklıkkaya, N.: *Helicobacter pylori*'ye karşı gelişen antikorlar ile değişik klinik durumlar arasındaki ilişkinin irdelenmesi. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enst., Trabzon 1999.
44. Gomes, B.C. and Martinis, E.C.P. : The significance of *Helicobacter pylori* in water, food and environmental samples *Food Control*. Volume, 15:397-403, 2004.
45. Pilotto, A., Rassa, M., Leandro, G., et al.: Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Northeast Italy: a multicentre study. GISU. Interdisciplinary Group for the Study of Ulcer. *Dig Liver Dis*, 32:763–768, 2000.
46. Graham, D.Y.: Therapy of *Helicobacter pylori*: Current status and issues. *Gastroenteroloji*, 118:2-5, 2000.
47. Petra, V., Marco, Z., Nadia, H., Christian, P.: Human immune response towards recombinant *Helicobacter pylori* urease and cellular fractions Vaccine, 26:235-245, 2005.
48. Sae, K.L., Allison, S., Elena, K., Shin, I.A., Sebastian, S. and Christine, J.: *Helicobacter pylori* flagellins have very low intrinsic activity to stimulate human gastric epithelial cells via TLR5, *Microbes and Infection*,; 5:345-356, 2003.
49. Suerbaum, S., Michetti, P.: *Helicobacter pylori* infections. *New Engl J M*, 347:1175–1186, 2002
50. Raymond, P., Diane, P., Podzorski, S., Ann, W. and Vasundhara, T.: Analysis of the *vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA*, and *babA2* genes in *Helicobacter pylori* from sixty-one pediatric patients from the Midwestern United States *Diagnostic. Microbiology and Infectious Disease*, 46:83-88, 2003.
51. Torres, G., Perez-Perez, K.J., Goodman, Atherton, J., Gold, B., Harris, P., Garza, A., Guarner, J. and Munoz, O. A comprehensive review of the natural history of *Helicobacter pylori* infection in children. *Arch Med*, 31:431–469, 2000.
52. Bazzoli, F., Bianchi, P., Maconi, P., Molteni, Pozzato, M., Zagari, M.: Treatment of *Helicobacter pylori* infection. Indications and regimens: an update *Dig and Liver Dis*, 34:70-83, 2002.
53. Ustaçelebi, Ş.: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, 1999.

54. Manisha, S., Kashi, N.P., Surender, K.Y., Ashish, S., Narendra, K.: *Helicobacter pylori* infection in children: prevalence, diagnosis and treatment outcome Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 100:227-233, 2006.
55. Jaime, R., Noriega, Z., Francisco, J., Guillermo, P., Rolando, T.M., Juan, P.F., Héctor, J.M.G., Elvir, G.: Diagnostic utility of invasive tests and serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in different clinical presentations archives of medical research, 37:123-128, 2006.
56. Köksal, F.: *H. pylori* tanısında mikrobiyolojik yaklaşım. *H. pylori* sempozyumu. Ankara, 28-46, 2005.
57. Gatta, L., Ricci, C., Tampieri, A., Vaira, D.: Non-invasive techniques for the diagnosis of *H. pylori* infection. Clin Microbiol Infect, 9: 489-496, 2003.
58. Yılmaz, Y.A.: *H. pylori*: Mikrobiyolojik tanı yöntemleri. Hacettepe Tıp Derg, 35:182-186, 2004.
59. Büyükbaba, M., Küçüker, A., Aktaş, G., İşsever, Ö.: HpSA fecoprevalence in patients suspected to have *Helicobacter pylori* infection in Istanbul, Turkey. International Journal of Infectious Diseases, 9:21-26, 2005.
60. Ishihara, S., Kaji, T., Kawamura, A., Rumi, A.K.: Diagnostic accuracy of a new non-invasive enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in stools after eradication therapy. Aliment Pharmacol Ther, 14: 611-614, 2000.
61. Kocazeybek, B., Memişoğlu, R., Memişoğlu, N., Arıtürk, S.: Determination of the HpSA (*Helicobacter pylori* antigen) in stool for diagnosis of *H. pylori* infections and the value of this method post-treatment follow-up *H. pylori* eradication. 12 th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 21-24 June, 2002.
62. Gisbert, J. and Pajares, J.M.: Diagnosis of *Helicobacter pylori* by stool antigen determination: A systematic review. Am J Gastroenterol, 96:2829-2838, 2001.
63. Gomollón, J., Ducons, A., Santolaria S., Lera, I., Omiste, R., Guirao, M.: Breath test is very reliable for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in real clinical practice. Dig and Liver Dis, 9:612-618, 2003.
64. Rauws, E.A.S., Tytgat, G.J.N.: *Camphylobacter pylori*. Department of Gastroenterology and Hepatology Academic Medical Centre, Amsterdam, 1989.
65. Robert, M.E., Weinstein, W.M.: *Helicobacter pylori* associated gastric pathology. Gastroenterol Clin of North Am, 22(1):59-72, 1993.

66. Rogge, J.D., Wagner, D.R, Carrico, R.J., Glowinski, E.B.: Evaluation of a new urease reagent strip for detection of *Helicobacter pylori* in gastric specimens. *Am j gastroenterol*, 90: 1965-1969, 1995.
67. Makristathis, A., Hirschl, A.M., Lehours, P., Megraud, F.: Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, 9 Suppl 1: 7-14, 2004.
68. Metz, C.D., Walsh, H.J.: Gastroduodenal ulcer disease and gastritis. In; Humes H.D., DuPont, H.L., Gardner, L.B., eds.: *Kelley's textbook of internal medicine*, 4th edition, Philadelphia. Lippincott Williams Wilkins, 107:824-844, 2000.
69. Tünger, Ö.: *Helicobacter pylori* infeksiyonları. *Turkish Journal of Infection*, 22(2):107-115, 2008.
70. Pakodi, F., Abdel-Salam, O.M., Debreceni, A., Mózsik, G.: *Helicobacter pylori*. One bacterium and a broad spectrum of human disease! An overview. *J. Physiol-Paris*, 94(2):139-152, 2000.
71. Cadiot, G.: [What role today for *Helicobacter pylori* in peptic ulser?] [Article in French]. *Gastroenterol Clin Biol*, 27(3 Pt 2): 409-414, 2003.
72. Başak, M., Demirtürk, L., Yazgan, Y.: Nonülser dispepsili hastalarda *Helikobakter pilori'nin* mide motilitesine etkisi. *T Klin J Gastroenterohepatol*, 9:7-11, 1998.
73. Nazlıgül, Y.: *Helicobacter pylori* ve üst gastrointestinal sistem hastalıkları. *Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol*, 16(2): 69-75, 2009.
74. Fei, B.Y., Xia, B., Deng, C.S., et al. Association of tumor necrosis factor genetic polymorphism with chronic atrophic gastritis and gastric adenocarcinoma in Chinese Han Population. *World J Gastroenterol*, 10:1256-1261, 2004.
75. Eslick, G.D.: *Helicobacter pylori* infection causes gastric cancer? A review of the epidemiological, meta-analytic, and experimental evidence. *World J Gastroenterol*, 12:2991-2999, 2006.
76. Yang, K.C., Chu, A., Liao, C.S., Lin, Y.M., Wang, G.M.: Evaluation of the role of *H. pylori* infection in pathogenesis of gastric cancer by immunoblot assay. *World J Gastroenterol*, 12:7029-7032, 2006.
77. Laine, L.: *Helicobacter pylori*, gastric ulcer and agents noxious to the gastric mucosa. *Gastroenterol Clin North Am*, 22(1): 117-125, 1993.
78. Kandulski, A., Selgrad, M., Maltferheiner, P.: *Helicobacter pylori* infection: a clinical overview. *Dig Liv Dis*, 40(8):619-626, 2008.
79. Kim, W., Moss, S.F.: The role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of gastric malignancies. *Oncol Rev*, 2(3):131-140, 2008.

80. Budnic, T.M., Laszewicz, W., Lamarque, D., Chaussade, S.: *Helicobacter pylori* and non- malignant diseases. *Helicobacter*, 11 (Suppl. I):27-31, 2006.
81. Usta, Y., Özen, H.: *Helicobacter pylori* enfeksiyonu çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi, 50:136-145, 2007.
82. Kountouras, J., Zavos, C., Chatzopoulos, D., Katsinelos, P.: *Helicobacter pylori* and gastro-oesophageal reflux disease. *The Lancet*, 368(9540):986, 2006.
83. Blaser, M.J.: *Helicobacter pylori* and other gastric *Helicobacter* species. In: Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R. eds. *Mandell, Douglas and Bennett's principles of practice of infectious diseases*, 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2557-2567, 2005.
84. Makola, Di., Peura, D.A., Crove, S.E.: *Helicobacter pylori* infection and related gastrointestinal diseases. *J Clin Gastroenterol*, 41: 548-558, 2007.
85. Mendall, M.A., Goggin, P.M., Molineaux, N.: Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Br Heart J*, 71:437-439, 1994.
86. Güliter, S., Keleş, H., Özkurt, Z.N., Cengiz, D.U., Kolukısa, E.: Can lansoprazole, amoxicillin, and clarithromycin combination still be used as a first-line therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Turk J Gastroenterol*, 16:29-33, 2005.
87. Bağlan, H. P., Özden, A.: *Helicobacter pylori*'nin antibiyotiklere direnci. *Güncel Gastroenteroloji*, 220-225, 2003.
88. Hunt, R.H., Xiao, S.D., Megraud, F., Bazzoli, F., Hamid, S., Vakil, N., Malfertheiner, P., Leon-Barua, R., Merwe, S.V., Wong, B.C.Y., Goh, K.L., Cohen, H., Coecheo, L.G., Fock, K.M., Fefail, S., Krahshuis, J.H.: *Helicobacter pylori* in developing countries.[http://www.omge.org/assets/downloads/en/pdf/guidelines/11_helicobacter_pylori_developing_countries_en.pdf] webcite. *WGO Practice Guideline*, 2006.
89. Egan, B.J., Katicic, M., O'Connor, H.J, O'Morain, C.A: Treatment of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 12(Suppl 1):31-37, 2007.
90. Osato, M.S, Reddy, R., Reddy, S.G.: Pattern of primary resistance of *Helicobacter pylori* to metronidazole or clarithromycin in the United States. *Arch Intern Med*, 161:1217-1220, 2001.
91. Leblebicioğlu, H., Usluer, G., Ulusoy, S.: *Güncel bilgiler ışığında antibiyotikler*. *Bilimsel Tıp Yayınevi*, 2003.
92. Moder, K.A. et al.: Rapid screening of Clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* by prosequencing. *J Med Microbiol*, 56:1370–1376, 2007.

93. Megraud, F., Lehours. P.: *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microb Rev*, 20:280-322, 2007.
94. Tankovic, J., C. Lascols, Q. Sculo, J. C. Petit, and C. J. Soussy: Single and double mutations in *gyrA* but not in *gyrB* are associated with low- and high-level fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 47:3942–3944, 2003.
95. Jeong, J.J., Mukhopadhyay, A.K and Dailidienė, D.: Sequential inactivation of *rdxA* (HP0954) and *rfxA* (HP0642) nitroreductase genes causes moderate and high-level metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol*, 182:5082–5090, 2000.
96. Sharara, A., Chedid, M., Araj. G.F., Barada, K.A, Mourad, H.: Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin and tetracycline in Lebanon. Short communication. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19:155-158, 2002.
97. Sezgin, O., Altıntaş, E., Üçbilek, E., Tataroğlu, C.: Bismuth-based therapies for the first step eradication of *Helicobacter pylori*. *Turk J Gastroenterol*, 17:90-93, 2006.
98. Bazzoli, F., Zagari, R.M, Fossi, S., Pozzato, P., Roda, A., Roda, E.: Short-term low-dose triple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 6:773-777, 1994.
99. Kim, N., Kim, J.M., Kim, C.H., Park, Y.S, Lee, D.H, Kim, J.S, Jung, H.C and Song, I.S. Institutional difference of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains in Korea, *J. Clin. Gastroenterol*, 40:683–687, 2006.
100. Fischbach, L, Evans, E.L.: Meta-analysis: the effect of antibiotic resistance status on the efficacy of triple and quadruple first-line therapies for *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther*, 26:343–357, 2007.
101. Gisbert, J.P.: De la Morena F systematic review and meta-analysis: levofloxacin-based rescue regimens after *Helicobacter pylori* treatment failure. *Aliment Pharmacol Ther*, 23(1): 35-44, 2006.
102. Graham, D.Y and Shiotani, A.: New concepts of resistance in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 5: 321-531, 2008.
103. Perna, F. et al.: Levofloxacin-based triple therapy for *Helicobacter pylori* re-treatment: role of bacterial resistance. *Dig Liver Dis*, 39:1001-1005, 2007.
104. Carothers, J.J. et al.: The relationship between previous fluoroquinolone use and levofloxacin resistance in *Helicobacter pylori* infection. *Clin Infect Dis*, 44: 5-8, 2007.

105. Boyanova, L., Nikolov, R., Lazarova, E., Gergova, G., Katsarov, N., Kamburov, V., Spassova, Z., Derejian, S., Jelev, C., Mitov, I. and Krastev, Z.: Antibacterial resistance in *Helicobacter pylori* isolated from Bulgarian children and adult patients over 9 years. *Journal of Medical Microbiology*, 55:65-68, 2006.
106. Chang, W.L., Sheu, B.S., Cheng, H.C., Yang, Y.J., Yang, H.B., Wu, J.J.: Resistance to metronidazole, clarithromycin and levofloxacin of *Helicobacter pylori* before and after clarithromycin-based therapy in Taiwan. *J of Gastroenterol and Hepatol*, 24:1230-1235, 2009.
107. Storskrubb, T., Aro, P., Ronkainen, J., Wreiber, K., Nyhlin, H., Sternevald, E.B., Talley, N.J., Engstrand, L. and Agrés, L.: Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* strains in a random adult Swedish population. *Journal compilation Blackwell Publishing Ltd, Helicobacter*, 11:224-230, 2006.
108. Clinical and Laboratory Standards Institute (Formerly NCCLS), 2006.
109. Aydın, F., Köseahmet, F., Katırcı, İ., Bakır, T., Bingöl, R.: Antral kronik gastritte *H. pylori* varlığının gösterilmesinde Gram boyama, kültür ve serolojik yöntemlerin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 23:231-233, 1993.
110. Lawal, O.O., Rotimi, O., Okeke, İ.: *Helicobacter pylori* in gastroduodenal diseases. *Journal of The National Medical Association*, 99(1):31-34, 2007.
111. Fischbach, W., Malfertheiner, P., Hoffmann JC., Bolten, W.: *Helicobacter pylori* and gastroduodenal ulcer disease. *Dtsch Arztebl Int*, 106(49): 801-808, 2009.
112. Pounder, R.E.: The prevalence of *H. pylori* infection in different countries. *Aliment Pharmacol Ther*, 9(suppl 2):33-39, 1995.
113. Montgomery, D.M., Martin, D.F., Peura, D.A.: Rapid diagnosis of *Camphylobacter pylori* by Gram stain. *Am J Clin Pathol*, 90: 606-609, 1998.
114. Göral, V., Zeyrek, F.Y., Gül, K.: *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda antibiyotik direnci. *T Klin Gastroenterohepatol*, 11:87-92, 2000.
115. Qinjuan, S., Xiao, L., Qing, Z., et al.: High efficacy of 14-day triple therapy-based, bismuth- containing quadruple therapy for initial *Helicobacter pylori* eradication. *Blackwell Publishing Ltd, Helicobacter*, 15:233–238, 2010.
116. Wong, W.M., Q. Gu, et al.: Lansoprazole, levofloxacin and amoxicillin triple therapy vs. quadruple therapy as second-line treatment of resistant *H. pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*, 23:421-427, 2005.
117. Romano, M., Iovene, M.R., Russo, M.I. et al.: Failure of first-line eradication treatment significantly increases prevalence of antimicrobial-resistant *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Clin Pathol*, 61:1112–1115, 2008.

118. Thyagarajan, S.P., Ray, P., Kumar Das, B. et al.: Geographical difference in antimicrobial resistance pattern of *Helicobacter pylori* clinical isolates from Indian patients: Multicentric study. *Journal of Gastroenterol and Hepatol*, 18:1373–1378, 2003.
119. Roland, N., Alertia, E., Juliet, E.A.: *Helicobacter pylori* isolates recovered from gastric biopsies of patients with gastro-duodenal pathologies in Cameroon: current status of antibiogram. *Tropical Medicine and International Health*, volume, 13(6):848-854, 2008.
120. Kantarçeken, B., Yıldırım, B., Karıncaoğlu, M. et al.: *H. pylori* and antibiotic resistance. *Turk J Gastroenterol*, 11:141-145, 2000.
121. Engin, D., Erciş, S., Özaslan, E. et al.: E-test yöntemi ile *H. pylori*'nin çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılığının belirlenmesi. *Turk J Gastroenterol*, 12(Suppl):SB/15, 2001.
122. Işıksal, F., Çolakoğlu, S., Köksal, F. et al.: *H. pylori* antibiyotik direnci. *Turk J Gastroenterol*, 14(Suppl):SB.07/5, 2003.
123. Hülagu, S., Uraz, S., Kolaylı, F. et al.: *H. pilori*'nin farklı hasta gruplarında klaritromisin, amoksisillin ve metronidazol rezistansı. *HeBiPa Kongresi*, SB.07, 2004.
124. Özden, A., Bozdayı, G., Bağlan, P. et al.: *H. pilori*'nin klaritromisine karşı direncinin sıklığı. *Turk J Gastroenterol*, 15(Suppl):SB.07/6, 2004.
125. Tüzün, Y., Yılmaz, Ş., Bayan, K. et al.: Klaritromisin primer ve sekonder *H. pilori* direnci prevalansı, katkıda bulunan olası faktörler: Güneydoğu Anadolu'dan veriler. *Turk J Gastroenterol*, 17(Suppl 1), 2006.
126. Bartoleme, L.O., Vasallo, M.A., Armengol, R.J.A., Garza, P.J.J.: Microbiologic diagnosis of *H. pylori* and its resistance to antibiotics. *Rev Clin Esp*, 198(7):420-423, 1998.
127. Önder, G., Aydın, A., Akarca, U. et al.: High *Helicobacter resistance* rate to clarithromycin in Turkey. *J Clin Gastroenterol*, 41(8):747-750, 2007.

EK 1: HASTA/DENEĞİN AYDINLATILMIŞ ONAMI

T.C.

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ETİK KURULU ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU

“Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Kliniğine Başvuran Hastalardan İzole Edilen *H. pylori* suşlarının Klaritromisin, Tetrasiklin, Metronidazol, Amoksisilin, Levofloksasin Dirençlerinin Belirlenmesi” ve “Gastroenteroloji Kliniğine Başvuran Hastalardan Alınan Mide Biyopsi Örneklerinde *H. pylori* Prevalansının ve Virülans Genlerinin Araştırılması”adlı çalışmalar için

HASTA/DENEĞİN AYDINLATILMIŞ ONAMI

Sayın Bay/Bayan

Mevcut yakınmalarınız bir mide hastalığının belirtisi olabilir. Günümüzde mide-barsak hastalıklarının önemli bir kısmına *H. pylori* neden olmaktadır.

Hastalığınızın tanısı için öncelikle endoskopik inceleme yapılması ve gerekirse histopatolojik inceleme ve *H. pylori* tespitine yönelik mikrobiyolojik inceleme (direkt inceleme, kültür ve hızlı üreaz testi) için midenizden biyopsi örneği alınacaktır, bu testler sonucunda *H. pylori* tespit edilirse hangi antibiyotiklere duyarlı olduğunun ve bakterinin virülans genlerinin araştırılarak hastalığın klinik prognozunun belirlenmesinde kullanılacaktır.

Uygulanacak bu işlemlerin sağlığınız için herhangi bir yan etkisi yoktur. Araştırmanın herhangi bir döneminde araştırmacıya haber vererek araştırmadan çekilme hakkına sahipsiniz. Araştırma esnasında mahremiyetinize saygı gösterilecektir. Araştırmanın ekonomik sorumluluğu size ait değildir. Araştırmanın yürütülmesi ve yan etkiler veya endişelendiğiniz herhangi bir konu hakkında bir sorunuz olduğunda Arş. Gör. Dr. Taylan Calp’a başvurabilirsiniz.

Telefon numarası 0536 596 36 05’dir.

Yukarıdaki açıklamaları okudum; alınan biyopsi örneğinden üretilen bakterilerde duyarlılık testleri ve virülans genlerinin araştırılmasını kabul ediyorum.

Hastanın Adı-Soyadı

Tarih ve İmza

Tanık Adı-Soyadı

Tarih ve İmza

ÖZGEÇMİŞ

Esma Akyıldız 1979 yılında Trabzon'un Of ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Of'ta tamamladı. 2000 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde öğrenime başladı ve 2004 yılında mezun oldu. 2005-2006 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fatih Eğitim Fakültesinde tezsiz yüksek lisans eğitimini tamamladı. 2007 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen aynı enstitüde yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.