

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**86788**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI**

***Helicobacter pylori*'ye KARŞI GELİŞEN ANTİKORLAR İLE  
DEĞİŞİK KLİNİK DURUMLAR ARASINDAKİ İLİŞKİNİN  
İRDELENMESİ**

**T 86788**

**DOKTORA TEZİ**

**NEŞE KAKLIKKAYA**

**ARALIK-1999**

**TRABZON**

**TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI**

***Helicobacter pylori*'ye KARŞI GELİŞEN ANTİKORLAR İLE  
DEĞİŞİK KLİNİK DURUMLAR ARASINDAKİ İLİŞKİNİN  
İRDELENMESİ**

**Neşe KAKLIKKAYA**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 05.11.1999

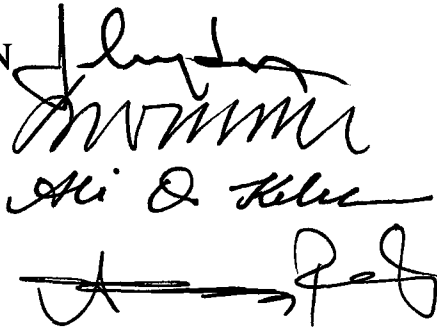
Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 07.12.1999

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Faruk AYDIN

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Murat ERTÜRK

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Ali Osman KILIÇ

Enstitü Müdürü : Doç. Dr. Abdulkadir REİS



ARALIK 1999  
TRABZON

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi, yardım ve desteğini her zaman yanımda bulduğum sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Faruk AYDIN'a, çalışmalarım süresince her çıkmaza girdiğimde bilgi ve tecrübeleri ile beni aydınlatan, yol gösteren sayın hocam Prof. Dr. Murat ERTÜRK'e, doktora eğitimim boyunca bilimsel destek, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Ali Osman KILIÇ'a, materyal temininde büyük bir özveri ile çalışan değerli hocam Prof. Dr. Tülay BAKIR'a, materyallerin histopatolojik değerlendirmesindeki önemli katkılarından dolayı sayın Dr. Suat ERKUL'a, hastaların değerlendirilmesi, tedavi ve takiplerini sağlayan Trabzon Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi'nin değerli hekimlerine, bulguların istatistik değerlendirmelerdeki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAN'a, birlikte çalışıp yorulduğumuz, birlikte sevinip üzüldüğümüz, çalışmam boyunca her zaman yanımda olan sevgili arkadaşım Kıvanç ÇUBUKÇU başta olmak üzere tüm bölüm arkadaşlarıma, sevgili annem ve babama, en büyük desteğim, sevgili eşim Dr. İslam KAKLIKKAYA'ya sonsuz teşekkürler.

Ayrıca, tez çalışmamı Yrd. Doç. Dr. Faruk AYDIN yönetimindeki 99.114.001.3 kodlu proje ile kısmen destekleyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Rektörlüğü, Araştırma Fonu'na teşekkür ederim.

NEŞE KAKLIKKAYA

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. <i>H. pylori</i> 'nin Genel Özellikleri	5
2.2.1. Sellüler Morfoloji	5
2.2.2. Koloni Morfolojisi	6
2.2.3. Ultrastrüktürel Özellikleri	6
2.2.4. Kokoid Form	6
2.2.5. Fizyolojik Özellikleri	7
2.2.6. Biyokimyasal Özellikleri	7
2.2.7. Makromoleküler Özellikleri	7
2.2.8. Saklama Koşulları	7
2.2.9. Patogenezi	8
2.3. <i>Helicobacter</i> 'lerin Sınıflandırılması	9
2.3.1. Diğer Gastrik <i>Helicobacter</i> 'ler	9
2.3.2. İntestinal <i>Helicobacter</i> 'ler	10
2.4. <i>H. pylori</i> 'nin Epidemiyolojisi	11
2.4.1. İnfeksiyöz Doz	11
2.4.2. Bulaşma Yolları	11
2.4.3. Rezervuarlar	12
2.4.4. Korunma	12
2.4.5. Tedavi	12
2.5. <i>H. pylori</i> ve Gastrik İnflamasyon	13
2.5.1. İnflamasyon Mekanizması	14
2.5.1.1. Direkt Mukozal Hasar	14

2.5.1.2. Epitelyal Kemokin Cevabı	15
2.5.1.3. Non-spesifik İmmünite	15
2.5.1.4. Spesifik İmmünite	16
2.6. <i>H. pylori</i> İnfeksiyonunun Klinik ve Patolojik Özellikleri	17
2.6.1. <i>H. pylori</i> ve Gastrit	17
2.6.2. <i>H. pylori</i> ve Non-ülser Dispepsi	17
2.6.3. <i>H. pylori</i> ve Duodenal Ülser	17
2.6.4. <i>H. pylori</i> ve Gastrik Ülser	17
2.6.5. <i>H. pylori</i> ve Kanser	18
2.7. <i>H. pylori</i> 'nin Tanısı	18
2.7.1. İnvaziv Testler	19
2.7.1.1. Direkt mikroskopi	19
2.7.1.2. Üreaz Testi	19
2.7.1.3. Kültür	20
2.7.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	21
2.7.2. Non-invaziv Testler	21
2.7.2.1. Seroloji	21
2.7.2.2. Üre Soluk Testi	22
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Çalışma Grubu	23
3.1.2. Kullanılan Gereçler	23
3.1.3. Kullanılan Besiyerleri, Kimyasallar ve Kitler	24
3.2. Metot	24
3.2.1. Çalışma Planı	24
3.2.2. Histopatolojik Sınıflandırma	25
3.2.3. Endoskopik Sınıflandırma	26
3.2.4. Mikrobiyolojik inceleme	27
3.2.4.1. Kültür	27
3.2.4.2. Direkt Mikroskopi	27

3.2.4.3. Üreaz Testi	28
3.2.4.4. Biyokimyasal Testler	28
3.2.5. In-house ELISA Sistemi ile Anti- <i>H. pylori</i> IgG Varlığı ve Düzeyinin belirlenmesi	29
3.2.6. ELISA Tekniği ile Anti- <i>H. pylori</i> IgM ve IgA'nın Belirlenmesi	30
3.2.7. SDS-PAGE ve Western Blot Analizleri İçin <i>H. pylori</i> Total Hücre Lizatlarının Hazırlanması	30
3.2.8. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi	31
3.2.9. Western Blot analizi	32
3.3. İstatistiksel analizler	35
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
7. ÖZET	77
8. SUMMARY	79
9. KAYNAKLAR	81

**TABLO LİSTESİ**

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: <i>H. pylori</i> tarihçesinde önemli gelişmeler	4
Tablo 2: <i>H. pylori</i> ' nin gastrik fizyolojiyi değiştirmede kullandığı muhtemel mekanizmalar	8
Tablo 3: <i>H. pylori</i> ' nin muhtemel varlığını sürdürme faktörleri	9
Tablo 4: Gastrik mukoza ile ilişkili <i>Helicobacter</i> türlerinin morfolojik özellikleri ve konakları	10
Tablo 5: İntestinal <i>Helicobacter</i> türlerinin morfolojik özellikleri ve konakları	10
Tablo 6: FDA tarafından önerilen tedavi protokolleri ve bu tedavilerle elde edilen eradikasyon oranları	13
Tablo 7: Sydney sistemine göre gastritlerin sınıflandırma ve derecelendirilmesi	26
Tablo 8: Endoskopik ön tanıların sınıflandırılması	26
Tablo 9: Yeni bir testin geçerliliğinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan ROC tablosu	36
Tablo 10: Gastrik biyopsi örneklerinde mikroskopi ve kültür ile <i>H. pylori</i> tespit edilme oranları	38
Tablo 11: <i>H. pylori</i> mikroskopi pozitifliğinin cinsiyete göre dağılımı	38
Tablo 12: Endoskopik ön tanılarına göre <i>H. pylori</i> mikroskopi pozitifliğinin dağılımı	41
Tablo 13: Histopatolojik sınıflandırmaya göre <i>H. pylori</i> mikroskopi pozitifliğinin dağılımı	42
Tablo 14: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında mikroskopi ve anti- <i>H. pylori</i>	

IgG, IgA ve IgM sonuçları	43
Tablo 15: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında <i>H. pylori</i> mikroskopi sonuçları	45
Tablo 16: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi ve serum anti- <i>H. pylori</i> IgG bulguları	46
Tablo 17: İlk başvuruda mikroskopi geçerli test alındığında anti- <i>H. pylori</i> IgG tayininin tanısal değeri	46
Tablo 18: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi ve serum anti- <i>H. pylori</i> IgG bulguları	47
Tablo 19: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi geçerli test olarak alındığında, anti- <i>H. pylori</i> IgG tayininin tanısal değeri	47
Tablo 20: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında anti- <i>H. pylori</i> IgG sonuçlarının karşılaştırılması	48
Tablo 21: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında anti- <i>H. pylori</i> IgG'nin OD'deki % değişimin mikroskopi pozitifliğindeki değişime göre dağılımı	49
Tablo 22: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi ve serum anti- <i>H. pylori</i> IgA bulguları	50
Tablo 23: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi geçerli test alındığında anti- <i>H. pylori</i> IgA tayininin tanısal değeri	50
Tablo 24: Hastaların ikinci başvurularında alınan biyopsi örneklerinde mikroskopi ve serum anti- <i>H. pylori</i> IgA bulguları	51
Tablo 25: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi geçerli test alındığında, anti- <i>H. pylori</i> IgA tayininin tanısal değeri	51
Tablo 26: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında anti- <i>H. pylori</i> Ig A sonuçları	52
Tablo 27: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi ve anti- <i>H. pylori</i> IgM bulguları	52
Tablo 28: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi geçerli test alındığında anti- <i>H. pylori</i> IgM tayininin tanısal değeri	53



Tablo 29: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi ve serum anti- <i>H. pylori</i> IgM bulguları	53
Tablo 30: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi geçerli test alındığında, anti- <i>H. pylori</i> IgM tayininin tanısal değeri	53
Tablo 31: Hastaların ilk ve ikinci başvuruda alınan serum örneklerinde anti- <i>H. pylori</i> IgM sonuçları	54
Tablo 32: İlk alınan biyopsi örneğinde mikroskopi pozitif olarak tespit edilen, ikinci biyopsi örneğinde mikroskopinin negatifleşen hastaların ilk ve ikinci serum örneklerinden elde edilen reaktif protein bantları ve ikinci örneklerde eksilen bantlar	56
Tablo 33: İlk alınan biyopsi örneğinde mikroskopi pozitif olarak tespit edilen, ikinci biyopsi örneğinde mikroskopisi pozitif olarak devam eden hastaların ilk ve ikinci serum örneklerinden elde edilen reaktif protein bantları ve ikinci örneklerde eksilen bantlar	57
Tablo 34: İlk alınan ve ikinci olarak alınan biyopsi örneklerinde mikroskopisi negatif olarak tespit edilen hastaların ilk ve ikinci serum örneklerinden elde edilen reaktif protein bantları ve ikinci örneklerde eksilen bantlar	58
Tablo 35: Western blot analizinde CagA ve VacA proteinine karşı reaktif bant tespit edilen hasta sayısı	59

**ŞEKİL LİSTESİ**

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: <i>H. pylori</i> 'nin oluşturduğu inflamasyonun mekanizması	15
Şekil 2: Çalışma planı ve işlemlerin yürütülme şeması.	25
Şekil 3. Western blot aparatı	33
Şekil 4. Western blot analizi	35
Şekil 5: Gastrik biyopsi örneklerinden hazırlanan preperatlarda <i>H. pylori</i> 'lerin görünümü (Gram boyama X100)	39
Şekil 6: Kültürde saf olarak üreyen <i>H. pylori</i> 'lerin oluşturduğu şeffaf, yuvarlak, konveks ve saydam kolonilerin görünümü	40
Şekil 7: Hastaların ilk ve ikinci serumlarındaki western blot analizleri	60
Şekil 8: Hastaların ilk ve ikinci serumlarındaki western blot analizleri	61
Şekil 9: Hastaların ilk ve ikinci serumlarındaki western blot analizleri	62
Şekil 10: Hastaların ilk ve ikinci serumlarındaki western blot analizleri	63

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

*Helicobacter pylori* infeksiyonu dünyada en sık rastlanan gastrointestinal bakteriyel hastalıktır (1). Bu infeksiyonun varlığının belirlenmesi sadece o anda bulunan infeksiyonun tedavisi için değil, ileride oluşabilecek patolojilerin önlenmesi için de önemlidir. Ayrıca, *H. pylori*'nin eradikasyonu için uygulanan ilaç tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi de mikroorganizmanın varlığı veya yokluğunun bilinmesini gerektirir (2).

Günümüzde *H. pylori* histoloji, kültür, hızlı üreaz testi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi özofagogastroduodenoskopi gerektiren, bu nedenle invaziv kabul edilen yöntemlerle teşhis edilebilmektedir (3,4). Bunun yanında üre soluk testi ve seroloji gibi endoskopi gerektirmeyen, non-invaziv yöntemler de tanıda kullanılmaktadır. Endoskopi uygulanması zor, pahalı, ekipman gerektiren, zaman alan bir yöntemdir. Non-invaziv yöntemlerden olan üre soluk testi de pahalı bir test olup sonuçların değerlendirilmesi için gaz izotop kitle spektrofotometresine veya sintilasyon sayacına gereksinim göstermektedir (5). Seroloji basit, ucuz ve non-invaziv bir yöntem olmasının yanında yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahiptir. Ancak mevcut serolojik testler ile infeksiyonun varlığı veya süresi belirlenmemektedir (6).

Bu çalışmada dispeptik yakınması olan hastaların mide biyopsi örneklerinde mikrobiyolojik yöntemlerle *H. pylori* varlığının araştırılması, biyopsi örneklerindeki histopatolojik bulguların değerlendirilmesi, hasta serumlarında *H. pylori*'ye spesifik total IgG, IgM ve IgA varlığı ve düzeyinin belirlenmesi, western blot analizi ile hangi antijenlere karşı antikor geliştiğinin araştırılması ile serolojik profildeki değişimin mikroorganizmanın eradikasyonu ve histopatolojik tanı ile

karşılaştırılması, böylece *H. pylori* tanısında kullanılacak non-invaziv bir test geliştirilmesine yönelik veri tabanı oluşturulması amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *H. pylori*'nin Tarihçesi

Gastrik ülserasyon ilk kez 1586 yılında tanımlanmış, duodenal ülserasyon ise 1688 yılında otopsi bulgusu olarak gösterilmiştir (7). Croatian Karl Schwarz tarafından 1910 yılında "no acid, no ulcer" diktesi öne sürülmüş ve peptik ülser tedavisinde antiasitler kullanılmaya başlanmıştır (8).

Bir İtalyan patolojist olan Bizzozero (9) tarafından 1893 yılında bir köpeğin midesinde spiral bakterilerin olduğu rapor edilmiştir. Salomon (10), 1896 yılında kedi ve fare midelerinde benzer bulgular rapor etmiştir.

Spiral bakteriler insan midesinde ilk kez 1906 yılında gösterilmiştir (11). Başlangıçtaki bu raporlar mide kanserli hastalarla ilgilidir. Bundan dokuz yıl sonra gastrik ve duodenal ülserasyonlu hastaların midelerinde de spiral mikroorganizmalara rastlandığı bildirilmiş, ancak bu organizmaların oral kaviteden kaynaklanan kontaminantlar olduğu düşünülmüştür (12).

İnsan midesinde üreaz aktivitesi bulunduğu ilk kez 1950 yılında rapor edilmiştir. Ancak bu üreaz aktivitesinin gastrik mukozal hücrelerden kaynaklandığı düşünülmüş ve bir bakteri varlığı ile bağlantısı kurulamamıştır. Fitzgerald ve Murphy (13), gastrik ülserasyon nedeni ile rezeke edilen midelerdeki üreaz aktivitesi ile ilgili çalışmalar yapmış, gastrik mukozadaki üreaz aktivitesinin üre ve hidrojen iyonları arasındaki bir reaksiyonla amonyak oluşmasını sağladığını, bu mekanizma ile mide mukozasını koruduğunu düşünmüşlerdir. Bundan dokuz yıl sonra, tetrasiklin kullanımı sonrası gastrik üreaz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (14). Enfekte olmayan (germ-free) hayvanların midesinde üreaz aktivitesinin

bulunmaması, gastrik üreazın bakteriyel kaynaklı olabileceğini düşündürmüştür (15).

Doenges ve arkadaşları (16) yapılan 242 otopsi vakasının %43'ünün midesinde hematoksilen-eozin boyama ile spiroketlere rastlandığını bildirmişlerdir. Daha sonra gastrik ülser ve kanser nedeni ile rezeke edilen 35 gastrik örneğin %37'sinde spiroket görüldüğü rapor edilmiştir (17). Ne yazık ki 1954 yılında yapılan bir çalışmada 1000 gastrik biyopsi örneği incelenmiş ancak bu çalışma midede *H. pylori* kolonizasyonunu gösteren bulguları destekleyememiş, bu nedenle bu bakterilere duyulan ilgi azalmıştır (18).

Steer ve ark (19) tarafından 1975 yılında gastrik ülserasyonları olan hastaların gastrik rezeksiyon örneklerinin %80'inde gastrit ve bakterilerin birlikte görüldüğü bildirilmiştir.

**Tablo 1: *H. pylori* tarihçesinde önemli gelişmeler**

1893	Köpek midesinde ilk kez gastrik spinal bir bakteri gösterildi.
1906	İnsan midesinde spiroketler gösterildi.
1924	Midede üreaz aktivitesi rapor edildi.
1950	Üreazın amonyak üretimi yolu ile gastrik ülserasyonlu hastalarda gastrik asidi nötralize ettiği söylendi.
1975	Gastrik ülserasyonlu hastaların %80'inde gastrit ve spiroketlerin birarada varlığı gösterildi.
1983	Gastrit ve muhtemelen peptik ülserasyonla ilişkili <i>Campylobacter</i> -like organizmaların belirtilmesi ile modern dönem başladı.
1985	<i>Helicobacter</i> infeksiyonu ve gastrit gelişimi arasındaki zamansal ilişki olduğu gösterildi.
1987	<i>H. pylori</i> 'nin eradikasyonu ile duodenal ülserasyonun uzun süreli tedavisi gerçekleştirildi.
1989	" <i>Helicobacter</i> " genusu önerildi.
1994	<i>H. pylori</i> grade 1 karsinojen olarak klasifiye edildi.
1994	Peptik ülserli hastalarda infeksiyonun eradike edilmesi gerektiği belirtildi.
1997	<i>H. pylori</i> infeksiyonlarının yönlendirilmesinde Avrupa konsensus raporu yayımlandı.

*H. pylori* tarihindeki modern dönem 1981'de iki yıllık hekim olan Barry Marshall'ın bir histopatolojist olan Robin Warren ile birlikte Batı Avustralya'da yaptığı çalışmalarla başlamıştır. Warren gastrik biyopsi örneğini Warthin-Starry yöntemi ile boyamış ve mukozal bakterilerin varlığını göstermiştir. Marshall, gastriti olan bir Rus hastayı tetrasiklin ile tedavi etmiştir (20). Daha sonra bu

mikroorganizmanın üretilmesi üzerine çalışmalar yapılmış, ancak 1982'de yapılan ilk kültür denemeleri başarısız olmuştur. *H. pylori* kültürde ilk kez 1984 yılında üretilmiştir (21).

Bu bakterilerin gastrit ile ilişkisi ilk kez 22 Ekim 1982'de *Royal Australian Collage of Physicians*'da sunulmuştur (22). Bu "*Campylobacter*-like organizmalar" mikroaerofil olmaları, morfolojik görünümleri, Gram boyanma özellikleri ve DNA'larındaki guanin+sitozin (G+C) oranları ile diğer *Campylobacter*'lere benzemeleri nedeni ile *Campylobacter pylori* diye adlandırılmıştır. Daha sonra *Campylobacter pylori*'nin diğer *Campylobacter*'lerden farklı bir genus olduğu anlaşılmış ve morfolojisine uygun olduğu düşünülerek ismi "*Helicobacter pylori*" olarak değiştirilmiştir (23).

Peptik ülserasyon ve gastrik adenokarsinom ile *Helicobacter*'ler arasında bir bağlantı olabileceği ilk kez Marshall ve ark tarafından ileri sürülmüştür (24). Seroloji (25), hızlı üreaz testi (26), [<sup>13</sup>C] ve [<sup>14</sup>C] üre soluk testleri (27) gibi güvenilir testlerin bulunması ile epidemiyolojik çalışmalar başlamıştır.

*H. pylori*, 1994 yılında grade I karsinojen olarak bildirilmiş ve *National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement*'da gastrik ve duodenal ülserasyonu olan her hastanın bakteri eradikasyonuna yönelik tedavi edilmesi önerilmiştir (28). *H. pylori* infeksiyonunun gastrit, peptik ülser, gastrik mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması ve gastrik kanser ile ilişkili olduğu, tedavisinde proton pompası ile birlikte üçlü tedavi rejimi uygulanması gerektiği 1997 yılında European Consensus panelinde bildirilmiştir (29).

## **2.2. *H. pylori*'nin Genel Özellikleri**

### **2.2.1. Sellüler Morfoloji**

*H. pylori* Gram negatif, in vivo şartlarda 2-4 µm boyunda, 0.5-0.9 µm eninde, S harfi ya da spiral şeklinde bir basildir. Kanlı agarda üretilmiş bakteriler kıvrık basiller şeklinde görülür. Bunların dışında kültürde ve nadiren in vivo

şartlarda V şeklinde, U şeklinde veya düz basil şeklinde görüldüğü de rapor edilmiştir (30). *H. pylori* tipik olarak 4-6 adet polar kirpiği sayesinde hareketlidir (31).

### 2.2.2. Koloni Morfolojisi

*H. pylori* çeşitli maddeler eklenmiş kanlı agarda 37°C'de 3-5 günde 1-2 mm büyüklüğünde yuvarlak, konveks ve saydam koloniler oluşturur. Oluşturduğu zayıf bir hemoliz nedeni ile koloniler etrafında gri bir zon görülebilir (30).

### 2.2.3. Ultrastrüktürel Özellikleri

*H. pylori* kirpikleri hücre duvarının dış membran komponentlerinden oluşan çift katlı bir membran ile örtülüdür. Her bir kirpik yaklaşık 30 µm boyunda, 30 nm enindedir (31). Hücre duvar yapısının dışında, 40 nm kalınlığında bir glikokaliks veya kapsüle benzer polisakkarit yapı bulunur. Bu yapı, in vivo şartlarda daha kalındır (30).

### 2.2.4. Kokoid Form

Uzun süre inkübasyon, antibiyotiklerle muamele ve uygunsuz besiyerinde bulunma gibi koşullarda *H. pylori* basil formundan kokoid forma dönüşebilir. Bu formda bakteri metabolik olarak aktiftir ancak in vitro koşullarda kültür edilmesi güçtür. Bu formun *H. pylori*'nin dış etkenlere daha dayanıklı ve dormant formu olduğu düşünülmektedir (30). Uygun şartlar sağlandığında kokoid formdan basiller forma dönüş olabileceği de bildirilmiştir (32). Bununla birlikte kokoid formun bakterinin dejeneratif, infeksiyon riski taşımayan formu olabileceği de ileri sürülmektedir (30).



### 2.2.5. Fizyolojik Özellikleri

*H. pylori* mikroaerofil bir bakteri olup, %5 O<sub>2</sub>, %5-10 CO<sub>2</sub> içeren ortamda daha iyi ürer. Kültürlerde optimal üreme 37°C'de 3-5 günde ve pH 6.9-8.0 arasında görülür (30).

### 2.2.6. Biyokimyasal Özellikleri

*H. pylori* karbonhidratları oksidatif veya fermantatif yolla parçalayamaz. Genel olarak hippurat hidrolizi, nitrat redüksiyonu, indol formasyonu, arilsülfataz aktivitesi, %1 ve %3.5'lik NaCl'da üreme ve indoksilat hidrolizi yönünden negatiftir. Yüksek miktarda üreaz ve alkalin fosfataz aktivitesine sahiptir. Katalaz ve sitokrom oksidaz üretir. Suşlar genellikle asitfosfataz, lösinarilamidaz, naftol-AS-B1-fosfohidrolaz, esteraz C<sub>4</sub> ve C<sub>8</sub>, gamaglutamil transpeptidaz pozitifdir. Bazı suşların katalaz ve üreaz üretmedikleri rapor edilmiştir. Ancak klinik materyallerden izole edilen suşlarda genellikle bu özellikler pozitifdir. Suşlar arasındaki diğer bir farklılık da insan ve hayvan hücrelerinde *vacuolating cytotoxin* üretme özelliğidir (30).

### 2.2.7. Makromoleküler Özellikleri

*H. pylori*'nin önemli moleküler kemotaksonomik özellikleri vardır. Genomik DNA 1.40-1.73 Mb büyüklüğünde, tek, sirküler bir moleküldür. DNA'daki G+C oranı %35-37'dir. Suşlar arasında %65'in üzerinde sekans homolojisi gösterilmiştir. Suşların yaklaşık %45'inde plazmit tespit edilebilmiştir (30).

### 2.2.8. Saklama Koşulları

*H. pylori* %10 gliserol içeren nutrient broth (NB), brucella broth (BB) ya da brain heart infusion broth (BHIB) içerisinde -70°C veya likid nitrojende (-196°C) uzun süre saklanabilir (33).

### 2.2.9. Patogenezi

*H. pylori* gastrik mukozada kolonize olabilme ve burada uzun süre kalabilme yeteneğindedir. Bu özelliklerini kazandıran muhtemel patojenik mekanizmalara sahiptir. İn vivo ortamda birçok faktörün hem virülans hem de varlığını sürdürme faktörü olarak fonksiyon gördüğü düşünülmektedir. *H. pylori*'nin gastrik fizyolojiyi değiştirmede kullandığı muhtemel mekanizmalar Tablo 2'de, muhtemel varlığını sürdürme faktörleri Tablo 3'de verilmiştir (31).

**Tablo 2: *H. pylori*' nin gastrik fizyolojiyi değiştirmede kullandığı muhtemel mekanizmalar**

Mekanizma
Gastrik mukozal bariyerin bozulması
Fosfolipazlar (A <sub>2</sub> ve C)
Müsinaz
Vacuolating cytotoxin
Cytotoxin associated gen A (CagA) proteini
Reaktif oksijen metabolitleri
İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz (İNOS) indüksiyonu
Apoptozisin indüksiyonu
Gastrik inflamasyonun indüksiyonu
IL-8 sekresyonu
Endotelial hücrelere nötrofil aderensi
Platelet aktive edici faktör
Lipopolisakkarit
Üreaz
Gastrin – gastrik asit dengesinin değiştirilmesi
Somatostatin salınımının azaltılması
Hipergastrenemi
Parietal hücrelerin gastrine karşı duyarlılığının azaltılması

**Tablo 3: *H. pylori*' nin muhtemel varlığını sürdürme faktörleri**

Faktör
Hareketlilik
Spiral şekil
Kirpik
Adaptif enzim ve proteinler
Üreaz
Katalaz
Süperoksit dismutaz
Isı şoku proteinleri
Bakteriyel adezinler
İmmün kaçış
İmmün cevabın supresyonu
Polimorfonükleer lökosit fonksiyonlarına direnç
Lewis antijenlerine benzerlik

### 2.3. *Helicobacter*'lerin Sınıflandırılması

Gastrik mikroorganizmaların taksonomisinde en önemli basamak 1989 yılında *Helicobacter* genusunun kabul edilmesidir. Bir membran ile sarılmış kirpikler sayesinde hareketli olması, sıvı besiyerinde eksternal glikokaliks yapısını bulundurması, yapısında menaquinon-6 (MK-6) içermesi ve kromozomal DNA'sında G+C içeriğinin %35-44 olması nedeni ile bu bakterinin *Helicobacter* genusu içerisine alınması uygun görülmüştür (26).

#### 2.3.1. Diğer Gastrik *Helicobacter*'ler

Bilinen diğer *Helicobacter* türlerinden yedisi üreaz aktivitesi gösterir ve gastrik mukoza ile ilişkilidir. Tablo 4'de bunlar arasındaki ana morfolojik farklılıklar ve bu bakterilerin konakları belirtilmiştir (33).

**Tablo 4: Gastrik mukoza ile ilişkili *Helicobacter* türlerinin morfolojik özellikleri ve konakları**

Tür	Asıl konak	Hücre büyüklüğü ( $\mu\text{m}$ )	Periplazmik fibriller	Kirpik sayısı	Kirpiklerin dağılımı
<i>H. pylori</i>	İnsan	2.0-4.0	-	4-6	Polar
<i>H. acinonyx</i>	Çita	2.0-5.0	-	2-5	Polar
<i>H. mustelae</i>	Ferret	2.0-5.0	-	4-8	Peritriş
<i>H. nemestrinae</i>	Macaque maymunu	2.0-5.0	-	4-8	Polar
<i>H. suis</i>	Domuz	1.5-5.2	-	>6	Bipolar
<i>H. helmannii</i>	Kedi, köpek, (insan)	3.5-7.5	-	12	Bipolar
<i>H. felis</i>	Kedi, köpek, (insan)	5.0-7.5	+	14-20	Bipolar
<i>H. bizzozeronii</i>	Köpek	5.0-10.0	-	10-20	Bipolar

### 2.3.2. İntestinal *Helicobacter*'ler

İntestinal mukoza ile ilişkili 10 *Helicobacter* türü ve benzer özellikleri olduğundan Flexispira rappini morfolojik özellikleri Tablo 5'te belirtilmiştir (33).

**Tablo 5: İntestinal *Helicobacter* türlerinin morfolojik özellikleri ve konakları**

Tür	Asıl konak	Hücre büyüklüğü ( $\mu\text{m}$ )	Periplazmik fibriller	Kirpik sayısı	Kirpiklerin dağılımı
<i>H. cinaedi</i>	İnsan, hamster	1.5-5.0	-	2	Bipolar
<i>H. fennelliae</i>	İnsan	1.5-5.0	-	2	Bipolar
<i>H. canis</i>	Köpek, insan	4.0	-	2	Bipolar
<i>H. pullorum</i>	Kümes hayvanları, insan	3.0-4.0	-	1	Polar
<i>H. pametensis</i>	Vahşi kuşlar, domuz	1.5	-	2	Bipolar
<i>H. cholecycus</i>	Hamster	3.0-4.0	-	1	Polar
<i>H. hepaticus</i>	Fare	1.5-5.0	-	2	Bipolar
<i>H. muridarum</i>	Rat, fare	3.5-5.0	+	10-14	Bipolar
<i>H. trugontum</i>	Rat	4.0-6.0	+	5-7	Bipolar
<i>H. bilis</i>	Fare	4.0-5.0	-	3-14	Bipolar
<i>F. rappini</i>	Köpek, domuz, koyun	6.5	+	10-20	Bipolar

## 2.4. *H. pylori*'nin Epidemiyolojisi

*H. pylori* dünyanın bütün bölgelerinde insan midesinden izole edilmiştir. Gelişmekte olan ülkelerde popülasyonun %70-90'ı *H. pylori* ile enfektedir ve insanlar genellikle bu mikroorganizma ile hayatın ilk 10 yılında karşılaşmaktadırlar. Gelişmiş ülkelerde prevalans %25–50 arasındadır. (34). Erkek cinsiyetin infeksiyon için belirgin bir risk faktörü olduğunu belirten yayınlar vardır (35).

### 2.4.1. İnfeksiyöz Doz

Az miktarda sıvı gıda ile alınan  $10^9$ , bir gece aç bırakıldıktan sonra, mide pH'sı 1.7 iken  $4 \times 10^7$ , antiasit kullanımı sonrası  $3 \times 10^5$  bakterinin midede enfeksiyon oluşturduğu belirlenmiştir (36).

### 2.4.2. Bulaşma Yolları

*H. pylori* bulaşında üç yol belirlenmiştir. Bunlardan en önemlisinin fekal-oral geçiş olduğu düşünülmektedir. İnfekte çocukların feçesinde *H. pylori* izole edilebilmiştir (37). Fekal materyal ile kontamine sular infeksiyon kaynağı olabilirler.

Bulaş yollarından en az görüleni iatrojenik bulaştır. Gastrik mukoza ile temas etmiş tüpler, endoskoplar ve diğer kontamine materyal ile bir kişiden diğerine *H. pylori* taşınabilmektedir (38). Özellikle endoskopun etkin şekilde temizlenmesi bulaşı azaltmaktadır (39).

Yapılan bazı çalışmalarda PCR ve in situ hibridizasyon ile oral örneklerde, az miktarda da dental plaklarda *H. pylori* gösterilebilmiştir. Bu nedenle *H. pylori*'nin kişiden kişiye oral–oral yol ile de geçebileceği düşünülmektedir (40).

### 2.4.3. Rezervuarlar

*H. pylori* domuz, kedi, maymun ve farelerde deneysel olarak enfeksiyon oluşturabilmektedir. Ancak bu bakteriyi insanlara bulaştırdıklarına yönelik kesin bir bulgu yoktur (41).

### 2.4.4. Korunma

*H. pylori*'ye karşı aşı geliştirme çalışmaları halen sürmektedir. Bu amaçla immünojen olarak sonike edilmiş bakteri (42), saflaştırılmış üreaz ve üreaz subünitleri (43), saflaştırılmış *Vacuolating cytotoxin* (VacA), ısı şoku proteini A (HspA) ve ısı şoku proteini B (HspB) (44) ve bunların *Esheria coli* heat-labil toksini ve kolera toksini gibi adjuvanlarla kombinasyonu denenmiştir. Bunlar arasında üreaz ümit verici bulunmuştur. Gönüllülere oral olarak uygulanan üreaz iyi tolere edilmiştir. Üreaz adjuvan olarak heat-labil toksin ile birlikte verildiğinde etkinliği artmıştır (45).

### 2.4.5. Tedavi

*H. pylori* suşları in vitro olarak penisilin, bazı sefalosporinler, makrolidler, nitroimidazoller, nitrofuranlar, kinalonlar, bizmut tuzları ve proton pompa inhibitörlerine duyarlıdır (46). Polimiksin, trimetoprim ise doğal direnç gösterir (47). Metranidazole karşı direncin belirlenmesi için yapılan çok sayıda çalışmada değişik sonuçlar elde edilmiştir. Metranidazole geliştirmekte olan ülkelerde %11-70, gelişmiş ülkelerde %95'in üzerinde direnç olduğu belirtilmektedir (48). Özellikle başarısız tedavilerden sonra klaritromisine karşı da direnç geliştiği bildirilmiştir (49). *Food and Drug Administration* (FDA) tarafından önerilen ve ümit verici olarak belirlenen tedavi protokolleri Tablo 5'de verilmiştir (50).

**Tablo 6: FDA tarafından önerilen tedavi protokolleri ve bu tedavilerle elde edilen eradikasyon oranları**

Tedavi protokolü	Doz	Tedavi süresi	Eradikasyon oranı (%)
Tetrasiklin HCl	500 mg ×4/gün	2 hafta	85
Metranidazol	250 mg ×4/gün		
Bizmut subsalisilat	2 tablet mg ×4/gün		
Klaritromisin	500 mg ×3/gün	2 hafta	74
Omeprazol	40 mg /gün		
Klaritromisin	500 mg ×3/gün	2 hafta	82
Ranitidin bizmut sitrat	400 mg ×2/gün		
Metranidazol yada	500 mg ×2/gün	1-2 hafta	90
Amoksisilin	1 g ×2/gün		
Klaritromisin	500 mg ×2/gün		
Omeprazol yada	20 mg ×2/gün		
Lansaprazol	1 g ×2/gün		
Ranitidin bizmut sitrat	400 mg ×2/gün	2 hafta	90
Klaritromisin	500 mg ×2/gün		
Amoksisilin	1 g ×2/gün		

## 2.5. *H. pylori* ve Gastrik İnflamasyon

Gastrik inflamasyon, *H. pylori* ile enfekte hastalarda değişmez bir bulgudur ve organizmaya karşı konağın immün cevabını gösterir. Histolojik olarak *H. pylori*'ye bağlı kronik gastrit yüzey epitel dejenerasyonu, mukozanın kronik inflamatuvar hücreleri olan lenfositler, plazma hücreleri ve genellikle eozinofiller ile infiltrasyonu ve aktif komponent olarak nötrofiller ile karakterizedir. *H. pylori*'nin indüklediği gastrik mukozal inflamasyondaki kalitatif ve kantitatif değişiklikler infeksiyonun klinik gidişindeki değişimleri belirlemede önemli bir rol oynayabilir (51).

### 2.5.1. İnflamasyon Mekanizması

*H. pylori* insan gastrik epiteline kolonize olup, mukus tabakası içinde, epitelyal yüzeye çok yakın olarak (bazen de bu yüzeye adere olarak), mukozaya zarar vermeksizin yaşayabilme özelliğindedir. *H. pylori*'nin kendisi ya da ürünlerinin gastrik inflamasyona neden olmalarında iki ana mekanizma sözkonusudur. Bunlardan ilki organizmanın yüzeysel epitelyal hücrelerle temasa geçmesi, bunun sonucunda direkt hücre hasarı oluşması ya da epitelyal hücrelerden kaynaklanan pro-inflamatuar mediatörlerin (kemokinler) salınımıdır. İkinci mekanizma *H. pylori*'nin çeşitli ürünlerinin mukozanın altına doğru giriş imkanı bulması ve bunun sonucunda konakta non-spesifik ve birtakım sitokin habercilerinin salınımını içeren spesifik immün cevap oluşumudur (33).

#### 2.5.1.1. Direkt Mukozal Hasar

*H. pylori*'nin yüzey epitel tabakasına direkt hasarı için çeşitli mekanizmalar vardır ve bu mekanizmalar mukozal permeabilitede değişiklik ve antijenle temasta artış sonucunda oluşur (52). Mikroorganizmanın gastrik epitel hücrelerine tutunması; mikrovillusların kaybı, lüminal sınırın düzensizleşmesi ve sitoplazmanın kaybı, ödem, vakuolizasyon gibi hücre içi değişiklikler ile birlikte görülür (53). Yüzey epitel dejenerasyonu, epitelyal plazma membranı ile sıkı temas halinde olan *H. pylori* sayısı ile orantılıdır (54).

*H. pylori* suşlarının yaklaşık %50'si ısıya duyarlı, proteazlara hassas olan, üretilen hücrelerde vakuolizasyon oluşturan vacuolating cytotoxin (VacA) üretir. Sitotoksik suşlar ile infeksiyon peptik ülserasyon ve daha şiddetli gastrik inflamasyon oluşturur. Saflaştırılmış VacA'nın farelerde gastrik ülserasyon ve epitelyal erezyonu indüklediği gösterilmiştir (55).

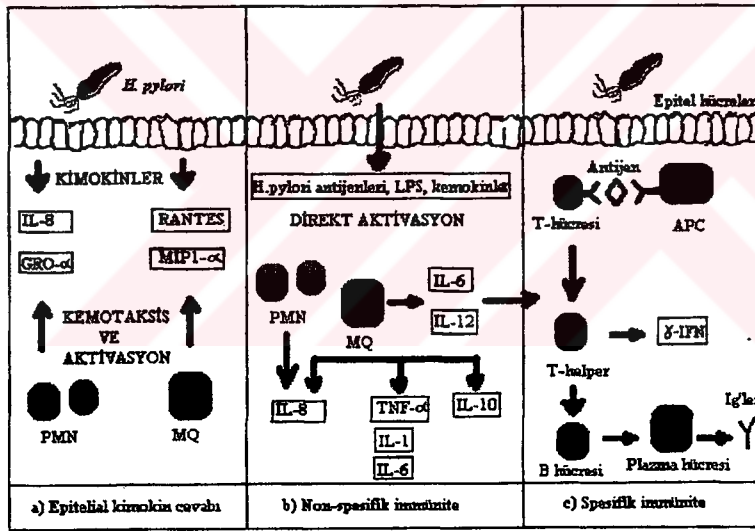
*H. pylori*'nin ürettiği enzimlerden bazıları mukoza hasarı ile ilgilidir (56). Bunlardan en dikkat çekici olan üreazdır. Amonyak üretimi sadece organizmayı gastrik asitten korumakla kalmaz, aynı zamanda epitele toksik etki gösterir (57).



Bakteriyel fosfolipazlar gastrik mukozal bariyerdeki fosfolipid komponentlerini parçalar. Bunun yanında alkol dehidrogenaz yönetimli asetaldehid üretimi de toksik etkiye sahiptir (56).

### 2.5.1.2. Epitelyal Kemokin Cevabı

Birçok çalışma, gastrik epitelin önemli bir kemokin kaynağı olduğunu göstermiştir. Kemokin ailesine üye peptidler spesifik immün hücrelerin aktivasyonunu sağlar. IL-8, growth related gene product- $\alpha$  (GRO- $\alpha$ ) gibi kemokinler nötrofiller için spesifik, kemotaktik aktivite sağlar. RANTES, macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ) gibi kemokinler ise (58) monosit ve lenfositler üzerine etkilidir (Şekil 1).



Şekil 1: *H. pylori*'nin oluşturduğu inflamasyonun mekanizması

### 2.5.1.3. Non-spesifik İmmünite

Mikrobiyal saldırıya karşı ilk savunma mekanizması polimorf nükleuslu hücre cevabıdır. İnsanlarda akut *H. pylori* infeksiyonları az bildirilmekle birlikte, bu dönemde yapılan sınırlı histopatolojik çalışmalarda güçlü nötrofilik cevap

görülmüştür (59). Epitelyal kemotaktik sitokin cevabı ve çeşitli bakteriyel ürünlerin mukozaya difüzyonu nötrofil aktivasyonu ile sonuçlanabilir (Şekil 1b).

*H. pylori* adezyon moleküllerinin ekspresyonu, kemotaksis, reaktif oksijen metabolitlerinin üretimi ve degranülasyonunu artırır. (60).

Mononükleer fagositler bakteriye karşı erken immün cevapta pro-inflamatuar mediatör kaynağı ve antijen sunan hücre olarak görev alır. *H. pylori*'nin bazı proteinleri, monositleri aktive ederek HLA-DR ve IL-2 reseptör ekspresyonunu, IL-1 ve tümör nekrosis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) üretimini, süperoksit anyonlarının sekresyonunu artırır. İn vitro çalışmalarda predominant olarak makrofajlardan salgılanan TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-1 $\beta$ 'nin artmış sekresyonu görülmüştür (61).

Sitokinlerin yanında Lökotrien B<sub>4</sub> gibi bazı biyoaktif lipidler de nötrofil adezyonu, kemotaksis ve degranülasyonu artırıcı özellik göstermektedir (62). *H. pylori* infeksiyonlarında mukozal prostoglandin seviyelerinin değiştiğine dair çalışmalar da mevcuttur (63).

#### 2.5.1.4. Spesifik İmmünite

*H. pylori*'ye bağlı kronik gastritlerde T-lenfositleri ve plazma hücrelerinin tespit edilmesi antijene spesifik sellüler ve hümorale immün mekanizmaların da önemli olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 1c). *H. pylori* infeksiyonu gastrik lenfoid foliküller oluşumu ile sonuçlanır (64). CD4<sup>+</sup> yardımcı T hücreleri (Th = T helper) antijene spesifik immün cevapta önemli bir göreve sahiptir. Th hücreleri karakteristik sitokin profillerine göre iki gruba ayrılmıştır. Bunlardan T-helper1 (Th1) lenfositleri IL-2 ve  $\gamma$ -interferon ( $\gamma$ -IF) sekrete ederek hücresele immün cevabı düzenlerken, T-helper2 (Th2) hücreleri IL-4, IL-5, IL-10 ile B hücrelerini aktive ederek mukozal IgA cevabını da kapsayan antikor üretimini sağlar. Gastrik sıvıda önce *H. pylori*'ye spesifik immünglobulin M ve A (IgM, IgA), sonra da IgG tespit edilebilmektedir (65). Oluşan mukozal IgA, antijen alınımını inhibe etme, bakteriyel aderensi bloke etme ve toksinleri nötralize etme yeteneğindedir (1).

## 2.6. *H. pylori* İnfeksiyonunun Klinik ve Patolojik Özellikleri

### 2.6.1. *H. pylori* ve Gastrit

*H. pylori* non-eroziv, non-spesifik gastritin nedeni olarak bilinmektedir. Antrum ve korpus mukozasındaki kronik aktif gastritler hemen daima *H. pylori* ile birlikte. *H. pylori*'nin tip B gastritlerdeki prevalansı %65-80 olarak bildirilmiştir (66,67).

### 2.6.2. *H. pylori* ve Non-ülser Dispepsi (NÜD)

Yapılan bazı çalışmalarda NÜD vakalarının %30-60'ında bulunmasına rağmen, *H. pylori*'nin kronik dispepsiye neden olduğuna dair kesin kanıtlar elde edilememiştir (68). Bu nedenle NÜD'li tüm vakaların rutin gastrik biyopsi ile değerlendirilmesi gerekliliği kabul edilmemektedir (69).

### 2.6.3. *H. pylori* ve Duodenal Ülser

*H. pylori*'nin duodenal ülserde majör etiyolojik ajan olduğu kanıtlanmıştır. Yapılan birçok çalışmada duodenal ülserli hastalarda *H. pylori* prevalansı %90'ın üzerinde bulunmuştur (70). *H. pylori*'nin eradikasyonu ile duodenal ülserin şifa bulduğu gösterilmiştir (66, 70).

### 2.6.4. *H. pylori* ve Gastrik Ülser

Gastrik ülser patogeneğinde, duodenal ülsere göre, *H. pylori* dışındaki faktörlerin daha fazla rol oynadığı öne sürülmüştür (66, 71). Bununla birlikte gastrik ülserlerin %58-94'ünde *H. pylori* tespit edildiğine dair çeşitli yayınlar mevcuttur (69, 72).

### 2.6.5. *H. pylori* ve Kanser

*H. pylori* gastrik kanserin prekürsör lezyonu olarak kabul edilen atrofik gastrit ile ilişkilidir (73). Bu nedenle *H. pylori*'nin özellikle distal midede adenokarsinoma gelişimi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. (74). Bu konunun aydınlatılması için yapılacak çalışmaların planlanmasında bazı problemler vardır. Bunlardan en önemlisi oluşan gastrik atrofi nedeni ile bu bakterinin kolonizasyonu için uygun olmayan bir ortam oluşmasıdır (75). Yapılan çalışmalarda kullanılan yöntemlere göre farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu nedenle yapılan bazı çalışmalar bunu desteklemese de gelişmekte olan ülkelerde *H. pylori* ile infekte bireylerde gastrik kanser gelişme riskinin yaklaşık 3 kat daha fazla olduğu söylenmektedir (76). Birçok çalışmada özellikle *Cytotoxin associated gen A* proteini (CagA) pozitif olan *H. pylori* ile infekte kişilerde gastrik atrofi, ve intestinal tip gastrik kanser (77) gelişme riskinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Mucosa associated lymphoid tissue lymphoma'lı (MALToma) bireylerde %72-98 oranında *H.pylori* saptanması MALToma ve *H. pylori* arasında da bir bağlantı olduğunu göstermektedir (78).

### 2.7. *H. pylori*'nin Tanısı

Günümüzde *H. pylori*'nin gastrik kolonizasyonunun gösterilmesi amacıyla kullanılan çeşitli testler mevcuttur (79). *H. pylori* gastrik dokunun histopatolojik incelemesi, kültür ve hızlı üreaz testi, DNA probleminin kullanılması ve PCR analizi gibi özofagogastroduodenoskopi gerektiren, bu nedenle invaziv olarak kabul edilen yöntemler veya üre soluk testi, seroloji, gastrik sıvılarda PCR ya da <sup>15</sup>N işaretli amonyağın üriner atılımı gibi endoskopi gerektirmeyen, non-invaziv yöntemlerle tespit edilebilmektedir.

### 2.7.1. İnvaziv Testler

*H. pylori*'ye bağlı gastritlerde genellikle yama tarzında lezyonlar görülmektedir. Bu nedenle birden fazla biyopsinin incelenmesi ve bu biyopsilerin *H. pylori*'nin en çok yerleştiği pilorun 5 cm'lik bölgesinden alınması önerilmektedir (80).

#### 2.7.1.1. Direkt Mikroskopi

Gastrik biyopsi örneklerinde Gram boyama yoğun kolonize örneklerde kısa sürede tanı koydurucu olup kolay uygulanabilir, ucuz bir yöntemdir (6, 66).

Hematoksilen-Eozin boyama ile hem *H. pylori* saptanabilmekle hem de bu mikroorganizmanın oluşturduğu gastrik patoloji değerlendirilebilmektedir. Ancak bakterilerin silik boyanması nedeni ile iyi bir gözlemciye ihtiyaç göstermektedir (34, 74).

Mikroorganizmanın siyah spiraller şeklinde görülmesini sağlayan Warthin-Starry gümüş boyama metodu bakteriyi diğer boyalara göre daha belirgin bir şekilde boyayabilmektedir. Ancak maliyetinin fazla olması, uygulanmasındaki zorluklar, arka planda presipitasyon artıklarının kalması ve renginin kısa sürede solması gibi dezavantajları mevcuttur (6).

Acridin orange boyası hızlı ve kolay bir metod olmasına rağmen floresan mikroskobu gerektirdiğinden rutin olarak kullanılmamaktadır. Ethidium bromide, Gimenez, Hopps-Brown ve immünohistolojik metodlar dikkati çeken ancak yaygınlaşmamış metodlardır (6).

#### 2.7.1.2. Üreaz Testi

Üreaz, ürenin  $\text{NH}_3$  ve bikarbonata parçalanmasında görev alır. Bir pH indikatörü kullanılarak üreaz varlığında renk değişiminin saptanmasını sağlayan birçok test geliştirilmiştir. Birkaç dakikada sonuç verebilen üreaz testleri olduğu

gibi, 24 saatte kesin sonuç veren testler de mevcuttur. Testin inkübasyon zamanı duyarlılığını etkilemektedir. Uzayan inkübasyon zamanı testin duyarlılığını artırır ancak özgüllüğünü azaltır (81).

Üreaz test gereçleri laboratuvarında kolayca hazırlanabileceği gibi, ticari test kitleri de (CLO-Test, HUT-test, Ploritek® gibi) kullanılabilir (20-22). Üreaz testlerin duyarlılıkları alınan biyopsi örneğindeki bakteri miktarına bağımlı ise genellikle %88-100 arasında değişmektedir (82, 83).

Ucuz olması, kolay uygulanabilmesi, kısa sürede sonuç alınabilmesi ve duyarlılığının yüksek olması nedeni ile üreaz testi yaygın kullanım bulmuştur (6).

### 2.7.1.3. Kültür

Kültür *H. pylori* enfeksiyonunun belirlenmesi için en spesifik methodur. Duyarlılığı merkezler arasında farklılık göstermekle birlikte %77-95 arasında değişmektedir (84).

*H. pylori* kültürünün başlıca iki avantajı vardır. Birincisi antimikrobik hassasiyet ve direnç testlerine olanak sağlaması, ikincisi kültürde gözlenen izolatların detaylı olarak karakterize edilebilmesidir. Gastrik biyopsi örneklerinden çok sayıda *H. pylori* elde edilebilir. Bunun yanında mide suyu ve dışkıdan da *H. pylori* üretilmiştir (37, 85).

*H. pylori* izolasyonu yapılacak örneğin laboratuvara taşınma şartları önemlidir. Kısa sürede (6 saatten az) transport edilebilecek örnekler için serum fizyolojik yeterli iken daha uzun sürede laboratuvara ulaştırılabilecek ise Stuart transport vasatı, %20 dekstroz, nutrient buyyon, tiyoglukolat buyyon veya brusella buyyon içinde taşınması daha uygundur. Bunun yanında biyopsi örnekleri gliserol içeren ortamda -70°C'de uzun süre saklanabilir (66, 86).

*H. pylori*'nin üretilmesi için zengin ve seçici besiyerleri gerekmektedir. Bu amaçla brusella agar, beyin-kalp infüzyon agarı, Skirrow besiyeri, egg yolk emülsiyon agar, GDW agar, brusella buyyon, beyin-kalp infüzyon buyyon gibi besiyerlerine koyun, at kanı ve serumu, isovitaleks, şarkol, maya ekstresi ve fetal

dana serumu gibi zenginleştirici maddeler eklenerek kullanılır. *H. pylori*'nin özellikle ilk izolasyonunda bu bakterinin duyarlı olmadığı trimetoprim, vankomisin ve amfoterisin B gibi antimikrobiklerin besiyerine eklenerek duyarlı diğer mikroorganizmaların üremesi engellenebilir (87).

Ekim yapılan besiyerleri mikroaerofilik bir ortamda inkübe edilmelidir. Bu amaçla %5 O<sub>2</sub>, %10 CO<sub>2</sub> ve %85 N<sub>2</sub> gaz karışımı ile doldurulmuş katalizörsüz anaerob kavanozlar veya bu gaz karışımını oluşturan hazır kitlerin bulunduğu katalizörlü kavanozlar kullanılmaktadır (6, 66, 81). Bu besiyerleri 37°C'de 3-5 gün inkübe edildikten sonra değerlendirilir. (6).

#### 2.7.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Gastrik biyopside *H. pylori* DNA'sının tespitine yönelik yapılan PCR yöntemi duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek testlerden biridir. Testin doğruluğu primerlerin ve hedef DNA'nın seçimi, örneklerin hazırlanması, bakterinin yoğunluğu ve sonuçların değerlendirilmesi amacıyla kullanılan tekniğe bağlıdır. Duyarlılığı %100 olarak belirtilen PCR prosedürleri geliştirilmiştir (88).

Az sayıda bakteriyi gösterebilmesi avantajından dolayı diğer metodların teşhiste yetersiz kaldığı durumlarda PCR kullanılabilir. Ancak çok duyarlı olması nedeni ile iyi temizlenmemiş fiberoptik endoskoplarda rezidüel olarak kalan *H. pylori* DNA'sı yanlış pozitif sonuçlara sebep olabilmektedir (89). Bakterinin canlı olmasının gerekmemesi, kısa sürede sonuç vermesi gibi avantajlarının yanında pahalı donanım ve tecrübeli teknik eleman gerektirmesi diğer dezavantajlarıdır (90).

#### 2.7.2. Non-invaziv Testler

##### 2.7.2.1. Seroloji

*H. pylori*'ye karşı hem lokal hem de sistemik antikor cevabı oluşur. Sistemik cevap geçici ve kısa süreli IgM yükselmesini takiben uzun süreli IgG ve IgA

yükselmesi şeklindedir. Bu antikorların tespiti için ELISA ve lateks aglutinasyon tekniğine dayanan birçok ticari test kiti geliştirilmiştir. Bu testler yaygın olarak serumda uygulanmaktadır. Ancak bu testler idrarda IgG, tükürükte IgG ve IgA aranmasına yönelik de kullanılabilir. İdrarda ve tükürükte uygulandığında duyarlılıkları serumda yapılabildiği orana göre daha düşüktür (91,92).

Parmak ucundan bir damla tam kan alınması ile kolayca uygulanabilen ve 5-10 dakikada sonuç veren, solid faz ELISA veya lateks aglutinasyon esasına dayanan bazı testler de geliştirilmiştir. Ancak bu testlerin güvenilirliği hakkındaki bilgiler sınırlıdır (93,94).

*H. pylori* tanısı ve tedavi takibi için immüblot teknikleri ümit verici görülmektedir. Spesifik patoloji ve tedavi takibinde kullanılabilirliği henüz belirlenmemiştir (95). Bununla birlikte peptik ülserli hastalarda CagA antijenine spesifik antikorlarının daha fazla gösterilmesi anlamlı bulunmuştur (96).

#### 2.7.2.2. Üre Soluk Testi

Üre soluk testlerinin esası üreaza dayalı diğer testlere benzer. [<sup>13</sup>C] veya [<sup>14</sup>C] ile işaretli üre hastaya oral yolla verilir. Ürenin hidrolizi sonucu meydana gelen bikarbonatın parçalanması ile oluşan ve solunuma sonucu ortama salınan işaretli CO<sub>2</sub> biriktirilir. [<sup>13</sup>C] kütle spektrometri yöntemi ile tespit edilirken, [<sup>14</sup>C] izotopu sintilasyon sayacı tarafından gösterilir (97).

Üre soluk testi enfeksiyonun miktarını ölçebilmektedir. Bu nedenle tedavi takibinde kullanılabilen bir yöntemdir. Uygulama kolaylığı ve transport şartlarından etkilenmemesine karşın pahalı donanım gerektiren bir test sistemidir. Hasta tedavi almıyor ise, *H. pylori*'yi tespit etme şansı yaklaşık %95 olarak belirtilmiştir (98).



### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Çalışma Grubu**

Bu çalışmaya Trabzon Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi Dahiliye ve Genel Cerrahi polikliniklerine çeşitli dispeptik yakınmalar ile başvuran ve uzman bir hekim tarafından endoskopi endikasyonu konan 789 hasta alındı. Son iki hafta içerisinde antibiyotik kullanan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

##### **3.1.2. Kullanılan Gereçler**

Çalışmada başlıca aşağıdaki araç ve gereçler kullanıldı: Otoklav, inkübatörler, pastör fırını, otoklav, ışık mikroskobu, anaerobik kavanozlar, santrifüj, mikrosantrifüj, manyetik karıştırıcı, hassas terazi, buzdolabı, -20°C ve -80°C'lik derin dondurucular, çalkalamalı su banyosu, vorteks, çalkalayıcı, cam petri kutuları, lam, lamel, cam ve plastik tüpler, cam erlenler, lam, lamel, enjektörler, 96 kuyucuklu, kaplanabilir ELISA pleytleri (Corning), cam pipetler, otomatik pipetler, otomatik pipet uçları, güç kaynağı, elektroforez tankı, western blot aparatı (Biorad), plastik küvetler, muhtelif filtreler ve pedler, bistüriler.

### 3.1.3. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar ve Kitler

Çalışmamızda kullanılan besiyerleri, kimyasallar ve kitler çeşitli firmalardan sağlanmıştır. Kloroform, trisma hydrochloride, anti-insan Ig G (Fc spesifik), 2-amino 2-methyl 1-propanol, p-nitrophenyl phosphate, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), lysosyme, trizma base, acrylamide, N,N, methylen bis acrylamide, ammonium persulfate (APS), glycine, 2-mercaptoethanol (2-ME), commassie brilliant blue R-250, N,N,N,N tetramethylene diamine (TEMED), brom phenol blue, amido black (naphtol blue black), N-N-dimethyl fomamide, nitro blue tetrozolium (NBT), 5-bromo 4-chloro 3-indolyphosphate (BCIP) (Sigma, ABD), Brucella agar, Brain Heart Agar, Brain Heart Broth, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, NaN<sub>3</sub>, NaCl, KCL, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaOH, Tween 20, trichloro acetic acid, methanol, Urea Agar Base, ürea (Merck, Almanya), Brucella Broth (DIFCO, ABD) sükröz, triton X-100 (Fisher, ABD), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Pancreac, İtalya), fetal calf serum (Biological Industries, İsrail), sodium dodecyl sulfat (SDS) (Biorad, ABD), yağsız süt tozu (Pınar, Türkiye), n-buthanol pure (Atabay, Türkiye), BBL CampyPak Plus Microaerophylic System (Becton Dickinson, ABD), Enzyme Immunoassay Anti-*H. pylori* IgM KIT (Helix Diagnostics, Inc), *Helicobacter pylori* IgA (Quantitative) (Meddens Diagnostics B.V.) kitleri.

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Çalışma Planı

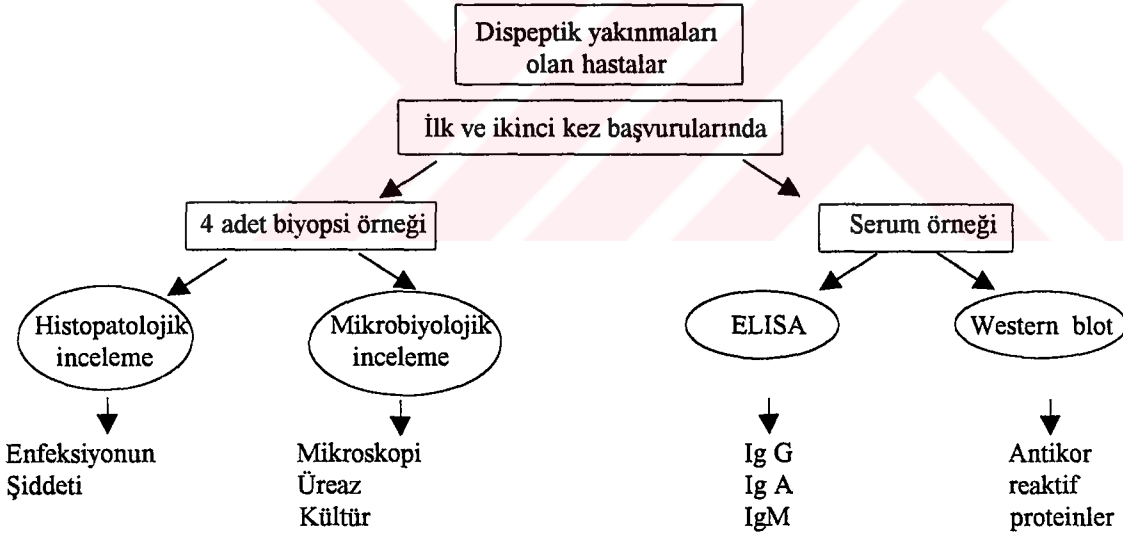
Hastalara uygulanan anket ve değerlendirme formu EK-1'de verilmiştir. Her hastanın genel bilgileri ve şikayetleri sorgulanarak bu forma işlendi. Endoskopi için Pentax FC32 video endoskop kullanılarak gastrik antrum bölgesinden dört adet biyopsi örneği alındı. Biyopsi örneklerinden ikisi içerisinde serum fizyolojik bulunan steril ependorflara alınarak mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Örneklerden biri hemen işlendi, diğeri daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere

-20°C’de saklandı. Diğer iki biyopsi örneği %10 formalin içeren taşıma kaplarına alınarak patoloji laboratuvarına gönderildi. Bu hastaların herbirinden ayrıca steril enjektörler yardımı ile 4’er ml kan alındı ve serumları ayrıldı. Serumlar çalışılıncaya kadar -20°C’de muhafaza edildi.

Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılan biyopsi örneklerinde direkt mikroskopi, üreaz ve kültür yapılarak *H. pylori* varlığı araştırıldı. Mikroskopisi pozitif olarak tespit edilen hastalara hekimleri tarafından *H. pylori* eradikasyonuna yönelik bir aylık tedavi verildi.

Çalışmaya alınan tüm hastalar iki ay sonra kontrole çağırıldı. Kontrole gelen hastaların ek bilgileri *H. pylori* araştırma formuna işlendi. Endoskopi yapıldı ve kan alındı ve ilk başvuruda yapılanlar tekrarlandı.

Hastaların ilk ve ikinci (kontrol) başvurularında alınan serum örneklerinde anti-*H. pylori* IgG, IgA ve IgM antikoru tespit edilerek sonuçlar karşılaştırıldı. Aynı örneklerde western blot analizleri yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi (Şekil 2).



Şekil 2: Çalışma planı ve işlemlerin yürütülme şeması.

### 3.2.2. Histopatolojik Sınıflandırma

Histopatolojik değerlendirme için, biyopsi örnekleri %10’luk formaldehit içinde patoloji laboratuvarına gönderildi. Bu örnekler çalışmanın diğer

sonuçlarından habersiz bir patoloji uzmanı tarafından Sydney sistemi'ndeki kronik gastritin şiddetine göre sınıflandırıldı (51) (Tablo 7).

**Tablo 7: Sydney sistemine göre gastritlerin sınıflandırma ve derecelendirilmesi**

Gastritin şiddeti
1. Hafif şiddette gastrit
2. Orta şiddette gastrit
3. Şiddetli gastrit

### 3.2.3. Endoskopik sınıflandırma

Hastaların endoskopik ön tanısı gastroenteroloji uzmanı endoskopist tarafından, biyopsi örneği alınırken *Atlas of Gastrointestinal Endoscopy* esas alınarak kondu. (99) (Tablo 8).

**Tablo 8: Endoskopik ön tanıların sınıflandırılması**

Endoskopik Bulgu
1. Variyaliform duodenit
2. Variyaliform gastrit
3. Endoskopik eritematöz antral gastrit
4. Tüm midede endoskopik eritematöz gastrit
5. Antral eroziv gastrit
6. Korpusta eroziv gastrit
7. Tüm midede eroziv gastrit
8. Atrofik gastrit
9. Enterogastrik reflü gastriti
10. Reflü özofajit
11. Gastrik ülser
12. Duodenal ülser
13. Gastrik kanser
14. Duodenit
15. Duodenal erezyon
16. Doudenal polip
17. Gastrik polip

### 3.2.4. Mikrobiyolojik İnceleme

#### 3.2.4.1. Kültür

Kültür için Brucella agar ve Brain Heart Agar kullanıldı. Bu besiyerlerine %5 koyun kanı veya insan kanı, 10mg/L vankomisin, 5mg/L trimetoprim, 1 mg/L amfoterisin B eklendi. Pasajlar için aynı besiyerleri antibiyotiksiz olarak hazırlandı. Serum fizyolojik içerisindeki biyopsi örneği steril bir penset yardımı ile, mukuslu kısmı besiyerine sürülerek ekim yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri bir anaerobik kavanoz içerisinde, CampyPak Plus mikroaerofilik sistem veya özel olarak hazırlanmış, %85 N<sub>2</sub>, %15 CO<sub>2</sub>, %5 O<sub>2</sub> içeren gaz karışımı ile 37°C'de inkübe edildi. Sonuçlar 48-96 saat içerisinde değerlendirildi. Üreme görülen kültürlerden alınan kolonilerden Gram boyama, hızlı üreaz, oksidaz ve katalaz testleri yapıldı. Gram negatif, üreaz, oksidaz ve katalaz pozitif olan bakteriler *H. pylori* olarak belirlendi.

Üreyen *H. pylori* kolonilerinden biri alınarak çoğaltıldı. En az bir agar plağından toplanan bakteri kolonileri 1.5 ml'lik bir ependorfta, %20 gliserol içeren 500 µL Brucella Broth içerisinde süspanse edildi. Etanol içinde çözünmüş kuru buz banyosunda aniden donduruldu ve -70°C'de saklandı. Sıvı besiyerinde kültür için katı besiyerinde saflaştırılmış *H. pylori* kolonilerinden birkaç tane Brucella Broth'a ekilerek 37°C'de, anaerobik kavanoz içerisinde, mikroaerofilik bir ortam oluşturan kit ile birlikte, çalkalamalı su banyosunda 170 rpm'de çalkalanmak suretiyle bir gece inkübe edildi.

#### 3.2.4.2. Direkt Mikroskopi

Kültürü yapılan gastrik biyopsi örneği penset yardımı ile steril bir lam yüzeyine sürülerek iki adet preparat hazırlandı. Preperatlardan biri Gram boyama yöntemi ile boyanarak immersiyon mikroskobu ile incelendi. Bu preperat üzeri balzam ve lamel ile kapatılarak saklandı. Diğer preperat birinci preperatın sağlıklı

bilgi vermediği durumlarda boyanarak değerlendirildi. Preparatlarda mukus tabakasına yerleşmiş, Gram negatif, kıvrık, martı kanadı şeklinde bakterilerin görülmesi durumunda *H. pylori* pozitif olarak belirlendi.

### 3.2.4.3. Üreaz Testi

Üreaz testi için; Urea agar base distile su içerisinde çözüldü, 121°C'de 15 dak otoklavlanarak steril edildi, 45-55°C'ye kadar soğutuldu. Ürenin distile su içerisindeki çözeltisi hazırlanan besiyerine son konsantrasyonu %2 olacak şekilde eklendi, steril mikropleytlere döküldü. Şüpheli bakteriler ya da biyopsi örnekleri bu ortama batırıldı ve 30 dak içerisinde sarıdan pembeye renk dönüşümü olması testin pozitif olması şeklinde değerlendirildi.

### 3.2.4.4. Biyokimyasal Testler

#### a. Oksidaz Testi

Oksidaz testi için; N,N-dimethyl-1,4-phenylendiammonium-dichloridin distile sudaki %1'lik çözeltisi (oksidaz ayıracı) hazırlandı. Hazırlanan ayıraç ışık ve oksijene karşı dayanıksız olduğu için küçük hacimlere bölündü ve alüminyum folye ile sarılarak kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı. Şüpheli koloni filtre kağıdı üzerinde ezildi. Üzerine bir damla oksidaz ayıracı damlatıldıktan sonra mor renk oluşumu gözlenen koloniler oksidaz pozitif olarak değerlendirildi.

#### b. Katalaz Testi

Katalaz testi için; steril distile su ile %3'lük hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) çözeltisi (katalaz ayıracı) hazırlandı. Bu çözelti koyu renkli şişelerde 4°C'de saklandı. Steril bir öze ile temiz bir lam üzerine bir miktar bakteri alındı. Üzerine 1-2 damla katalaz ayıracı damlatıldı. Köpürme şeklinde gaz çıkışının gözlenmesi katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

### 3.2.5. In-house ELISA Sistemi ile Anti-*H. pylori* IgG Varlığı ve Miktarının Belirlenmesi

In-house ELISA testi için steril, kaplanabilir ELISA pleytleri kullanıldı. Bu test için antijen hazırlanırken besiyerinde 72 saat kültür edilerek üretilen 8 *H. pylori* suşu ve bir standart suş (*H. pylori* ATCC 49503) kullanıldı. Bu suşlardan THP 533, THP 538, THP 567 ve THP 570 hafif gastritli, THP 413 ve THP 423 orta şiddette gastritli, THP 548 şiddetli gastritli ve THP 578 gastrik kanserli hastalardan izole edildi. Bu suşlar fosfat tampon solüsyonu (PBS) (0.137 M NaCl, 0.027 M KCL, 0.081 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.015 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) içerisinde süspanse edilerek son konsantrasyon 2×10<sup>8</sup> bakteri/ml olacak şekilde dilüe edildi. Elde edilen bakteri süspansiyonu kaplama tamponu (0.016 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.034 M NaHCO<sub>3</sub>, pH 9.6) içerisinde 10<sup>7</sup> bakteri/ml olacak şekilde hazırlanan antijen solüsyonundan her bir kuyucuğa 100'er µl kondu ve 4°C'de bir gece inkübe edildi. Yıkama tamponu (%0.5 Tween 20 içeren PBS) ile 3 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 100'er µl bloklama tamponu (%2 FCS, %0.5 Tween 20 içeren PBS) kondu ve 37°C'de 1 saat bekletildi. Pleyt tekrar 3 kez yıkandı. Bloklama tamponu içerisinde her bir serumun 1/400, 1/800, 1/1600 ve 1/3200 oranlarında dilüsyonları hazırlandı. Her dilüsyondan ikişer kuyucuğa 100'er µl eklendi, 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Pleyt 3 kez yıkandı. Bloklama tamponu içerisinde alkalen fosfataz ile konjuge edilmiş, anti-insan immünglobulin G, son konsantrasyon 1: 6000 olacak şekilde dilüe edilerek her bir kuyucuğa 100'er µl eklendi, 37°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra 3 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 50'şer µl alkalen tampon (1.5 M 2-amino-2methyl-1-propanol) ve 50'şer µl substrat solüsyonu (0.038 mM p-nitrophenyl phosphate disodium) eklendi ve 15 dak 37°C'de inkübasyondan sonra 405 nm'de okundu. Her dilüsyon için test edilen iki kuyucukta okunan OD değerinin aritmetik ortalaması alındı.

Pozitif kontrol olarak anti-*H. pylori* IgG için hazırlanmış bir kitin pozitif kontrolü kullanıldı. Testin cut off değerinin belirlenmesi amacıyla anti-*H. pylori* IgG için hazırlanmış bir kitin negatif kontrol serumu kullanıldı. Her pleyt için 8

kuyucuğa bu negatif kontrol serumu kondu. Test bitiminde bu 8 kuyucukta 405 nm'de okunan optik dansite değerlerinin aritmetik ortalaması alındı ve standart sapması hesaplandı. Aritmetik ortalama ile standart sapmanın 2 katı toplandığında bulunan değer cut off değeri olarak belirlendi.

### **3.2.6. ELISA Tekniği ile Anti-*H. pylori* IgM, IgA'nın Belirlenmesi**

Anti-*H. pylori* IgM için Enzyme Immunoassay Anti-*H. pylori* IgM KIT, anti-*H. pylori* IgA için *Helicobacter pylori* IgA kitleri kullanıldı. Bu testler üretici firmanın önerdiği şekilde çalışıldı.

### **3.2.7. SDS-PAGE ve Western Blot analizleri için *H. pylori* Total Hücre Lizatlarının Hazırlanması**

Farklı hastalardan izole edilen 8 *H. pylori* suşu ve bir standart suştan (*H. pylori* ATCC 49503) hücre lizati hazırlandı. Bu suşlardan THP 533, THP 538, THP 567 ve THP 570 hafif gastritli, THP 413 ve THP 423 orta şiddette gastritli, THP 548 şiddetli gastritli, ve THP 578 gastrik kanserli hastalardan izole edildi. Her suş en az 5 agar plağında üretilerek hücre lizati hazırlanması için kullanıldı. Bu bakteriler biraraya toplanarak Tris-EDTA (TE) tamponu [10mM Tris HCl (pH 8.0), 1mM EDTA (pH 8.0)] içerisinde süspanse edildi, 10 ayrı ependorfa bölündü, 7000 rpm'de 10 dak santrifüj edilerek TE tamponu ile 3 kez yıkandı. Her bir tüpe 10 mg/ml lizozim içeren STET tamponundan [%8 süzkroz, %5 triton X-100, 50 mM EDTA, 50 mM Tris HCl (pH7.0)] 500 µl eklendi. Maksimum hızda 1 dak vortekslenip 37°C'de 30 dak inkübe edildi. Viskozite gözlendikten sonra 100'er µl PEN tamponu [1 mM EDTA, 0.1M NaCl, 10mM Tris HCl (pH7.5)] ilave edildi, 1 dak maksimum hızda vortekslendi. 100'er µl 2X örnek hazırlama tamponu [%4 SDS, %20 gliserol, %10 2-merkaptetanol, %5 brom fenol mavisi, 125 mM Tris



(pH 6.8)] eklenerek 3 dak kaynatıldı ve SDS-PAGE'de kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

### 3.2.8. SDS-Poliakrilamid Jel Elektrofrez

#### a. Ayırma Jelinin Hazırlanması:

Boyutları 19.5 X 19 ve 19.5 X 16 cm olan iki temiz cam tabaka ve 1.5 mm kalınlığında 3 adet spacer kullanılarak cam tabakalar arasında 1.5 mm'lik boşluk olacak şekilde bir aparat hazırlandı. Bu aparat alt kısımlarından ve yanlardan metal klipsler ile sıkıştırılarak sabitleştirildi ve dik pozisyona getirildi. Ayırma jeli (15.9 ml deiyonize su, 13.3 ml acrylamide – N, N methylene bis acrylamide (29:1), 10 ml Tris HCl (pH 8.8), 0.4 ml %10'luk SDS, 0.4 ml %10'luk APS, 0.016 ml TEMED) hazırlandı ve aparatın içine, aparatın üst kısmından 5 cm aşağıya kadar gelecek şekilde, hava kabarcığı oluşturmadan, yavaşça döküldü. Jelin üst kısmında düzgün bir yüzey oluşturmak amacı ile üzerine cam pastör pipeti ile 2-3 mm yükseklikte olacak kadar bütanol ilave edildi. Jelin polimerizasyonu için oda sıcaklığında 30 dak bekletildi.

#### b. Yığma Jelinin Hazırlanması:

Ayırma jelinin üst kısmındaki bütanol döküldü ve deiyonize su ile birkaç defa yıkandı. Kurutma kağıdı yardımı ile jelin üzerinde kalan kısım kurulandıktan sonra alt kısımdaki spacer ve klipsler çıkarıldı. Aparat, daha küçük olan cam tabaka arka kısma bakacak şekilde elektrofrez tankına yerleştirildi, iki klips yardımı ile sabitleştirildi. Alt kısımdaki tanka elektrofrez tamponu (0.025 M trizma base, 0.192 M glycine, %0.1 SDS) kondu. İki cam tabaka arasında, ayırma jelinin altında kalan hava kabarcıkları pastör pipeti yardımı ile giderildi. 1.5 mm kalınlığında biri 0.5 cm, diğeri 13 cm genişliğinde iki tarak yığma jelinin döküleceği bölüme yerleştirildi. Yığma jeli hazırlanıp pastör pipeti yardımı ile tarakların yan tarafından ilave edildi ve 30 dak oda ısısında bekletildi. Polimerizasyondan sonra taraklar dikkatlice çıkarılarak kuyucukların içi birkaç defa elektrofrez tamponu ile yıkandı.

Üst kısımdaki tank da elektroforez tamponu ile dolduruldu. Böylece jel örneklerin yürütülmesi için hazır hale getirildi.

*H. pylori* total hücre lizatları ve moleküler ağırlık standardı (MWM) - 20°C'deki derin dondurucudan çıkartılarak 5 dak kaynatıldı, 10000 rpm'de 2 dak santrifüj edildi. MWM küçük kuyucuğa 10µl, protein lizatı büyük kuyucuğa 300 µl olacak şekilde otomatik pipet yardımı ile yüklendi.

Yığıma jelinden ayırma jeline geçinceye kadar 60 V, daha sonra 150 V elektrik akımı uygulandı. Bu esnada ısı meydana gelirse buz poşetleri yardımı ile tankın çevresi ve cam tabakalar soğutuldu. İşaret boyası jelin alt kısmına 2 mm kadar yaklaştığında elektrik akımı durduruldu. Jel tanktan ve cam tabakalardan ayrılarak western blot için hazırlanan transfer tamponu (0.025 M trisma base, 0.19 M glycine, %20 metanol) içine alındı.

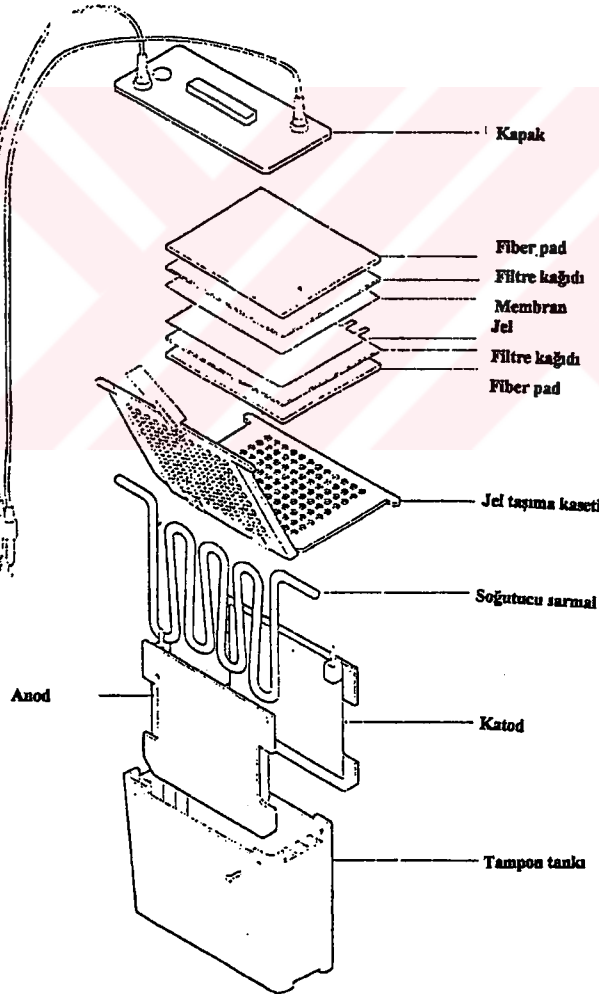
Western blot yapılmayacaksa 20 kuyucuklu tarak kullanıldı. Jel cam tabakalar arasından çıkarıldıktan sonra boyama solüsyonu (%45 deiyonize su, %45 metanol, %10 acetic acid, %0.025 commasie brillant blue R-250) içerisine kondu. Orbital karıştırıcı yardımı ile bir gece boyunca çalkalanarak boyandı. Bu işlemden sonra boya giderme solüsyonu ( %7.5 acetic acid, %20 metanol, deiyonize su) içinde protein bantları net olarak görülünceye kadar, gerektiğinde boya giderme solüsyonu değiştirilerek orbital karıştırıcı ile çalkalandı. Jelin fotoğrafı çekilerek görüntülendi. SDS- PAGE'de, daha önce hazırlanmış olan protein lizatından her kuyucuğa farklı miktarlarda yüklenerek en iyi bant görülen miktar belirlendi. Bu değer kullanılarak tek kuyucuklu tarak için gerekli olan protein lizatı miktarı hesaplandı.

### 3.2.9. Western Blot Analizi

Western blot işlemine başlanmadan önce transfer tamponu hazırlandı. SDS-PAGE yapılmış olan jel transfer tamponu içine alınarak 30 dak orbital karıştırıcı yardımı ile çalkalandı. Transfer tamponu değiştirilerek 30 dak daha çalkalandı. Bu

arada pedler, Whatman filtreleri ve nitrosellüloz membran da transfer tamponu içerisine konularak ıslatıldı.

Western blot kaseti siyah yüzeyi alta gelecek şekilde temiz bir yüzeye kondu. Scotch ped, fiber ped ve Whatman filtre kağıdı (No:3) kasetin üzerine yerleştirildi. Jel düzgün bir şekilde bunların üzerine yerleştirildi. Üzerine nitrosellüloz membran konulup hava kabarcıkları cam bir çubuk yardımı ile çıkarıldı. Üzerine Whatman filtre kağıdı (No:1) yerleştirildi, Whatman filtre kağıdı (No:3) ve fiber ped konularak kaset kapatıldı, tanka yerleştirildi (Şekil 3). Tankın içerisine magnetik bar koyulup tranfer tamponu ile dolduruldu. Bir gece boyunca 30-35 Volt elektrik akımında blot işlemi gerçekleştirildi.

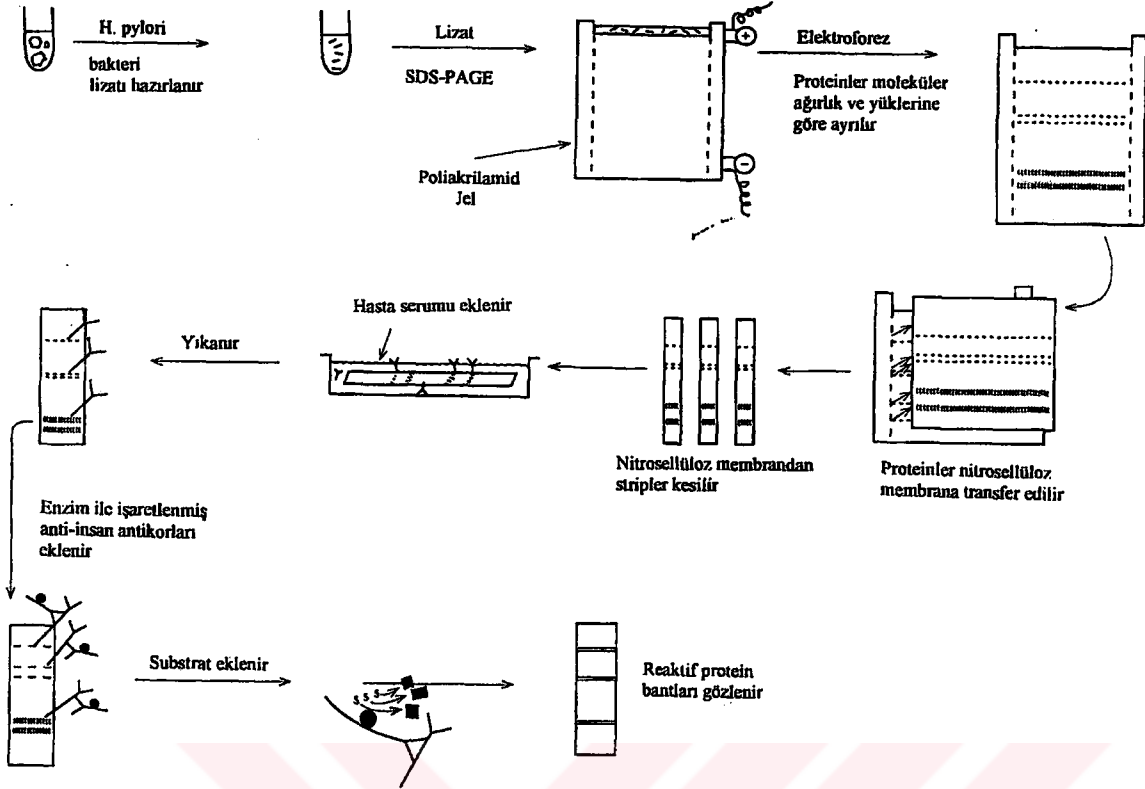


Şekil 3. Western blot aparatı

Kaset açılıp pedler ve filtre kağıtları kaldırıldı. Membranın başlangıç kısmı ve transferin gerçekleştiği yüz belirlendi. MWM bulunan bölüm kesilerek amido black boya solüsyonu (%0.1 amido black, %2 acetic acid, deiyonize su) içerisinde 2 saat bekletilerek boyandıktan sonra amido black boya giderme solüsyonu ile rengi giderildi. Jel commasie blue boyama solüsyonu ile boyanarak transferin gerçekleşip gerçekleşmediği belirlendi.

Membranın kalan kısmı oda ısısında, temiz bir cam levha üzerinde kurutuldu. Bu membran 3'er mm'lik stripler halinde kesildi. Her bir strip 3 ml hacimli kuyucukları olan kanallı mikropleyte yerleştirildi.

Tris/saline blotlama tamponu (TSBB) (0.009 M trisma base, 0.5 M NaCl, %0.5 Tween 20) içerisinde 1/5000 oranında dilüe edilen serumların herbirinden birer ml, serum ile aynı numara verilmiş olan stribin üzerine konuldu. Orbital karıştırıcı yardımı ile 1 saat çalkalanarak oda ısısında inkübe edildi ve beşer dak ara ile 4 kez TSBB ile yıkandı. Alkalen fosfataz ile konjuge edilmiş anti-insan IgG TSBB solüsyonu içerisinde 1/10000 oranında dilüe edilerek herbirine birer ml olacak şekilde, stripler üzerine eklendi. 1 saat oda ısısında çalkalanarak inkübe edildi. Stripler beşer dak ara ile 4 kez TSBB solüsyonu ile yıkandı. Substrat solüsyonunun standardizasyonu için substrat tamponuna (0.1 M Tris HCl (pH 9.5), 0.1 M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>) çeşitli miktarlarda NBT stok solüsyonu (%0.1 NBT, distile su içinde) ve BCIP stok solüsyonu (%1.1 BCIP, %70'lik etanol içinde) eklenerek en iyi bant görüntüsü elde edilen miktarlar belirlendi. Kullanılmadan hemen önce hazırlanan substrat solüsyonundan (1 ml NBT stok solüsyonu , 100 µl BCIP stop solüsyonu, 9 ml substrat tamponu) birer ml eklendi ve karanlıkta 10 dak bekletildikten sonra distile su ile yıkanarak reaksiyon durduruldu (Şekil 4) (100).



Şekil 4. Western blot analizi

### 3.3. İstatistiksel analizler

Verilerin istatistiksel analizinde birbirinden bağımsız gruplar karşılaştırılırken ki-kare ve ki-kare for trend testi, aynı bireylerin ilk ve kontrol değerleri karşılaştırılırken bağımlı gruplarda ki-kare testi (Mc Neemar), kullanıldı (101).

Duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer hesaplanırken *Receiver Operating Characteristics (ROC)* tablosundan yararlanıldı (Tablo 9)(101).

**Tablo 9: Yeni bir testin geçerliliğinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan ROC tablosu**

		GEÇERLİ (REFERANS) TEST		
		Hasta	Sağlam	TOPLAM
YENİ TEST	Hasta	Doğru pozitifler (a)	Yanlış pozitifler (b)	Toplam pozitifler (a + b)
	Sağlam	Yanlış negatifler (c)	Doğru negatifler (d)	Toplam negatifler (c + d)
	TOPLAM	Toplam hasta (a + c)	Toplam sağlam (b + d)	

Bu tabloya göre duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer aşağıda belirtilen şekilde hesaplandı.

**Duyarlılık:** Geçerliliği belirlenecek olan ölçüm yönteminin gerçekten hasta olanlardan ne kadarını hasta olarak saptayabildiğini gösterir. Yeni test ile de hasta olarak saptanan kişilerin (doğru pozitifler), referans teste göre saptanan toplam hastalara oranı yeni testin duyarlılığı olarak hesaplandı.

$$\text{Duyarlılık} = \frac{\text{Yeni testin saptadığı hastalar (doğru pozitifler)}}{\text{Toplam hasta sayısı (geçerli teste göre)}} \times 100 = \frac{a}{a + c} \times 100$$

**Özgüllük (Seçicilik):** Geçerliliği saptanacak olan yeni ölçüm yönteminin, sağlam olanlardan ne kadarını doğru olarak (sağlam) saptayabildiğini gösterir. Yeni test ile de sağlam bulunanların (doğru negatifler) referans teste göre sağlam olduğu bilinen kişilere oranı yeni testin özgüllüğü olarak belirlendi.

$$\text{Özgüllük} = \frac{\text{Yeni testin saptadığı sağlamlar (doğru negatifler)}}{\text{Toplam hasta sayısı (geçerli teste göre)}} \times 100 = \frac{b}{b + d} \times 100$$

**Pozitif prediktif değer:** Uygulanan yeni tanı testine pozitif sonuç veren tüm kişilerin ne kadarının gerçekten hasta (geçerli teste göre) olduğunu gösterir.

$$\text{Pozitif prediktif değer} = \frac{\text{Doğru pozitifler (geçerli teste göre)}}{\text{Toplam pozitifler (yeni teste göre)}} \times 100 = \frac{a}{a + b} \times 100$$

**Negatif prediktif değer:** Uygulanan yeni tanı testine negatif sonuç veren kişilerin ne kadarının gerçekten sağlam (geçerli teste göre) olduğunu gösterir.

$$\text{Negatif prediktif değer} = \frac{\text{Doğru negatifler (geçerli teste göre)}}{\text{Toplam negatifler (yeni teste göre)}} \times 100 = \frac{d}{c + d} \times 100$$



#### 4. BULGULAR

Bu çalışma KTÜ Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Haziran 1998-Ağustos 1999 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Bu süre içinde toplam 789 hastanın gastrik antral biyopsi örnekleri alındı ve bu örneklerin 510'unda (%64.64) Gram boyama ile *H. pylori* tespit edildi. Hastaların 311'inde kültürde bu mikroorganizma üretilti. (Tablo 10, Şekil 5,6).

**Tablo 10: Gastrik biyopsi örneklerinde mikroskopi ve kültür ile *H. pylori* tespit edilme oranları**

Toplam vaka sayısı (N)	Mikroskopi		Kültür	
	<i>H. pylori</i> (+)	%	<i>H. pylori</i> (+)	%
789	510	64.64	311	39.41

\*Kültür pozitiflik oranı mikroskopisi pozitif bulunan hastalarda %60.98'dir.

Hastaların 442'si kadın, 347'si erkek idi. Kadın hastaların 268'inde (%60.63), erkek hastaların 242'sinde (%69.74) Gram boyama ile direkt mikroskopik incelemede *H. pylori* varlığı tespit edildi (Tablo 11).

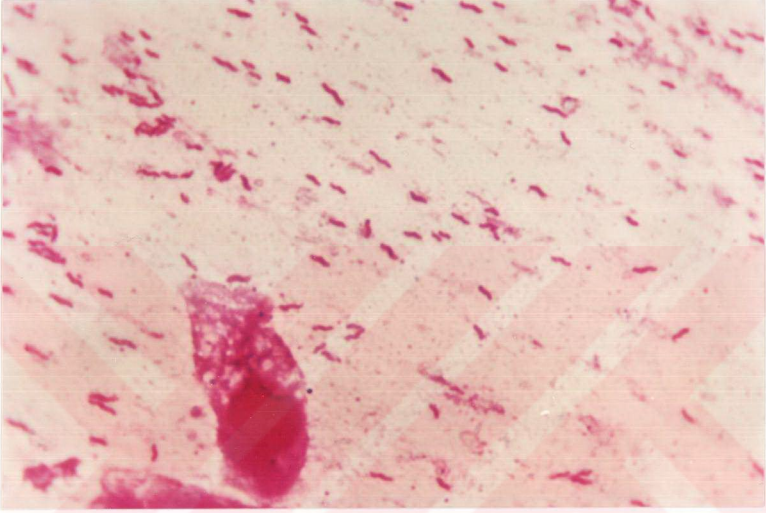
**Tablo 11: *H. pylori* mikroskopisi pozitifliğinin cinsiyete göre dağılımı**

	Vaka sayısı (n)	Mikroskopisi pozitif hasta sayısı	%
Kadın	442	268	60.63
Erkek	347	242	69.74
Toplam	789	510	64.64

p=0.0079



Çalışma grubundaki erkek hastalarda kadın hastalara göre daha yüksek oranda *H. pylori* tespit edildi ve cinsiyete göre *H. pylori* mikroskopi pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulundu ( $p=0.0079$ ).



Şekil 5: Gastrik biyopsi örneklerinden hazırlanan preparatlarda *H. pylori*' lerin görünümü (Gram boyama X100). Bakteriler Gram negatif, spiral şekilli basiller şeklinde görülmektedir.



**Şekil 6: Kültürde saf olarak üreyen *H. pylori*'lerin oluşturduğu şeffaf, yuvarlak, konveks ve saydam kolonilerin görünümü.**

Çalışma grubundaki 789 hastanın 11'inin endoskopi raporlarına ulaşılamadı. Hastaların 778'inde endoskopik bulgular kaydedildi. Bu hastaların gastroenterolog tarafından belirlenen muhtemel endoskopik ön tanıları ve her gruptaki mikroskopi pozitiflik oranları Tablo 12'de gösterilmiştir.

**Tablo 12: Endoskopik ön tanılara göre *H. pylori* mikroskopi pozitifliğinin dağılımı**

Endoskopik Bulgu	Hasta sayısı (n)	Mikroskopi pozitif hasta sayısı	%
1. Duodenal erezyon	9	8	88.9
2. Gastrik ülser	13	11	84.6
3. Duodenal ülser	227	181	79.7
4. Atrofik gastrit	166	121	72.8
5. Duodenit	33	24	72.7
6. Antral eroziv gastrit	39	27	69.2
7. Reflü özofajit	23	14	60.9
8. Gastrik polip	12	7	58.3
9. Endoskopik eritematöz antral gastrit	173	95	54.9
10. Enterogastrik reflü gastriti	36	19	52.8
11. Gastrik kanser	40	12	30
12. Doudenal polip	1	1	-
13. Varialiform duodenit	3	3	-
14. Varialiform gastrit	2	2	-
15. Tüm midede endoskopik eritematöz gastrit	1	1	-
TOPLAM	778	516	% 66.3

Endoskopik ön tanılara göre en yüksek mikroskopi pozitiflik oranı duodenal erozyon görülen grupta (%88.9), en düşük ise kanserli grupta (%30.00) tespit edildi.

Çalışmaya alınan 789 hastanın 46'sının gastrik biyopsi örnekleri çeşitli nedenlerle takip edilemedi. Histopatolojik inceleme sonucunda displazik değişiklikler görülen 5 adet biyopsinin tekrarı önerildi. Bunlar dışındaki 738 biyopsi örneğinde elde edilen mikroskopi pozitiflik oranlarının histopatolojik sınıflandırmaya göre dağılımları Tablo 13'te gösterilmiştir.

**Tablo 13: Histopatolojik sınıflandırmaya göre *H. pylori* mikroskopi pozitifliğinin dağılımı**

Histopatoloji	Hasta sayısı (n)	Mikroskopisi pozitif Hasta sayısı	%
Normal	6	1	16.60
Hafif	332	184	55.42
Orta	345	266	77.10
Şiddetli	23	20	86.95
Ca	32	12	37.50
TOPLAM	738	483	65.45

p= 0.0000

Histopatolojik incelemesi normal olan grupta en düşük (%16.60), şiddetli gastrit görülen grupta ise en yüksek mikroskopi pozitiflik oranı (%89.47) tespit edildi. Bu sonuçlara göre histopatolojik gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmektedir (p=0.0000). Ayrıca kronik gastritin şiddeti arttıkça direkt mikroskopide *H. pylori* varlığında belirgin bir artış tespit edildi ve bu artış da istatistiksel yönden anlamlı bulundu (p=0.0000). Gastrik kanserli hastalarda mikroskopide *H. pylori* tespit edilme oranı normal bulgular elde edilen gruba göre yüksek bulunmakla birlikte bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0.6425).

Çalışmamızın hedefini oluşturan serolojik çalışmalardan olan ELISA ile *H. pylori*'ye karşı gelişen IgG, IgA ve IgM antikoru araştırıldı. Ancak ekonomik nedenlerle tüm hasta grubunda bu çalışmalar yapılamayıp, sadece ilk başvurusundan 2-2.5 ay sonra kontrole gelen hasta grubunda ELISA ile bu antikoru taranabildi.

Hastalardan 97'si kontrol için başvurdu. Bu hastaların ilk ve ikinci başvurularında alınan biyopsi ve serum örneklerindeki mikroskopi ve anti-*H. pylori* IgG, IgA ve IgM sonuçları Tablo 14'te verilmiştir. Anti-*H. pylori* IgG 97 hastanın tüm örneklerinde çalışılabilirken, ticari kitler ile çalışılan anti-*H. pylori* IgA, kitin kapasitesi gereği toplam 86, anti-*H. pylori* IgM, aynı sebeple toplam 88 hastada çalışılabilmiştir.

**Tablo 14: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında mikroskopi ve anti-*H. pylori* IgG, IgA ve IgM sonuçları**

Sıra No	Hasta no	1. Mikroskopi	2. Mikroskopi	1. IgG	2. IgG	1. IgA	2. IgA	1. IgM	2. IgM
1.	7	+	-	+	+	+	+	-	-
2.	16	+	-	+	+	+	+	-	-
3.	20	+	-	+	+	+	+	-	-
4.	21	+	-	+	+	+	+	+	+
5.	43	+	-	-	-	-	-	+	-
6.	47	-	-	+	+	+	+	-	-
7.	49	+	-	+	+	+	+	-	-
8.	57	+	-	+	+	+	+	-	-
9.	58	+	-	+	+	+	+	-	-
10.	66	+	-	+	+	+	+	-	-
11.	72	+	-	+	+	+	+	-	-
12.	73	+	-	+	+	+	+	-	-
13.	86	+	+	+	+	-	-	-	-
14.	89	+	+	+	+	+	+	-	-
15.	97	+	-	+	+	+	+	-	-
16.	103	+	-	+	+	+	+	-	-
17.	108	+	-	+	+	+	+	-	-
18.	118	+	-	+	-	+	-	-	-
19.	130	+	+	+	+	+	+	-	-
20.	131	+	+	+	+	-	-	-	-
21.	135	+	-	+	+	-	-	-	-
22.	142	+	-	+	+	+	+	-	-
23.	145	+	+	+	+	+	+	-	-
24.	146	-	+	+	+	+	+	-	-
25.	154	+	-	+	+	+	+	+	-
26.	161	+	+	+	+	+	+	-	-
27.	162	+	+	+	+	+	+	+	-
28.	168	+	-	+	+	+	+	-	-
29.	171	+	-	+	+	+	+	-	-
30.	172	+	+	+	+	+	+	-	-
31.	173	-	-	+	-	+	+	-	-
32.	177	+	-	+	+	+	+	-	-
33.	187	+	+	+	+	-	-	-	-
34.	189	+	-	+	+	+	+	-	-
35.	200	+	-	+	+	+	+	-	-
36.	206	+	-	+	+	-	-	-	-

Tablo 14'ün devamı

37.	208	+	+	+	+	+	-	-	-
38.	210	-	-	+	+	+	+	-	-
39.	249	-	-	+	+	Ø	Ø	-	-
40.	231	-	-	+	-	+	+	-	-
41.	243	+	-	+	+	+	+	-	-
42.	244	+	-	+	-	+	+	-	-
43.	253	+	+	+	+	-	-	-	-
44.	255	+	-	+	+	+	+	-	-
45.	262	+	-	+	-	+	+	-	-
46.	279	+	+	+	+	Ø	Ø	-	-
47.	281	+	-	+	-	+	+	-	-
48.	282	+	-	-	-	-	-	-	-
49.	287	+	-	+	+	+	+	-	-
50.	291	+	-	+	+	+	+	-	-
51.	298	+	-	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
52.	310	+	-	+	-	+	+	-	-
53.	312	+	-	+	-	+	+	-	-
54.	318	-	-	+	-	+	+	-	-
55.	342	+	-	+	+	+	+	-	-
56.	355	+	-	+	+	-	-	-	-
57.	356	+	-	+	+	+	+	-	-
58.	359	+	+	+	+	-	+	-	-
59.	363	-	-	-	-	-	-	-	-
60.	364	+	-	+	+	+	+	-	-
61.	369	+	+	+	+	+	+	-	-
62.	371	+	-	+	+	+	+	-	+
63.	379	+	-	+	+	+	+	-	-
64.	380	+	-	+	+	+	+	-	-
65.	381	+	+	+	+	+	+	-	-
66.	383	+	-	+	+	+	+	-	-
67.	385	+	-	+	+	+	+	-	-
68.	386	+	-	+	+	+	+	-	+
69.	387	+	+	+	+	+	+	-	-
70.	390	+	-	+	+	+	+	-	-
71.	391	+	-	+	+	+	+	-	-
72.	397	+	+	+	+	+	+	-	-
73.	403	+	-	+	+	+	+	-	-
74.	411	+	-	+	+	+	+	-	-
75.	414	+	-	+	+	-	-	-	-
76.	421	+	-	+	+	-	-	-	-
77.	434	+	-	+	+	+	+	-	-

Tablo 14'ün devamı

78.	440	+	-	+	+	+	+	-	-
79.	442	+	-	+	+	+	+	-	-
80.	469	+	+	+	+	+	+	-	-
81.	472	+	-	+	+	+	+	+	+
82.	476	+	+	+	+	+	+	-	-
83.	490	-	+	+	+	-	-	-	-
84.	492	+	-	+	+	+	+	-	-
85.	494	+	+	+	+	+	+	-	-
86.	500	+	-	+	+	+	+	-	-
87.	505	+	+	+	+	+	+	-	-
88.	509	+	+	+	+	-	-	-	-
89.	514	+	-	+	+	+	+	-	-
90.	534	+	+	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
91.	563	-	-	-	-	Ø	Ø	Ø	Ø
92.	569	+	-	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
93.	575	+	-	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
94.	591	+	-	+	-	Ø	Ø	Ø	Ø
95.	641	-	-	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
96.	662	+	-	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
97.	676	+	-	+	+	Ø	Ø	Ø	Ø
Toplam pozitif örnek sayısı		86	25	93	83	71	70	5	4

Ø: Çalışılmayan örnekler

Çalışmaya alınan hastaların ilk ve ikinci başvurularında alınan biyopsi örneklerindeki mikroskopi bulguları Tablo 15'te karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir.

**Tablo 15: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında *H. pylori* mikroskopi sonuçları**

		İlk başvuru mikroskopi		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	TOPLAM
İkinci başvuru mikroskopi	Pozitif (+)	23	2	25
	Negatif (-)	63	9	72
	TOPLAM	86	10	97

Toplam 97 hastanın ilk ve ikinci başvurularında alınan serumlarında in-house ELISA yöntemi ile anti-*H. pylori* IgG antikor varlığı ve düzeyi araştırıldı. Bu hastaların 93'ünde (%95.88) anti-*H. pylori* IgG pozitif olarak tespit edildi.

Hastaların ilk alınan biyopsi örneklerindeki mikroskopi bulguları ve serum anti-*H. pylori* IgG bulguları Tablo 16'da gösterilmiştir. İlk alınan biyopsi örneklerinde mikroskopi pozitifliği geçerli test olarak alındığında, ELISA ile anti-*H. pylori* IgG tayininin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerleri Tablo 17'de verilmiştir.

**Tablo 16: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi ve serum anti-*H. pylori* IgG bulguları**

		İlk başvuru		TOPLAM
		mikroskopi		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	
İlk başvuru	Pozitif (+)	84	9	93
anti- <i>H. pylori</i> IgG	Negatif (-)	2	2	4
TOPLAM		86	11	97

**Tablo 17: İlk başvuruda mikroskopi geçerli test alındığında anti-*H. pylori* IgG tayininin tanısal değeri**

Anti- <i>H. pylori</i> IgG	
Duyarlılık	%97.67
Özgüllük	%18.18
Pozitif prediktif değer	%90.32
Negatif prediktif değer	%50.00

Elde edilen verilere göre ilk alınan serumlarda anti-*H. pylori* IgG antikorlarının tespiti için hazırlanan bu ELISA sistemi ile, gerçekte hasta (mikroskopisi pozitif) olanların %97.67'sinin hasta olarak saptanabildiği, ancak sağlam (mikroskopisi negatif) olanların sadece %18.18'inin gerçekten sağlam



olduğunun gösterilebildiği görülmüştür. Testin pozitif prediktif değeri %90.32, negatif prediktif değeri %50 olarak bulunmuştur. Bu değerler anti-*H. pylori* IgG'si pozitif olarak tespit edilenlerin %90.32'sinin gerçekten hasta olmasının, anti-*H. pylori* IgG'si negatif olarak tespit edilenlerin sadece %50'sinin gerçekten sağlam olmasının beklenebileceğini göstermektedir.

Hastaların ikinci başvurularında alınan biyopsi örneklerindeki mikroskopi bulguları ve serum anti-*H. pylori* IgG bulguları Tablo 18'de gösterilmiştir. Mikroskopi pozitifliği geçerli test olarak alındığında, serumda ELISA ile anti-*H. pylori* IgG bakılmasının duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerleri Tablo 19'da verilmiştir.

**Tablo 18: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi ve serum anti-*H. pylori* IgG bulguları**

		İkinci başvuru mikroskopi		TOPLAM
		Pozitif (+)	Negatif (-)	
İkinci başvuru anti- <i>H. pylori</i> IgG	Pozitif (+)	25	58	83
	Negatif (-)	-	14	14
	TOPLAM	25	72	97

**Tablo 19: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi geçerli test olarak alındığında, anti-*H. pylori* IgG tayininin tanısal değeri**

	Anti- <i>H. pylori</i> IgG
Duyarlılık	%100
Özgüllük	%19.44
Pozitif prediktif değer	%30.12
Negatif prediktif değer	%19.44

Hastaların ikinci başvurularında alınan serumlarda anti-*H. pylori* IgG antikollarının tespiti ile, gerçekten hasta (mikroskopisi pozitif) olanlardan %100'ü doğru olarak saptanabilmekte, ancak sağlam (mikroskopisi negatif) olanlardan

%19.44'ünün gerçekten sağlam olduğu gösterilebilmektedir. Anti-*H. pylori* IgG bakılmasının hesaplanan pozitif prediktif değeri, bu testi pozitif olarak bulunan kişilerin gerçekte %30.12'sinin hasta olduğunu, negatif prediktif değeri ise test sonucu negatif olarak tespit edilen kişilerin gerçekte %19.44'ünün sağlam olduğunu göstermektedir.

Hastaların ilk ve ikinci başvurularında alınan serumlarında elde edilen anti-*H. pylori* IgG bulguları Tablo 20'de gösterilmiştir.

**Tablo 20: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında anti-*H. pylori* IgG sonuçlarının karşılaştırılması**

		İlk başvuru		
		anti- <i>H. pylori</i> IgG		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	TOPLAM
İkinci başvuru anti- <i>H. pylori</i> IgG	Pozitif (+)	83	-	83
	Negatif (-)	10	4	14
	TOPLAM	93	4	97

p<0.01

Elde edilen değerlere göre ikinci kez alınan serum örneklerinde elde edilen anti-*H. pylori* IgG bulguları, ilk alınan serumda elde edilenlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır (p<0.01).

Anti-*H. pylori* IgG bakılan 97 hastanın 23'ünün ilk ve ikinci başvurularında alınan biyopsi örneklerinde mikroskopi pozitif olarak saptanmıştır. Bu hastaların herbirinin ilk ve ikinci başvurularında alınan serum örneklerinde anti-*H. pylori* IgG'nin 405 nm'deki optik dansiteleri (OD) okunarak, ilk ve ikinci serumdaki değerler arasındaki fark yüzde azalma ya da artma şeklinde hesaplanmış ve bu 23 hastanın OD'deki azalma ya da artma oranlarının aritmetik ortalaması alınmıştır. İlk alınan biyopsi örneğinde mikroskopisi pozitif iken, ikinci alınan biyopsi örneğinde mikroskopisi negatif olarak bulunan 64 hastada anti-*H. pylori* IgG'nin 405 nm'de okunan OD'de ortalama değişiklik de aynı şekilde hesaplanmıştır. Mikroskopi

pozitifliği devam eden grupta ortalama %11.19 oranında azalma tespit edilirken mikroskopisi negatifleşen grupta %16.02 oranında azalma olduğu görülmüştür (Tablo 21).

**Tablo 21: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında anti-*H. pylori* IgG'nin OD'deki % değişimin mikroskopi pozitifliğindeki değişime göre dağılımı**

İlk biyopsi örneği	İkinci biyopsi örneği	Sayı (n)	Anti- <i>H. pylori</i> OD'deki % değişiklik (ortalama)
Mikroskopi (+)	Mikroskopi (+)	23	11.19 ↓
Mikroskopi (+)	Mikroskopi (-)	64	16.02 ↓

Bu bulgular istatistiksel olarak değerlendirme için uygun olmasa da aralarında çok büyük bir fark olmadığı göze çarpmaktadır.

Çalışmaya alınan hastalarda anti- *H. pylori* IgG OD değerlerinin histopatolojik sınıflar, endoskopik ön tanılar ve hastaların şikayetlerinin süreleri ile ilişkili olmadığı görülmüştür.

Toplam 86 hastanın ilk ve ikinci başvurularında alınan serumlarda anti-*H. pylori* IgA çalışıldı. Bu hastaların 71'inde (%82.55) anti-*H. pylori* IgA pozitif olarak bulundu.

Hastaların ilk alınan biyopsi örneklerindeki mikroskopi bulguları ve serum anti-*H. pylori* IgA bulguları Tablo 22'de gösterilmiştir. İlk alınan biyopsi örneklerinde mikroskopi pozitifliği geçerli test olarak alındığında, ELISA ile anti-*H. pylori* IgA bakılmasının duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerleri Tablo 23'te verilmiştir.

**Tablo 22: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi ve serum anti-*H. pylori* IgA bulguları**

		İlk başvuru mikroskopi		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	TOPLAM
İlk başvuru	Pozitif (+)	65	6	71
anti- <i>H. pylori</i> IgA	Negatif (-)	13	2	15
TOPLAM		78	8	86

**Tablo 23: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi geçerli test alındığında anti-*H. pylori* IgA tayininin tanısal değeri**

Anti- <i>H. pylori</i> IgA	
Duyarlılık	%83.33
Özgüllük	%25.00
Pozitif prediktif değer	%91.54
Negatif prediktif değer	%13.33

Hastaların ilk başvurularında serumlarda anti-*H. pylori* IgA antikorlarının bakılması ile, gerçekten hasta (mikroskopisi pozitif) olanlardan %83.33'ü doğru olarak saptanabilmekte, sağlam (mikroskopisi negatif) olanlardan %25.00'inin gerçekten sağlam olduğu gösterebilmektedir. Hesaplanan pozitif prediktif değer, anti-*H. pylori* IgA'sı pozitif olarak bulunan kişilerin gerçekte %91.54'ünün hasta olduğunu, negatif prediktif değer ise test sonucu anti-*H. pylori* IgA'sı negatif olarak tespit edilen kişilerin gerçekte %56.25'inin sağlam olduğunu göstermektedir.

Hastaların ikinci başvurularında alınan biyopsi örneklerindeki mikroskopi bulguları ve serum anti-*H. pylori* IgA bulguları Tablo 24'te gösterilmiştir. İkinci başvuruda alınan biyopsi örneklerinde mikroskopi pozitifliği geçerli test olarak alındığında, ikinci başvuruda alınan serumda ELISA ile anti-*H. pylori* IgA bakılmasının duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerleri Tablo 25'te verilmiştir.

**Tablo 24: Hastaların ikinci başvurularında alınan biyopsi örneklerinde mikroskopi ve serum anti-*H. pylori* IgA bulguları**

		İkinci başvuru mikroskopi		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	TOPLAM
İkinci başvuru anti- <i>H. pylori</i> IgA	Pozitif (+)	16	54	70
	Negatif (-)	7	9	16
	TOPLAM	23	63	86

**Tablo 25: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi geçerli test alındığında, anti-*H. pylori* IgA tayininin tanısal değeri**

Anti- <i>H. pylori</i> IgA	
Duyarlılık	%69.56
Özgüllük	%14.29
Pozitif prediktif değer	%22.86
Negatif prediktif değer	%56.25

Hastaların ikinci başvurularında alınan serumlarda anti-*H. pylori* IgA antikörlerinin tespiti ile, gerçekten hasta (mikroskopisi pozitif) olanlardan %69.56'sı doğru olarak saptanabilmekte, sağlam (mikroskopisi negatif) olanlardan %14.29'unun gerçekten sağlam olduğu gösterilebilmektedir. Hastaların ikinci başvurularında anti-*H. pylori* IgA bakılmasının hesaplanan pozitif prediktif değeri, bu testi pozitif olarak bulunan kişilerin gerçekte %22.86'sının hasta olduğunu, negatif prediktif değeri ise test sonucu negatif olarak tespit edilen kişilerin gerçekte %56.25'inin sağlam olduğunu göstermektedir.

Hastaların ilk ve ikinci başvurularında alınan serumlarda anti-*H. pylori* IgA bulguları Tablo 26'da verilmiştir.

**Tablo 26: Hastaların ilk ve ikinci başvurularında anti-*H. pylori* Ig A sonuçları**

		İlk başvuru		
		anti- <i>H. pylori</i> IgA		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	TOPLAM
İkinci başvuru anti- <i>H. pylori</i> IgA	Pozitif (+)	69	2	71
	Negatif (-)	1	14	15
	TOPLAM	70	16	86

$p > 0.05$

İlk ve ikinci başvuruda alınan kan örneklerinde elde edilen anti-*H. pylori* IgA sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmedi ( $p > 0.05$ ).

Çalışmamızda toplam 88 hastanın ilk ve ikinci başvurularında alınan serumlarında anti-*H. pylori* IgM çalışıldı. Bu hastaların 5'inde (%5.68) anti-*H. pylori* IgM pozitif olarak tespit edildi.

Hastaların ilk alınan biyopsi örneklerindeki mikroskopi bulguları ve serum anti-*H. pylori* IgM bulguları Tablo 27'de gösterilmiştir. İlk alınan biyopsi örneklerinde mikroskopi pozitifliği geçerli test olarak alındığında, ELISA ile anti-*H. pylori* IgM bakılmasının duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerleri Tablo 28'de verilmiştir.

**Tablo 27: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi ve anti-*H. pylori* IgM bulguları**

		İlk başvuru		
		mikroskopi		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	TOPLAM
İlk başvuru anti- <i>H. pylori</i> IgM	Pozitif (+)	5	-	5
	Negatif (-)	-	83	83
	TOPLAM	5	83	88

**Tablo 28: Hastaların ilk başvurularında mikroskopi geçerli test alındığında anti-*H. pylori* IgM tayininin tanısal değeri**

Anti- <i>H. pylori</i> IgM	
Duyarlılık	%1.00
Özgüllük	%1.00
Pozitif prediktif değer	%1.00
Negatif prediktif değer	%1.00

Hastaların ikinci başvurularında alınan biyopsi örneklerindeki mikroskopi bulguları ve serum anti-*H. pylori* IgM bulguları Tablo 29’da gösterilmiştir. İkinci başvuruda alınan biyopsi örneklerinde mikroskopi pozitifliği geçerli test olarak alındığında serumda ELISA ile anti-*H. pylori* IgM bakılmasının duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerleri Tablo 30’da verilmiştir.

**Tablo 29: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi ve serum anti-*H. pylori* IgM bulguları**

		İkinci başvuru mikroskopi		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	TOPLAM
İkinci başvuru anti- <i>H. pylori</i> IgM	Pozitif (+)	-	4	4
	Negatif (-)	24	60	84
	TOPLAM	24	64	88

**Tablo 30: Hastaların ikinci başvurularında mikroskopi geçerli test alındığında, anti-*H. pylori* IgM tayininin tanısal değeri**

Anti- <i>H. pylori</i> IgM	
Duyarlılık	%0
Özgüllük	%6.25
Pozitif prediktif değer	%0
Negatif prediktif değer	%71.43

Hastaların ilk ve ikinci başvurularında alınan serum örneklerindeki anti-*H. pylori* IgM bulguları Tablo 31’de verilmiştir.

**Tablo 31: Hastaların ilk ve ikinci başvuruda alınan serum örneklerinde anti-*H. pylori* IgM sonuçları**

		İlk başvuru		
		anti- <i>H. pylori</i> IgM		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	TOPLAM
İkinci başvuru anti- <i>H. pylori</i> IgM	Pozitif (+)	2	2	4
	Negatif (-)	3	80	83
	TOPLAM	5	82	87

$p > 0.05$

İlk ve ikinci başvuruda alınan kan örneklerinde elde edilen anti-*H. pylori* IgM sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmedi ( $p > 0.05$ ).

Ekonomik nedenlerle, serolojik takibi yapılan hastalardan sadece 31’inin ilk ve ikinci başvurularında alınan serum örneklerinde western blot analizi yapılarak hangi protein bantlarına karşı anti-*H. pylori* IgG türü antikorlar oluştuğu analiz edildi. Çalışma grubundaki 31 hastanın 27’sinde mikroskopi pozitifliği. Bu hastaların belirlenen reaktif protein bant paternleri Şekil 7,8,9 ve 10’da gösterilmiştir. Bu hastaların 17’sinde ilk alınan biyopsi örneğinde mikroskopi pozitif olarak tespit edilmiş, ikinci biyopsi örneğinde mikroskopinin negatifleştiği görülmüştür. Bu hastaların ilk ve ikinci serum örneklerinden elde edilen reaktif protein bantları ve ikinci örneklerde eksilen bantlar Tablo 32’de gösterilmiştir.

Çalışmaya alınan hastalardan 10’unda ilk biyopsilerinde elde edilen mikroskopi pozitifliğinin ikinci biyopsi örneklerinde de devam ettiği görülmüştür. Bu hastaların ilk ve ikinci serum örneklerinden elde edilen reaktif protein bantları ve ikinci örneklerde eksilen bantlar Tablo 33’te gösterilmiştir.

Hastalardan 4’ünde ilk ve ikinci alınan biyopsi örneklerinde mikroskopi negatif olarak belirlenmiş, ancak bu hastalarda da *H. pylori*’ye karşı oluşmuş IgG türü antikorlar tespit edilmiştir. Bu hastaların ilk ve ikinci serum örneklerinden elde



edilen reaktif protein bantları ve ikinci örneklerde eksilen bantlar Tablo 34'de gösterilmiştir.

Western blot analizi yapılan 31 hastanın ilk başvurularında alınan serum örneklerinin 15'inde (%48.38) 130 kDa ağırlığındaki CagA proteinin bulunduğu protein bantına karşı, 25'inde (% 80.64) 87 kDa ağırlığındaki VacA proteininin bulunduğu protein bantına karşı reaktif bantlar tespit edilmiştir (Tablo 35).



**Tablo 32: İlk alınan biyopsi örneğinde mikroskopik pozitif olarak tespit edilen, ikinci biyopsi örneğinde mikroskopinin negatifleşen hastaların ilk ve ikinci serum örneklerinden elde edilen reaktif protein bantları ve ikinci örneklerde eksilen bantlar**

Sıra no	Hasta no	1. 2. mikr.	1. serumdaki reaktif protein bantları	2. serumdaki reaktif protein bantları	Eksilen bantlar
1.	21	+	130,94,87,84,74,70,64,59,54,52,48,43	130,94,87,84,74,64,59,54,52,48,43	70
2.	43	+	61	61	
3.	49	+	130,94,92,87,84,74,70,64,61,58,54,52,51,48,43,30	94,92,87,84,58,54,52,51,48	130,74,70,64,61,48,43,30
4.	57	+	130,94,87,84,74,64,61,58,54,51,48,45,43,42,41,39,35,34,32	94,87,84,61,58,54,51,48,45,43	130,74,64,61,42,41,39,35,32
5.	58	+	130,94,87,84,74,70,61,58,54,52,48,45,30	87,84,70,61,58,54,52,48	130,94,74,45,30
6.	73	+	130,94,87,84,74,70,64,61,58,54,52,43	94,87,84,74,70,58,54,52	130,64,61,43
7.	97	+	87,84,64,58,54,52,45,44,39,36,34	87,84,64,58,54,52,45,44,39,36,34	
8.	103	+	45	45	
9.	108	+	130,94,87,84,79,74,70,64,61,58,54,51,45,40,39,37,36,35,34	94,87,84,74,70,64,61,58,54,51,4540,39	130,79,37,36,35,34
10.	118	+	94,92,87,84,70,64,58,54,51,43,40,39,35,33,30	94,92,87,84,58,54,43	70,64,51,40,39,35,33,30
11.	168	+	92,87,84,74,70,64,58,54,51,44,43,30	92,87,84,74,70,64,58,54,51,44,43,30	
12.	135	+	94,87,84,79,74,70,64,61,58,54,52,51,50,48,45,43,42,36,35,34,30	94,87,84,74,64,61,58	79,70,54,52,51,50,48,45,42,36,35,34,30
13.	142	+	94,87,84,79,74,64,61,58,30	94,87,84	79,74,64,61,58,30
14.	154	+	130,94,87,84,79,74,70,64,61,58,54,52,45,42,40,36,35,34,30	94,87,84,74,70,64,61,58,54,52,45,42,40	130,79,36,35,34,30
15.	171	+	87,84,61,54,51	54	87,84,61,51
16.	177	+	130,94,87,84,79,74,64,61,58,54,51,48,45,43,42,41,39,35,34,32	130,94,87,84,79,74,64,61,58,54,51,48,45,43,42,41,39,32	35,34
17.	206	+	130,94,87,84,79,74,66,61,54,48,45,42,41,39	130,94,87,84,79,74,61,54,48,45,42,41,39	66,35,34,32

**Tablo 33: İlk alınan biyopsi örneğinde mikroskopi pozitif olarak tespit edilen, ikinci biyopsi örneğinde mikroskopi pozitif olarak devam eden hastaların ilk ve ikinci serum örneklerinden elde edilen reaktif protein bantları ve ikinci örneklerde eksilen bantlar**

Sıra no	Hasta no	1. mikr.	2. mikr.	1. serumdaki reaktif protein bantları	2. serumdaki reaktif protein bantları	Eksilen bantlar
1	86	+	+	94,92,87,84,74,58,54,52	92,87,84,74,58,54,52	94
2	89	+	+	130,94,87,84,74,64,58,54,52,43	130,94,87,84,74,64,58,54,52,43	
3	130	+	+	87,84,43	87,84,43	
4	131	+	+	130,94,87,84,79,74,70,64,61,58,54,52,51,48,43,42,36,35,34,30	94,87,84,74,61,58	130,74,70,64,54,52,51,48,434 2,36,35,34,30
5	145	+	+	87,84,58,54,30	87,84,58,54,30	
6	146	+	+	94,87,84,74,70,64,61,58,54,52,45,42,30	94,87,84,74,70,64,61,58,52,30	54,45,42,
7	161	+	+	94,87,84,79,74,70,64,61,58,54,52,45,42,40,36,35,34	94,87,84,79,74,70,64,61,58,54,52,45, 42,40,36,35,34	
8	162	+	+	87,84,61	87,84	61
9	187	+	+	130,94,87,84,79,74,61,58,54,45,30	130,94,87,84,79,74,61,58,54,45,30	
10	208	+	+	130,94,87,84,74,61,58,48,45,41	130,94,87,84,74,61,58,48,45,41	

**Tablo 34: İlk alınan ve ikinci olarak alınan biyopsi örneklerinde mikroskopisi negatif olarak tespit edilen hastaların ilk ve ikinci serum örneklerinden elde edilen reaktif protein bantları ve ikinci örneklerde eksilen bantlar**

Sıra no	Hasta no	1. mikr.	2. mikr.	1. serumdaki reaktif protein bantları	2. serumdaki reaktif protein bantları	Eksilen bantlar
1	47	-	-	61,58,54,52,50,48,45,30	61,58,54,52,30	50,48,45
2	173	-	-	94,87,84,74,54,45	87,84	94,74,54,45
3	210	-	-	130,94,87,84,74,61,58,48,45,42	130,94,87,84,74,61,58,48,45,42	
4	231	-	-	130,94,87,84,74,64,61,58,54,48	94,87,84,74,64,61,58,54,48	130

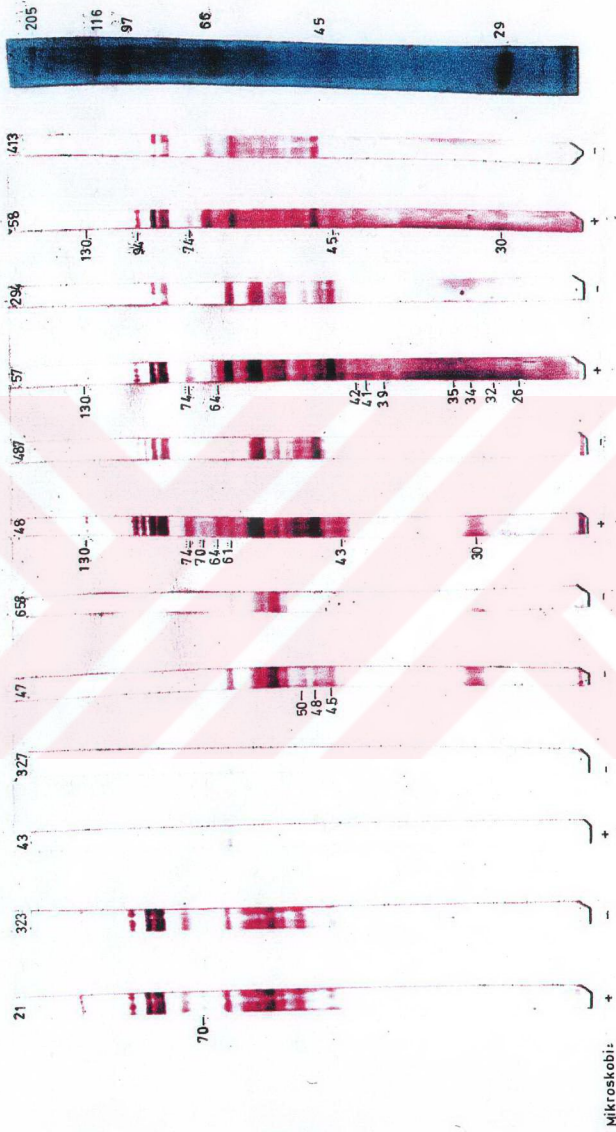
**Tablo 35: Western blot analizinde CagA ve VacA proteinine karşı reaktif bant tespit edilen hasta sayısı**

Mikroskopi (+) hasta sayısı	CagA (+) hasta sayısı	%	VacA (+) hasta sayısı	%
31	15	48.38	25	80.64

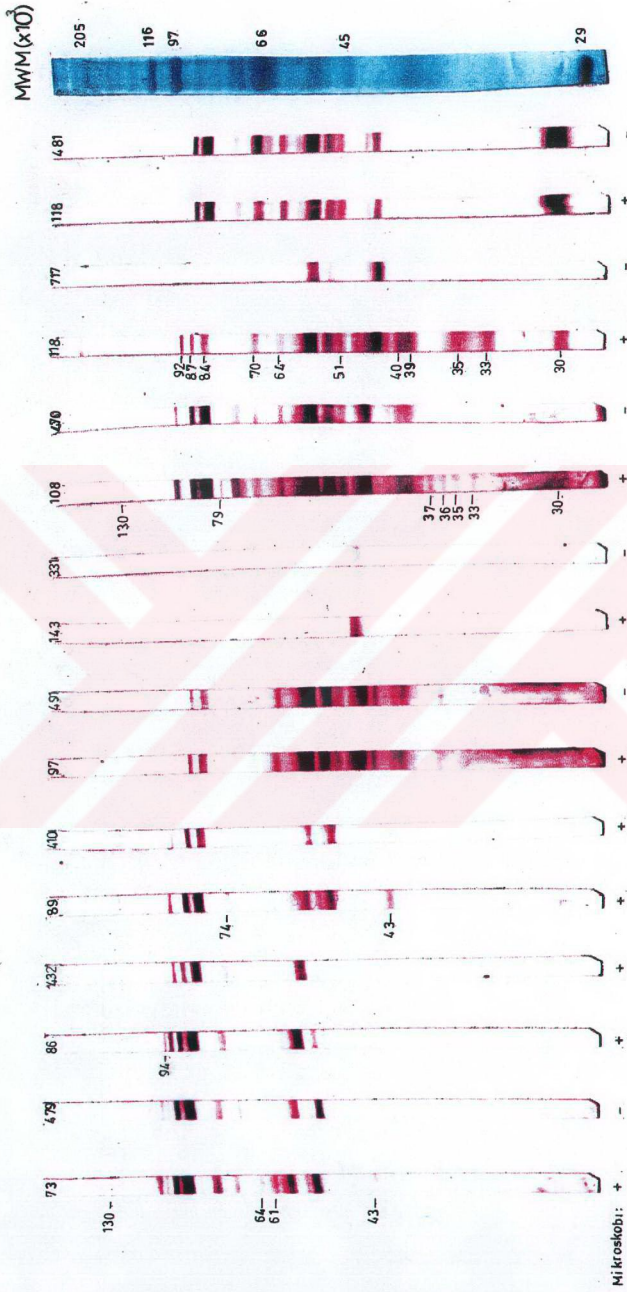
Hastaların ilk alınan serum örneklerinde elde edilen reaktif bant paternleri incelendiğinde en sık görülen reaktif protein bantlarının 84 kDa (%87.09), 87 kDa (%80.64), 58 kDa (%77.41), 54 kDa (%77.41), 94 kDa (%70.96), 74 kDa (%70.96) ağırlığındaki proteinler olduğu görülmüştür. Ayrıca 130, 92, 70, 64, 61, 58, 54, 52, 51, 48, 45, 43, 42, 41, 39, 35, 34, 32 ve 30 kDa ağırlığındaki bantlara karşı da antikor geliştiği tespit edilmiştir.

Çalışmaya alınan 31 hastanın 8'inde (%25.81) 130 kDa ağırlığındaki CagA proteinine karşı oluşan antikorun ikinci başvuruda alınan serum örneğinde kaybolduğu görülmüştür. Ayrıca hastalardan 7'sinde (%22.58) 35 kDa, 6'sında (%19.35) 64 kDa, 6'sında (%19.35) 34 kDa, 5'inde (%16.13) kDa, 5'inde (%16.13) 61 kDa ağırlığında proteinlere karşı reaktif bantların ilk serum örneklerinde pozitif iken ikinci örneklerde negatifleştiği görülmüştür. 87 kDa ağırlığındaki VacA proteinine karşı reaktif bant sadece 1 hastada kaybolmuştur.

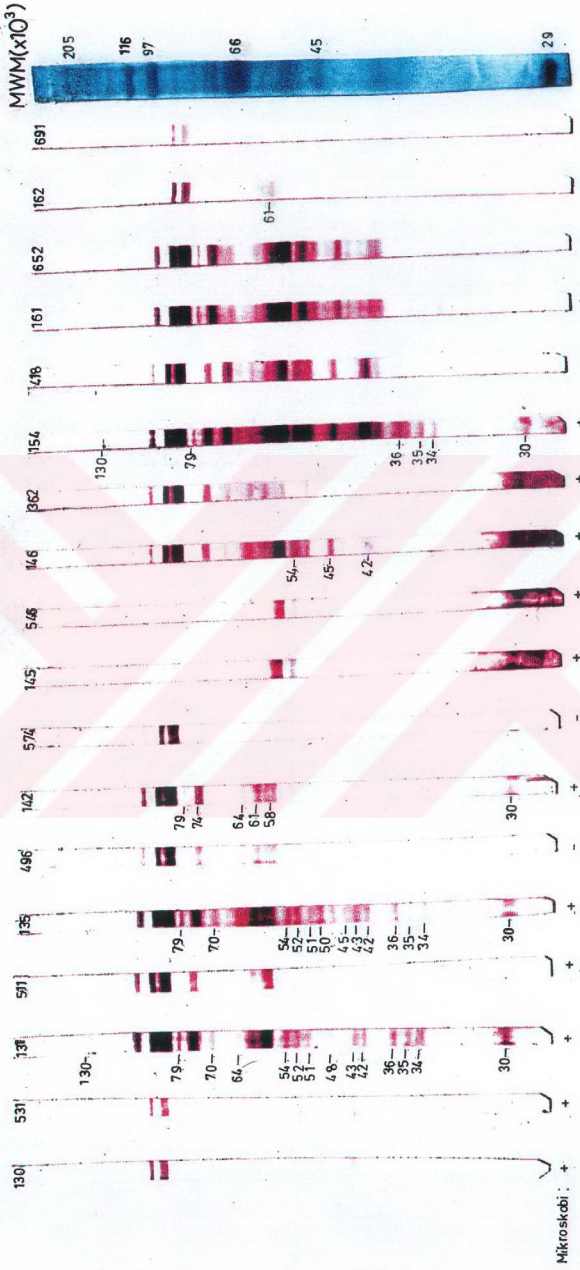
MW(M $\times 10^3$ )



Şekil 7: Hastaların ilk ve ikinci serumlarındaki western blot analizleri. Her hastanın ilk ve ikinci örneği için hazırlanan stripler yanyana konmuştur.

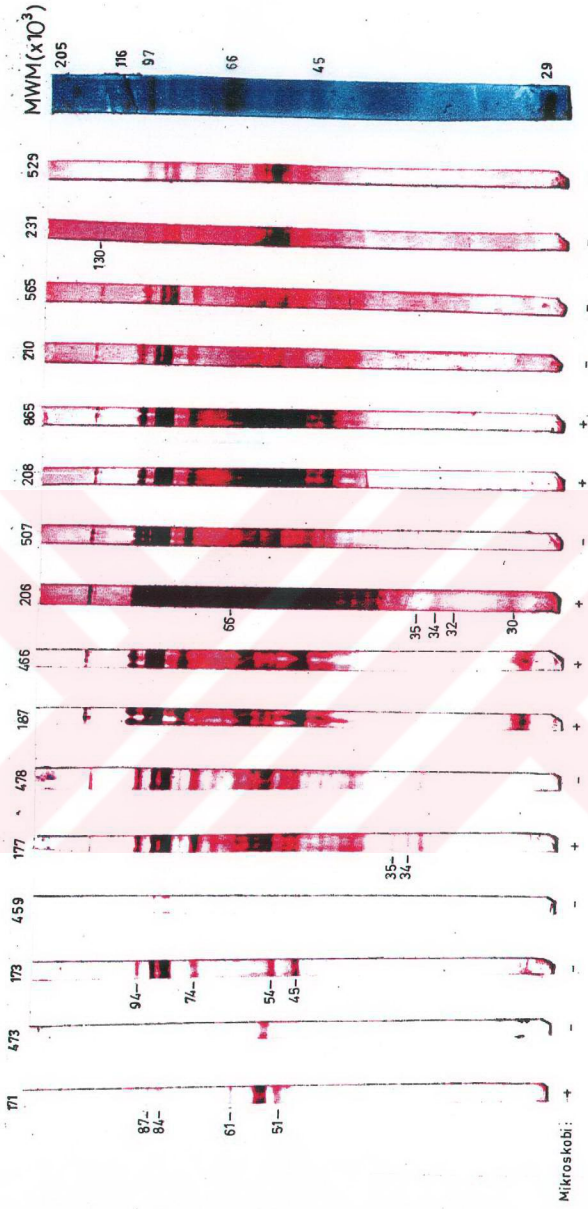


Şekil 8: Hastaların ilk ve ikinci serumlarındaki western blot analizleri. Her hastanın ilk ve ikinci örneği için hazırlanan stripler yan yana konmuştur.



**Şekil 9:** Hastaların ilk ve ikinci serumlarındaki western blot analizleri. Her hastanın ilk ve ikinci örneği için hazırlanan stripler yan yana konmuştur.





Şekil 10: Hastaların ilk ve ikinci serumlarındaki western blot analizleri. Her hastanın ilk ve ikinci örneği için hazırlanan stripler yan yana konmuştur.

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda Doğu Karadeniz Bölgesi'nde gastrik yakınmaları olan hastaların %64.64'ünde Gram boyama yöntemi ile *H. pylori*'nin gastrik kolonizasyonu gösterilmiştir. Aydın ve ark.'nın (102) 1993'te aynı bölgede yaptığı çalışmada bu oran %73.80 olarak tespit edilmiştir. Gür ve ark.'nın (103) yaptığı bir çalışmada gastrik yakınması olan hastalarda %86, Taiwan'da yapılan bir çalışmada %77 mikroskopi pozitifliği elde edilirken (104), İngiltere'de yapılan bir çalışmada %30 gibi düşük bir oran bulunmuştur (105). *H. pylori* enfeksiyonu dünyanın her yerinde sık olarak karşımıza çıkmakla birlikte coğrafik varyasyonlar da göstermektedir (106). Çeşitli bölgelerde farklı sonuçlar elde edilmesi sosyoekonomik durum, hijyen koşulları, etnik grup ve ırk gibi bazı faktörlerin enfeksiyonun yaygınlığını etkilediğini göstermektedir.

Günümüzde mide biyopsi örneklerinde *H. pylori* belirlenmesinde Gram, Warthin-Starry, hematoksilin-eozin, Giemsa, akridin oranj, PAS gibi çeşitli boyama yöntemleri kullanılabilir (107). Direkt mikroskopide kullanılan boyama yönteminin duyarlılığı da sonuçlar arasında farklılıklar yaratabilir. Biz çalışmamızda duyarlılığının yüksek olması, kolay ve hızlı uygulanabilmesi ve ucuz olması nedeni ile Gram boyama yöntemini kullandık. Yapılan bir çalışmada bu boyama yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünün %100'e yakın olduğu belirtilmiştir (108). Başka bir çalışmada ise Gram, Warthin-Starry ve hematoksilin-eozin boyama yöntemleri karşılaştırılmış ve Gram boyama yönteminin duyarlılığının %73.6, Warthin-Starry boyama yönteminin %66.6, hematoksilin-eozin boyama yönteminin ise %64.5 olduğu tespit edilmiştir (107). *H. pylori*'nin midede yama tarzında lezyonlar oluşturduğu bilinmektedir. Bu nedenle iki veya daha fazla biyopsi

örneğinde yapılacak araştırmaların güvenilirliği daha yüksek olacaktır. Ancak üreaz testi ile birlikte yapılan tek bir biyopsi örneğinden Gram boyamanın da yeterli olduğunu bildiren yayınlar vardır (108).

Çalışmaya alınan hastaların tümünün mide biyopsi örneklerinden yapılan kültürde %39.41 oranında *H. pylori* üretilmiştir. Mikroskopisinde *H. pylori* tespit edilen biyopsilerden yapılan kültürde bu mikroorganizmayı üretme başarıımız %60.98 olarak belirlenmiştir. Aydın ve ark (102) tarafından yapılan çalışmada koyun kanı kullanılmış ve mikroskopisi pozitif olarak tespit edilen biyopsilerdeki kültür başarıısı % 80.65 olarak tespit edilmiş, başka bir çalışmada bu oran %43 olarak bulunmuştur (104).

Çalışmamızın büyük bir bölümünde alışlagelmişin dışında olmak üzere koyun kanı yerine insan kanı kullanıldı ve koyun kanı kullanılan besiyerleri ile insan kanı kullanılanlar arasında *H. pylori* üretimini desteklemesi bakımından önemli bir fark görölmedi. Yapılan bir çalışmada da bizim sonuçlarımız ile uygun olarak besiyerine katılarak test edilen tüm taze kanların üremeyi benzer şekilde desteklediği gösterilmiştir (103).

*H. pylori*'nin üretilmesi için özel atmosferik koşullara ve zengin besiyerlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Biz çalışmamızda brusella agar ve brain heart agar kullanıldı ve bu iki besiyerinin *H. pylori* üremesini desteklemesi açasından belirgin bir farklılık saptanmadı. Çalışmamızın büyük bir bölümünde mikroaerofilik şartlar sağlamak amacı ile Habaş A.ř.'nde hazırlatmış olduğumuz gaz karışımını kullandık ve bu sistemin *H. pylori* üretimi için mikroaerofilik ortam yaratan ticari kitler kadar başarılı olduğunu tespit ettik.

Çalışmaya alınan erkek hastalarda *H. pylori* tespit edilme oranını %60.63, kadın hastalarda ise %46.97 olarak belirlendi ve erkek hastalardaki oran kadın hastalardaki orana göre istatistiksel bakımdan anlamlı derecede yüksek bulundu. Yapılan bazı çalışmalarda *H. pylori* enfeksiyonunda kadın-erkek oranı birbirinden farklı bulunmamışsa da (108), çalışmamız erkek cinsiyetin *H. pylori* enfeksiyonu için bir risk faktörü olduğunu belirten çalışmaları desteklemektedir (35).

Hastaların endoskopileri esnasında gastroenterolog tarafından belirlenen ön tanılara göre gastrik biyopsi örneğinde *H. pylori* kolonizasyonu incelendiğinde, duodenal erezyon görülen grupta en yüksek oran (%88.9) tespit edilmiştir. Gastrik ülser ve duodenal ülser görülen gruplarda da diğer gruplara göre daha yüksek oranda *H. pylori* kolonizasyonu olduğu görülmüştür (sırasıyla %84.6, %79.7). Yapılan birçok çalışmada da duodenal ülserlerde %90'ın üzerinde, gastrik ülserlerin %58-94'ünde *H. pylori* tespit edildiği gösterilmiştir (70, 71). Bazı çalışmalar gastrik ülserlerde duodenal ülserlere oranla daha az oranda *H. pylori* görüldüğü ve patogenezinde başka faktörlerin daha etkili olduğu yönündedir (69, 71). Ancak bizim çalışmamızda gastrik ve duodenal ülserli gruplar arasında anlamlı bir fark elde edilememiştir. Gastrik kanserli hastalarda %30 gibi düşük bir değer elde edilmiştir. Bunun nedeni biyopsinin alındığı tümörlü bölgede tümör hücrelerinin özelliğinden dolayı oluşan, bakterinin adezyonu için uygun olmayan ortam ile açıklanabilir (75).

Çalışmaya alınan ve histopatolojik değerlendirilmesi yapılan 738 hastanın 700'ünde kronik gastrit, 32'sinde gastrik kanser tespit edilmiş, 6 hastanın histopatolojik değerlendirmesinde normal mide yapısı görülmüştür. Kronik gastriti olan 700 hastanın 332'si (%47.42) hafif şiddette gastrit, 345'i (%49.28) orta şiddette gastrit, 23'ü (%3.28) şiddetli gastrit olarak belirlenmiştir. Hastaların gastrik biyopsi örneklerinde *H. pylori* kolonizasyonunun histopatolojik gruplar arasında ileri derecede farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Normal histopatolojik bulgular elde edilen grupta %16.60 oranında *H. pylori* mikroskopi pozitifliği görülmüştür. Ancak bu grupta sadece 6 hasta bulunması bu konuda yapılabilecek yorumları kısıtlamaktadır. Bununla birlikte *H. pylori* enfeksiyonunda yama tarzında lezyonlar olduğundan biyopsinin uygun yerden alınmasının da önemli olduğu bilinmektedir. Şiddetli kronik gastrit görülen grupta en yüksek *H. pylori* mikroskopi pozitifliği (%86.95) tespit edilmiştir. Orta şiddette kronik gastritlerin %77.10'unda, hafif şiddette kronik gastrit görülen grubun %55.42'sinde mikroskopide *H. pylori* görülmüştür. Hastalarda kronik gastritin şiddeti arttıkça direkt mikroskopide *H. pylori* görülme sıklığının da buna paralel olarak arttığı belirlenmiştir. Aydın ve ark (109) tarafından yapılan bir çalışmada hafif şiddette gastrit görülen hastalarda

%35.71, orta şiddette gastrit saptanan hastalarda %89.47, şiddetli gastriti olan hastalarda ise %100 oranında *H. pylori* kolonizasyonu gösterilmiş ve çalışmamızla benzer olarak gastritin şiddeti arttıkça *H. pylori* görülme sıklığının da arttığı belirlenmiştir. Çalışma grubumuzdaki gastrik kanserli hastalarda %37.50 oranında *H. pylori* kolonizasyonu gösterilmiştir. Bu oran normal bulgular elde edilen gruba göre istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Gastrik kanserli hastalarda yapılan serolojik çalışmalarda asemptomatik kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek anti-*H. pylori* IgG değerleri bulunmuştur (110). Ancak bazı çalışmalarda serolojik olarak gastrik kanser ile *H. pylori* enfeksiyonu arasında bir ilişki olduğu desteklenememiştir (111).

Çalışmamızın asıl hedefini oluşturan serolojik profilin izlenmesi ekonomik nedenler ve hastaların kontrole gelmemeleri nedeni ile tüm hastalarda yapılamamış, ancak ilk başvurusundan 2-2.5 ay sonra kontrol için başvuran hastalar bu takibe alınabilmiştir.

Çalışma grubundaki 97 hastanın 86'sında (%88.66) ilk başvuruda alınan biyopsi örneğinde Gram boyama ile *H. pylori* varlığı gösterilmiştir. Mikroskopisi pozitif olup hekimleri tarafından *H. pylori* eradikasyonuna yönelik tedavi verilen hastaların 61'inin (%70.93) tedavi sonucu mikroskopilerinin negatifleştiği tespit edilmiştir.

İlk alınan biyopsilerinde mikroskopisi pozitif olarak tespit edilen hastaların tedavi sonrasında kontrole geldiklerinde tekrar biyopsileri alınıp mikroskopi ile değerlendirilmesi hastanın tedavi olup olmadığını belirlemede güvenilir bir yöntemdir. Ancak endoskopi uygulanması zor, deneyimli uygulayıcı gerektiren ve çeşitli enfeksiyon hastalıklarının hastadan hastaya bulaşmasına neden olabilen bir yöntemdir.

Çalışmamızda 97 hastanın ilk ve ikinci başvurusunda alınan serum örneklerinde in-house ELISA sistemi ile anti-*H. pylori* IgG antikorları varlığı ve düzeyleri belirlenmiştir. In-house ELISA testi için pleyte kaplanacak olan antijen hazırlanırken çeşitli yöntemler kullanılabilir (112). Çalışmamızda antijen olarak tam bakteri süspansiyonu ve bakteri lizati hazırlama şeklinde iki farklı yöntem test

edildi. Bunlardan tam bakteri süspansiyonun kullanılması, bakteri lizatı kullanılmasından daha efektif bulundu. Bu şekilde, tam bakteri süspansiyonu yada bunun sonikasyonu ile elde edilen antijenlerin kullanılmasının maximum sayıda yüzey antijeni bulundurması ve *H. pylori*'ye karşı oluşmuş çok çeşitli antikor cevaplarına yönelik kullanılabilmesi yönünden avantajlı olduğu düşünülmüştür. Ancak non-spesifik bağlanmalar ve *Campylobacter* türleri ile çapraz reaksiyonlara yol açabileceği unutulmamalıdır.

Çalışmaya alınan 97 hastanın ilk başvurularında yapılan ELISA testinde %95.88 oranında anti-*H. pylori* IgG pozitifliği elde edildi. Bu oran Aydın ve ark. tarafından yapılan çalışmada %80.95 olarak tespit edilmiştir (102). Elazığ yöresinde yapılan bir başka çalışmada bu oran 31-40 yaşları arasında %94.29, 41-50 yaşları arasında 76.47, 51-60 yaşları arasında %84.62, 60 yaşın üzerinde %73.68 olarak belirlenmiştir (112). Çalışmamızdaki 97 hastanın ilk başvurularında alınan gastrik biyopsi örneklerinde %88.66 oranında *H. pylori* mikroskopi pozitifliği olduğu görülmüştür. Sonuçlarımıza göre midesinde *H. pylori* kolonizasyonu olmayan grubun %7.22'sinde anti-*H. pylori* IgG antikorları pozitif olarak bulunmaktadır. Bu da sadece anti-*H. pylori* IgG antikorlarına bakılarak başlanacak tedavinin her zaman doğru olmayacağı şeklinde yorumlanabilir. Ancak endoskopi ihtiyacını azalttığından bu test günümüzde de kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada bu testin iş yükünü %23.3 oranında azalttığı belirlenmiştir (113).

Gastrik biyopsi örneklerinde mikroskopi bulguları referans olarak alındığında kullandığımız in-house ELISA sisteminin duyarlılığı, bir kez biyopsi alınan hastalarda %97.67 olarak hesaplandı. Yapılan çeşitli çalışmalarda da bu değer %90-%97 olarak tespit edilmiştir (113-115). Ancak bu testin özgülüğü %18.18 gibi düşük bir değer olarak hesaplandı. Bu değerden de anlaşılacağı gibi ELISA IgG, mikroskopisi negatif olarak tespit edilen hastaların sadece %18.18'inin gerçekten negatif olduğunu gösterebilmektedir. Yapılan bir çalışmada kültür pozitifliği geçerli test olarak alınmış ve bu testin özgülüğü %67 olarak bulunmuştur (115). Testin spesifitesinin bu kadar düşük olması, IgG türü antikorların enfeksiyonun başlangıcından uzun yıllar sonrasına kadar pozitif olarak kalması olabilir. Testin

pozitif prediktif değeri %90.32, negatif prediktif değeri %50 olarak bulundu. Buna göre ELISA IgG ile pozitif olarak belirlenen hastaların %90.32'si gerçekte de *H. pylori* ile enfektedir. Yapılan birçok çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (113-115). Duyarlılığı ve pozitif prediktif değerinin yüksek bulunması bu testin endoskopi ihtiyacını azaltmak amacı ile kullanılabilceğini göstermektedir. Ancak özgüllüğünün ve negatif prediktif değerinin düşük olması bu testin güvenilirliğini sınırlamaktadır. Özellikle endoskopiye tolere edemeyecek olan yaşlı hastalarda ve çocuklarda anti-*H. pylori* IgG bakılması enfeksiyonun tanısında yardımcı olabilir.

Hastaların ikinci başvurularında alınan serumlarda anti-*H. pylori* IgG antikorlarının tespitinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %19.44, pozitif prediktif değeri %30.12, negatif prediktif değeri %19.44 olarak bulundu. İlk alınan serum rnekleindeki değerlerle karşılaştırıldığında ikinci başvuruda bu testin yapılmasının duyarlılık ve özgüllüğünün çok fazla değişmediği ancak pozitif prediktif değeri ve negatif prediktif değerinin önemli oranda azaldığı görülmektedir. Bunun nedeni ilk başvuruda mikroskopisi pozitif bulunarak tedavi alan hastaların mikroskopisinin negatifleşmesine rağmen iki aylık bir süre içinde IgG türü antikorların buna paralel olarak testi negatifleştirmek kadar düşüş göstermemesi olabilir.

İlk başvurularında anti-*H. pylori* IgG'si pozitif olarak tespit edilen 93 hastanın 83'ünde ikinci başvuruda da bu antikorlar pozitif olarak bulundu, hastaların 10'unda IgG türü antikorlar negatifleşmişti. Yapılan istatistiksel değerlendirmede ilk ve ikinci başvurularda elde edilen bu sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu görüldü. Bu sonuca göre tedavinin izlenmesinde mikroskopi takibine alternatif olarak anti-*H. pylori* IgG takibinin de yardımcı bir etst olarak kullanılabilceği, ancak böyle bir takibin her zaman sağlıklı sonuç vermeyeceği söylenebilir.

Anti-*H. pylori* IgG için hazırladığımız in-house ELISA sisteminde ilk kez alınan serumlarda mikroskopisi pozitif olarak bulunan hastaların 23'ünde mikroskopi pozitifliği devam ediyordu. Bu grupta elde edilen optik dansitelerdeki ortalama azalma oranı %11.19 olarak bulundu. Mikroskopisi negatifleşen grupta ise

%16.02 oranında düşüş gözlemlendi. Bu rakamlar arasında istatistiksel bir analiz yapılmadıysa da her iki grupta da benzer şekilde düşüş görülmektedir.

Çalışmaya alınan hastalarda anti-*H. pylori* IgG OD değerleri ile histopatolojik sınıflandırma, endoskopik ön tanımlar veya hastaların şikayetlerinin süreleri arasında bir ilişki görülmemiştir. Bu nedenle ELISA ile anti-*H. pylori* IgG değerlendirilirken OD değerlerine bakılarak hastaların bu klinik özellikleri ile ilgili yorum yapılamayacağı söylenebilir.

Serumlarında anti-*H. pylori* IgA çalışılan 86 kişilik hasta grubunun 71'inde (%82.55) bu antikorlar pozitif olarak tespit edilmiştir. Leunk ve ark (115) tarafından yapılan bir çalışmada bu oran %88 olarak bulunmuştur.

Hastaların ilk başvurularında gastrik biyopsi örneklerinde mikroskopi ile *H. pylori* tayini geçerli test olarak alındığında, serumda anti-*H. pylori* IgA bakılmasının duyarlılığı %83.33, özgüllüğü %25, pozitif prediktif değeri %91.54, negatif prediktif değeri %13.33 olarak bulunmuştur. Testin duyarlılığı ve pozitif prediktif değerinin yüksek olması gerçekte hasta (mikroskopisi pozitif) olan kişilerin bu test ile büyük oranda doğru bir şekilde tespit edilebileceğini göstermektedir. Ancak testin özgüllüğü ve negatif prediktif değeri gerçekte sağlam olan (mikroskopisi negatif) kişileri belirlemede bu testin de yetersiz olduğunu düşündürmektedir.

Hastalar ikinci kez başvurduklarında serumlarında anti-*H. pylori* IgA tayininin duyarlılığı %69.56, özgüllüğü %24.29, pozitif prediktif değeri %22.86, negatif prediktif değeri %56.25 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre hastalar tedavi aldıktan sonra ikinci kez başvurduklarında anti-*H. pylori* IgA bakılarak tanı konmasının uygun olmadığı düşünülebilir. İlk başvuruda anti-*H. pylori* IgG tayininin duyarlılığının anti-*H. pylori* IgA tayinine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak gerçekte sağlam olanları anti-*H. pylori* IgA testi ile yakalama şansının anti-*H. pylori* IgG tayinine göre daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir.

İlk başvurusunda anti-*H. pylori* IgA'sı pozitif olan 70 hastadan 69'unda bu pozitiflik devam etmiş, sadece 1 hastada negatifleşmiştir. Bu bulgulara göre ilk ve ikinci başvuruda alınan serum örneklerindeki anti-*H. pylori* IgA pozitifliğinin istatistiksel olarak anlamlı derecede değişmediği görülmüştür.



Çalışmamızda toplam 88 hastanın ilk ve ikinci başvurusunda alınan serum örneklerinde anti-*H. pylori* IgM antikorları değerlendirildi ve ilk başvuruda alınan örneklerin 5'inde ( %5.68) bu antikorlar pozitif olarak tespit edildi. Çalışma grubundaki 88 hastanın 69'u (%79.40) 6 ayı aşkın süredir şikayetleri olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle akut dönemde yükselmesi ve daha sonra düşmesi beklenen bu antikorun düşük düzeyde tespit edilmesi anlamlıdır. Bu grupta mikroskopi pozitifliğinin %88.63 olduğu görüldü. Bu sonuçlar açıkça göstermektedir ki anti-*H. pylori* IgM antikorlarının varlığının gösterilmesi, hastalarda *H. pylori* kolonizasyonunu göstermede çok yetersiz bir bulgudur.

Hastaların ilk başvurularında mikroskopi geçerli test olarak alındığında anti-*H. pylori* IgM tayininin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerinin %1 olduğu, bu nedenle bu testin midede *H. pylori* kolonizasyonunu göstermede geçerliliğinin olmadığı görülmüştür. Hastaların ikinci başvurularında elde edilen sonuçlar da bu testin tanısal değerinin olmadığını göstermektedir. Ayrıca ikinci başvuruda alınan örneklerde elde edilen sonuçlar ilk başvuruda elde edilenlerden istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır.

Çalışmamızda 31 hastanın ilk ve ikinci başvurularında alınan serum örneklerinde western blot analizi ile hangi protein bantlarında karşı antikor oluştuğu belirlenmiştir. Bu hastaların ilk başvurularında alınan biyopsi örneklerinin 27'sinde (%87.09) mikroskopi pozitif olarak tespit edilmiş, ancak tüm hastalarda *H. pylori*'ye karşı reaktif antikor bantları gözlenmiştir. Bu 27 hastanın 17'sinde (%54.83) ilk başvuruda alınan biyopsi örneğinde mikroskopi pozitif iken ikinci başvuruda negatifleşmiş, 10'unda (32.25) pozitiflik devam etmiştir. Hastaların 4'ünde (%12.90) ilk ve ikinci örneklerde mikroskopi negatif olarak belirlenmiştir.

Çalışma grubundaki 31 hastanın 15'inin (%48.38) ilk alınan serumlarında CagA proteininin bulunduğu 130 kDa ağırlığındaki antijene karşı, 25'inde (%80.64) VacA proteininin bulunduğu 87 kDa ağırlığındaki antijene karşı antikor bulunduğu görülmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda %36-79.4 oranında CagA (116,117), tüm suşların yaklaşık %50'sinde VacA seropozitifliği tespit edilmiştir (118).

Hastaların ilk alınan serum örnekleri incelendiğinde en sık görülen reaktif protein bantlarının 94 kDa (%70.96), 87 kDa (%80.64), 84 kDa (%87.09), 74 kDa (%70.96), 58 kDa (%77.41), 54 kDa (%77.41) ağırlığındaki proteinler olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu bantların *H. pylori*'nin immünodominant bantları olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmaya alınan hastaların 8'inde (%25.81) 130 kDa ağırlığındaki CagA proteinine karşı oluşan antikorun ikinci başvuruda alınan serum örneğinde kaybolduğu görülmüştür. 87 kDa ağırlığındaki VacA proteinine karşı reaktif bant sadece 1 hastada kaybolmuştur. Hastalardan 7'sinde (%22.58) 35 kDa, 6'sında (%19.35) 64 kDa, 6'sında (%19.35) 34 kDa, 5'inde (%16.13) kDa, 5'inde (%16.13) 61 kDa ağırlığında proteinlere karşı reaktif bantların ilk serum örneklerinde pozitif iken ikinci örneklerde negatifleştiği görülmüştür.



## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Trabzon Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi'ne gastrik yakınmalar ile başvuran ve hekimleri tarafından endoskopi endikasyonu konan 789 hastada aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

1. Doğu Karadeniz Bölgesi'nde dispeptik yakınmaları olan hastaların gastrik biyopsi örneklerinde Gram boyama yöntemi ile %64.64 oranında *H. pylori* tespit edildi.

2. Dispeptik yakınmaları olan hastaların %39.41'inde kültürde *H. pylori* üretildi. Kültür pozitiflik oranı mikroskopisi pozitif olan hastalarda %60.98 idi.

3. Çalışmaya alınan erkek hastalarda %60.63, kadın hastalarda %46.97 *H. pylori* mikroskopisi pozitifliği görüldü. Erkek hastalardaki bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

4. Endoskopik bulgulara göre olgular sınıflandırıldığında en yüksek mikroskopisi pozitiflik oranı duodenal erozyon görülen grupta (%88.9), en düşük ise gastrik kanserli grupta (%30.00) tespit edildi.

5. Biyopsi örneklerindeki histopatolojik bulgulara göre olgular sınıflandırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. Normal bulgular elde edilen grupta en düşük (%16.60), şiddetli gastrit görülen grupta ise en yüksek mikroskopisi pozitiflik oranı (%86.95) tespit edildi.

6. Gastritin şiddeti arttıkça mikroskopide *H. pylori* görülme oranının da buna paralel olarak arttığı tespit edildi.

7. Mikroskopisi pozitif olup hekimleri tarafından *H. pylori* eradikasyonuna yönelik tedavi verilen hastaların %70.93'ünün tedavi sonucu mikroskopilerinin negatifleştiği tespit edildi.

8. Doksanyedi hastanın ilk ve kontrol sonrası serumlarında in-house ELISA yöntemi ile anti-*H. pylori* IgG antikor varlığı ve düzeyi araştırıldı. İlk alınan örneklerde hastaların %95.88'inde anti-*H. pylori* IgG pozitif olarak tespit edildi.

9. Mikroskopi pozitifliği geçerli test olarak alındığında ilk başvuruda alınan serum örneklerinde in-house ELISA ile anti-*H. pylori* IgG tayininin duyarlılığı %97.67, özgüllüğü %18.18, pozitif prediktif değeri %90.32, negatif prediktif değeri % 50 olarak bulundu.

10. Hastaların ikinci başvurusunda in-house ELISA ile anti-*H. pylori* IgG bakılmasının duyarlılığı %100, özgüllüğü %19.44, pozitif prediktif değeri %30.12, negatif prediktif değeri % 19.44 olarak hesaplandı.

11. Mikroskopi pozitifliği devam eden 23 hastanın anti-*H. pylori* IgG OD'nde ortalama %11.19 oranında bir azalma tespit edildi. İlk alınan biyopsisinde mikroskopisi pozitif iken, kontrole geldiğinde negatif olduğu tespit edilen 64 hastanın anti-*H. pylori* IgG OD'nde ortalama %16.02 oranında düşüş olduğu bulundu.

12. İlk alınan biyopsi örneğinde mikroskopisi negatif olan iki hastanın ikinci biyopsilerinde *H. pylori* tespit edildi.

13. Anti-*H. pylori* IgG optik dansite (OD) değerlerinin gastritin şiddeti ve hastaların şikayetlerinin süresi ile ilişkili olmadığı görüldü.

14. Toplam 86 hastanın ilk ve ikinci başvurusunda alınan serumlarında anti-*H.pylori* IgA çalışıldı ve hastaların %82.55'inde bu antikor pozitif olarak bulundu.

15. Hastaların ilk başvurularında gastrik biyopsi örneklerinde mikroskopi ile *H. pylori* tayini geçerli test olarak alındığında, serumda anti-*H. pylori* IgA bakılmasının duyarlılığı %83.33, özgüllüğü %25.00, pozitif prediktif değeri %91.54, negatif prediktif değeri %13.33 olarak bulundu.

16. Hastalar ikinci kez başvurduklarında serumlarında anti-*H. pylori* IgA tayininin duyarlılığı %69.56, özgüllüğü %24.29, pozitif prediktif değeri %22.86, negatif prediktif değeri %56.25 olarak hesaplandı.

17. Toplam 88 hastanın ilk ve ikinci başvurularında alınan serumlarda anti-*H.pylori* IgM çalışıldı. Bu hastaların %5.68'inde anti-*H.pylori* IgM pozitif olarak tespit edildi.

18. Mikroskopi pozitifliği geçerli test olarak alındığında ilk başvuruda alınan serum örneklerinde ELISA ile anti-*H. pylori* IgM tayininin duyarlılığı özgüllüğü, pozitif prediktif değeri ve negatif prediktif değeri % 1 olarak bulundu.

19. Hastalar ikinci kez başvurduklarında serumlarında anti-*H. pylori* IgM tayininin tanısal değeri olmadığı görüldü.

20. Serolojik takibi yapılan hastaların 31'inin ilk ve ikinci başvurularında alınan serumlarda western blot analizi yapıldı. Hastaların 27'sinde (%87.09) mikroskopi pozitif. Bu hastaların tümünde *H. pylori*'ye karşı oluşmuş reaktif protein bantları tespit edildi.

21. Western blot analizi yapılan 31 hastanın ilk başvurularında alınan serum örneklerinin 15'inde (%48.38) 130 kDa ağırlığındaki CagA proteinin bulunduğu protein bantına karşı, 25'inde (% 80.64) 87 kDa ağırlığındaki VacA proteininin bulunduğu protein bantına karşı reaktif bantlar tespit edildi.

22. Hastaların ilk alınan serum örneklerinde elde edilen reaktif bant paternleri incelendiğinde en sık görülen reaktif protein bantlarının 84 kDa (%87.09), 87 kDa (%80.64), 58 kDa (%77.41), 54 kDa (%77.41), 94 kDa (%70.96), 74 kDa (%70.96) ağırlığındaki proteinler olduğu görüldü. Ayrıca 130, 92, 70, 64, 61, 58, 54, 52, 51, 48, 45, 43, 42, 41, 39, 35, 34, 32 ve 30 kDa ağırlığındaki bantlara karşı da antikor geliştiği tespit edildi.

23. Çalışmaya alınan 31 hastanın 8'inde (%25.81) 130 kDa ağırlığındaki CagA proteinine karşı oluşan antikorun ikinci başvuruda alınan serum örneğinde kaybolduğu görüldü. Ayrıca hastalardan 7'sinde (%22.58) 35 kDa, 6'sında (%19.35) 64 kDa, 6'sında (%19.35) 34 kDa, 5'inde (%16.13) kDa, 5'inde (%16.13) 61 kDa ağırlığında proteinlere karşı reaktif bantların ilk serum örneklerinde pozitif iken ikinci örneklerde negatifleştiği belirlendi. 87 kDa ağırlığındaki VacA proteinine karşı reaktif bant sadece 1 hastada kayboldu.

*H. pylori* serolojisine yönelik yapılan testlerin daha büyük çalışma gruplarında uygulanması çalışmada elde ettiğimiz sonuçların güvenilirliğini artıracak, seroloji ile çeşitli klinik durumlar arasında bağlantı olup olmadığını belirlemede daha ayrıntılı bilgiler sağlayacaktır. Ayrıca *H. pylori*'ye karşı oluşan antikorların subtipleri ve bu antikorların *H. pylori*'ye olan afinite ve aviditeleri ile çeşitli klinik durumlar arasındaki bağlantı araştırılmalıdır.



## 7. ÖZET

Bu çalışmada dispeptik yakınması olan hastalarda midede *H. pylori* kolonizasyonu olup olmaması, gastritin şiddeti, *H. pylori* enfeksiyonunun süresi ile serumda anti-*H. pylori* IgG, IgA ve IgM antikorlarının varlığı ve düzeyi arasında bir bağlantı olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

Çalışmaya 97 hasta katıldı. Herbir hastadan serum örneği ve endoskopi ile gastrik antrum bölgesinden 4 adet biyopsi örneği alındı. Antral gastritin şiddeti endoskopik ve serolojik bulgulardan habersiz olan bir patoloji uzmanı tarafından belirlendi. Biyopsi örneklerinde *H. pylori* varlığı Gram boyama, kültür ve üreaz testleri ile gösterildi. Hastaların ilk başvurularından iki ay sonra bu işlemler tekrarlandı.

Gram boyama ile 86 hastada (%88.66) *H. pylori* tespit edildi. Bu hastaların 95'inde (%95.88) in-house ELISA ile anti-*H. pylori* IgG antikorları pozitif olarak bulundu. Mikroskopi geçerli test olarak alındığında serumda anti-*H. pylori* IgG tayini için hazırlanan in-house ELISA testinin duyarlılığı, özgüllüğü, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %97.67, %18.18, %90.32 ve %50.00 olarak belirlendi.

Dispeptik yakınmaları olan 86 hastada ticari olarak hazırlanmış bir ELISA kiti ile anti-*H. pylori* IgA türü antikorlar araştırıldı ve bu hastalardan 71'inde (%82.55) bu antikorlar pozitif olarak bulundu. Mikroskopi ile *H. pylori* tayini geçerli test olarak alındığında bu ticari ELISA kitinin duyarlılığı %83.33, özgüllüğü %25.00, pozitif prediktif değeri %91.54, negatif prediktif değeri %13.33 olarak hesaplandı.

Toplam 88 hastada ticari bir kit ile anti-*H. pylori* IgM türü antikorlar araştırıldı. Hastaların sadece 5'inde (%5.68) bu antikorların pozitif olduğu ve anti-*H. pylori* IgM serolojisinin *H. pylori* enfeksiyonunda tanısal değeri olmadığı görüldü.

Çalışma grubundaki hastaların 31'inde western blot analizi ile hangi antijenlere karşı antikorların bulunduğu araştırıldı. *H. pylori* mikroskopisi negatif olan 4 hasta dahil olmak üzere bütün hastalarda anti-*H. pylori* IgG antikorları tespit edildi. Hastaların 15'inde (%48.38) 130 kDa ağırlığındaki CagA proteinin bulunduğu protein bantına karşı, 25'inde (% 80.64) 87 kDa ağırlığındaki VacA proteininin bulunduğu protein bantına karşı reaktif bantlar tespit edildi. Majör immunoreaktif komponentler 94, 87, 84, 74, 58 ve 54 kDa ağırlığında idi.

Çalışmaya alınan 31 hastanın 8'inde (%25.81) 130 kDa ağırlığındaki CagA proteinine karşı oluşan antikorun ikinci başvuruda alınan serum örneğinde kaybolduğu görüldü. Ayrıca hastalardan 7'sinde (%22.58) 35 kDa, 6'sında (%19.35) 64 kDa, 6'sında (%19.35) 34 kDa, 5'inde (%16.13) kDa, 5'inde (%16.13) 61 kDa ağırlığında proteinlere karşı reaktif bantların ilk serum örneklerinde pozitif iken ikinci örneklerde negatifleştiği belirlendi.



## 8. SUMMARY

In the present study, we aimed to determine the association between gastric colonization of *Helicobacter pylori*, histological grading of gastritis and the duration of the *H. pylori* infection with dyspepsia and the presence of anti- *H. pylori* IgG, IgA and IgM.

Ninety-seven dyspeptic patients were included in the study. Each patient underwent blood sampling and endoscopy. Four antral biopsy specimens were obtained from these patients. The severity of antral gastritis was graded by pathologists who were unaware of the serological and endoscopic findings. The presence of *H. pylori* in the biopsy specimens was determined by Gram staining, culture and urease tests. After two mounts the same procedure was repeated.

*H. pylori* were positive in 86 (88.66%) patients with Gram staining and 93 (95.88%) patients with in-house ELISA for anti-*H. pylori* IgG. Using microscopy as a reference test the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of in-house ELISA for serum anti-*H. pylori* IgG were 97.67%, 18.18%, 90.32%, 50%, respectively.

Anti-*H. pylori* IgA was tested in 86 patients with dyspepsia. Seventy-one of these patients (82.55%) were positive with commercial ELISA for anti-*H. pylori* IgA. Using microscopy as reference test, the commercial ELISA for anti-*H. pylori* IgA was 83.33% sensitive, 25.00% specific with 91.54% positive predictive and 13.33% negative predictive values.

Eighty-eight patients were screened with a commercial ELISA for anti-*H. pylori* IgM. Only 5 patients (5.68%) were positive with this test. The serology of anti-*H. pylori* IgM had no diagnostic value.

---

In thirty-one patients, serological characterisation was carried out using western blot analysis. In all subjects, anti-*H. pylori* IgG was detected irrespective of *H. pylori* presence. Immunoreactive bands in 130 kDa molecular weight (CagA) were found in 15 (48.38%), 87 kDa molecular weight (VacA) were found in 25 (80.64%) of the patients. The major common immunoreactive components were at 94, 87, 84, 74, 58 and 54 kDa.

From the serum samples of 31 patients in 8 (25.81%) 130 kDa, in 7 (22.58%) 35 kDa, in 6 (19.35%) 64 kDa, in 5 (16.13%) 61 kDa molecular weight immunoreactive proteins were disappeared in the second serum samples.



## 9. KAYNAKLAR

1. Kikuchi, S., Wada, O., Nakajima, T., et al.: Serum anti *Helicobacter pylori* antibody and gastric carcinoma among young adults. *Cancer*, 75:2789-2793, 1995.
2. Tokugana, Y., Shirahase, H., Yamamoto, E., et al.: Semiquantitative evaluation for diagnosis *Helicobacter pylori* infection in relation to histological changes. *The Am. J. Gastroenterol*, 93:26-29, 1998.
3. Kolts, B.E., Joseph, B., Achem, S.R., Bianchi, T., Monteiro, C.: *Helicobacter pylori* detection: a quality and cost analysis. *Am J Gastroenterol*, 88:650-655, 1993.
4. Valentine, J.L., Arthur, R.R., Mobley, L.T., Dick, J.D.: Detection of *Helicobacter pylori* by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, 29:689-695, 1991.
5. Vandelpas, Y., Blecker, U., Devreker, T., Keppens, E., Nijs, J., Cadranel, S., Pipeleers-Marichal, M., et al: Contribution of the <sup>13</sup>C-Urea breath test to the detection of *Helicobacter pylori* gastritis in children. *Pediatrics*, 90:605-611, 1992.
6. Kyle, E.B., Pevra, D.A.: Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology Clinics of North America*, 22(1):105-115, 1993.
7. Khouri, R., Frexinos, J., eds. *References des grandes etapes en hepato-gastroenterologie*. Paris: Editions Louis Pariente, 1995. In: Farthing, M.: *British Medical Bulletin*, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
8. Sippy, B.W.: Gastric and duodenal ulcer. Medical cure by an efficient removal of gastric juice corrosion. *JAMA*, 64:1625-1630, 1915. In: Farthing, M.: *British Medical Bulletin*, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
9. Bizzozero, G.: Sulle ghiandole tubulari del tubo gastroenterico e sui rapporti del loro coll'epitelio di rivestimento della mucosa. *Arch Mikr Anat* 42:82-86, 1893. In: Farthing, M.: *British Medical Bulletin*, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.

10. Salomon H: Uber das spirillum des saugetiarmagens und sein verhalten zu den belegzellen. *Centralbl Bakt (Abt. 1)* 19:422-433, 1896. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
  11. Salomon, H.: Ueber das Auftreten von spirochaeten verschiedener form im mageninhalte bei carcinoma ventriculi. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 32:872-876, 1906. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
  12. Palmer, E.D.: Investigation of the gastric spirochaetes of the human. *Gastroenterology*, 27:218-220, 1954. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
  13. Fitzgerald, D., Murphy, P.: Studies in the physiological chemistry and clinical significance of urease and urea with special reference to the stomach. *Ir J Med Sci*, 292:97-159, 1950. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
  14. Lieber, C.S., LeFevre, A.: Ammonia as a source of hypoacidity in patients with ureamia. *J Clin Invest*, 38:1271-1277, 1959. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
  15. Delluva, A.M., Markley, K., Davies, R.E.: The absence of gastric urease in germ free animals. *Biochim Biophys Acta*, 151:646-650, 1968. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
  16. Doenges, J.L.: Spirochaetes in the gastric glands of *Macacus rhesus* and humans without definite history of related disease. *Proc Soc Exp Biol Med*, 38:536-538, 1938. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
  17. Freedberg, A.S., Barron, L.E.: The presence of spirochaetes in human gastric mucosa. *Am J Dig Dis*, 7:443-445, 1940. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
  18. Palmer, E.D.: Investigation of the gastric spirochaetes of the human. *Gastroenterology*, 27:218-220, 1954. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
  19. Steer, H.W.: Ultrastructure of cell migration through the gastric epithelium and its relationship to bacteria. *J Clin Pathol*, 28:639-646, 1975. In: Farthing, M.:British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
-

20. Marshall, B.J.: Histoire de la decouverte de *Helicobacter pylori*. In: Megraud, F., Lamouliatte, H. eds. *Helicobacter pylori*, Vol 1, Epidemiologie, Pathogenie, Diagnostic. Paris: Elsevier, 35-43, 1996. In: Farthing, M.: British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
21. Marshall, B.J., Royce, H., Annear, D.L., et al.: Original isolation of *Camphylobacter pyloridis* from human gastric mucosa. *Microbiol Lett*, 25:83-88, 1984.
22. Warren, J.R., Marshall, B.J.: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*, 4(1):1273-1275, 1983.
23. Goodwin, C.S., Armstrong, J.A., Chilvers, T., et al.: Transfer of *Camphylobacter pylori* and *Camphylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. Nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *Int J System Bacteriol*, 39:397-405, 1989.
24. Marshall, B.J., McGeachie, D.B., Rogers, P.A., Glancy, R.J.: Pyloric *Camphylobacter* infection and gastroduodenal disease. *Med J Aust*, 142:436-439, 1985.
25. Marshall, B.J., McGeachie, D.B., Francis, G.J., Ultley, P.J.: Pyloric *Camphylobacter* serology. *Lancet*, ii:28, 1984.
26. Borromeo, M., Lambert, J.R., Pinkard, K.J.: Evaluation of CLO-test to detect *Camphylobacter pyloridis* in gastric mucosa. *J Clin Pathol*, 40:462-468, 1987.
27. Graham, D.Y., Klein, P.D., Evans, D.J. et al.: *Camphylobacter pylori* detected non-invasively by the <sup>13</sup>C-urea breath test. *Lancet*, i:1174-1177, 1987.
28. NIH Concensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA*, 272:65-69, 1994.
29. Malferteiner, P., Megraud, F., O'Morian, C., et al.: Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection – The Maastricht Concensus Report. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 9:1-2, 1997.
30. Owen, R.J.: *Helicobacter* species classification and identification, 17-31, In: Farthing, M.: British Medical Bulletin, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 1998.
31. Dunn, B.E., Cohen, H., Blaser, M.J.: *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), 720-741, 1997.
32. Sung, G.L., Changsung, K., Young, C.H.: Successful cultivation of a potentially pathogenic coccoid organism with trophism for gastric mucin. *Infect Immun*, 65(1):49-54, 1997.

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. p: 17-32, 1996, W.B. Saunders Company Ltd, London: England.
  34. Taylor, D. N., Parsonnet, J.: Epidemiology and natural history of *Helicobacter pylori* infections, p. 551-564. In Blaser, M.J., Smith, P.F., Ravdin, J., Greenberg, H., Guerrant, R.L. (ed.), Infections of the gastrointestinal tract. Raven Press, New York, N.Y., 1995.
  35. Replogle, M.L., Glaser, S.L., Hiatt, R.A., Parsonnet, J.: Biologic sex as a risk factor for *Helicobacter pylori* infection in healthy young adults. *Am J Epidemiol*, 142:856-863, 1995.
  36. Matysiak-Budnik, T., Briet, F., Heyman, M., Megraud, F.: Laboratory-acquired *Helicobacter pylori* infection. *Lancet*, 346:1489-1490, 1995.
  37. Thomas, J.E., Gibson, G.R., Darboe, M.K., Dale, A., Weaver, L.T.: Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *Lancet*, 340:1194-1195, 1992.
  38. Morris, A.J., Ali, M.R., Nicholson, G.I., Perez-Perez, G.I., Blaser, M.J.: Long-term follow-up of voluntary ingestion of *Helicobacter pylori*. *Ann Intern Med*, 114:662-663, 1991.
  39. Tytgat, G.N.: Endoscopic transmission of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther*, 9(Suppl 2):105-110, 1995.
  40. Pytko-Polonczyk, J., Konturek, S.J., Karczewska, E., Bielanski, W., Kaczmarczyk-Stachowska, A.: Oral cavity as permanent reservoir of *Helicobacter pylori* and potential source of infection. *J Physiol Pharmacol*, 47:121-9, 1996.
  41. Fox, J.G.: Non-human reservoirs of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther*, 9(Suppl 2), 93-103, 1995.
  42. Doidge, J., Crust, I., Lee, A., Buck, F., Hazell, S., Manne, U.: Therapeutic immunisation against *Helicobacter* infection. *Lancet*, 343:914-915, 1994.
  43. Dore-Davin, C.P., Michetti, E., Sagara, E., Blum, A., Corthesy-Treulaz, I.: A 37 KDa fragment of UreB is sufficient to confer protection against *Helicobacter felis* infection in mice. *Gastroenterology*, 110:A97, 1996.
  44. Ferrero, R.L., Thiberge, J.M., Kansau, I., Wuscher, N., Huerre, M., Labigne, A.: The GroES homolog of *Helicobacter pylori* confers protective immunity against mucosal infection in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:6499-6503, 1995.
  45. Kreiss, C., Bulcin, T., Cosma, M., et al.: Oral immunization with recombinant urease without adjuvant in *Helicobacter pylori*-infected humans. *Gut*, 39:A39, 1996.
-

46. Ansorg, R., von Rehlinghausen, G., Heitschel von Heinegg, E.: Susceptibility of *Helicobacter pylori* to simethicone and other non-antibiotic drugs. *J Antimicrob Chemother*, 37:45-52, 1996.
  47. Nakao, M., Tada, M., Tsuchimori, K., Uekata, M.: Antibacterial properties of lansoprazole alone and in combination with antimicrobial agents against *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 14:391-399, 1995.
  48. Glupczynski, Y., Burette, A., Koster, E., et al.: Metranidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Lancet*, 335:976-977, 1990.
  49. Graham, D.Y., de Boer, W.A., Tytgat, G.N.: Choosing the best anti-*Helicobacter pylori* therapy: effect of antimicrobial resistance. *Am J Gastroenterol*, 91:1072-1076, 1996.
  50. Unge, P.: Review of *Helicobacter pylori* eradication regimens. *Scand J Gastroenterol*, 15(Suppl.2):74-81, 1996.
  51. Dixon, M.F., Genta, R.M., Yardley, J.H., Correa, P.: Participants in the International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. Classification and grading of gastritis: the updated Sydney system. *Am J Surg Pathol*, 20:1161-1181, 1996.
  52. Graham, D.Y., Malaty R., Goodgame, R., Ou, C.N.: Effect of cure of *Helicobacter pylori* infection on the gastric mucosal permeability. *Gastroenterology*, 110(Suppl):A122, 1996.
  53. Goodwin, C.S., Armstrong, J.A., Marshall, B.J.: *Camphylobacter pyloridis*, gastritis and peptic ulceration. *J Clin Pathol*, 39:353-365, 1986.
  54. Hassey, S.J., Spencer, J., Wyatt, J.I., et al.: Bacterial adhesion and disease activity in *Helicobacter* associated chronic gastritis. *Gut*, 31:134-138, 1990.
  55. Atherton, J.C., Peek, R.M., Tham, K.T., Cover, T.L., Blaser, M.J.: Clinical and pathological importance of heterogeneity in *vacA*, the vacuolating cytotoxin gene of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 112:92-99, 1997.
  56. Nilius, M., Malfertheiner, P.: *Helicobacter pylori* enzymes. *Aliment Pharmacol Ther*, 10(Suppl 1):65-71, 1996.
  57. Labigne, A., de Reuse H.: Determinants of *Helicobacter pylori* pathogenicity. *Infect Agents Dis*, 5:191-202, 1996.
  58. Baggiolini, M., Dewald, B., Moser, B.: Interleukin-8 and related chemotactic cytokines – C-X-C and C-C chemokines. *Adv Immunol*, 55:97-179, 1994.
-

59. Sobala, G.M., Crabtree, J.E., Dixon, M.F., et al.: Acute *Helicobacter pylori* infection. Clinical features, local and systemic immune responses, gastric mucosal histology and gastric juice ascorbic acid concentrations. *Gut*, 32:1415-1418, 1991.
  60. Kurose, I., Granger, D.C.N., Evans, D.J., et al.: *Helicobacter pylori*-induced microvascular protein leakage in rats: role of neutrophils, mast cells and platelets. *Gastroenterology*, 107:70-79, 1994.
  61. Crabtree, J.E., Shallcross, T.M., Heatley, R.V., Wyatt J.I.: Mucosal tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Gut*, 44:768-771, 1991.
  62. Fukada, T., Kimura, S., Arakawa, T., Kobayashi, K.: Possible role of leukotrienes in gastritis associated with *Camphylobacter pylori*. *J Clin Gastroenterol*, 12(Suppl 1):131-134, 1990.
  63. Taha, A.S., Boothman, P., Holland, P., et al.: Gastric mucosal prostoglandin synthesis in the presence of *Camphylobacter pylori* in patients with gastric ulcers and non-ulcer dyspepsia. *Am J Gastroenterol*, 85:47-50, 1990.
  64. Sarsfield, P., Jones, D.B., Wotherspoon, A.C., Harvard, T., Wright, D.H.: A study of accessory cells in the acquired lymphoid tissue of *Helicobacter* gastritis. *J Pathol*, 180:18-25, 1996.
  65. Rathbone, B.J., Wyatt, J.I., Worsley, B.W., et al.: Systemic and local antibody responses to gastric *Camphylobacter pyloridis* in non-ulcer dyspepsia. *Gut*, 27:642-647, 1986.
  66. Rauws E.A.S., Tytgat, G.J.N.: *Camphylobacter pylori*. Department of Gastroenterology and Hepatology Academic Medical Centre, Amsterdam, 1989.
  67. Robert, M.E., Weinstein, W.M.: *Helicobacter pylori* associated gastric pathology. *Gastroenterol Clin of North Am*, 22(1):59-72, 1993.
  68. Talley, N.J.: *Helicobacter pylori* and non-ulcer dyspepsia. *Scan J Gastroenterol*, 31(Suppl.220):19-22, 1996.
  69. El-Omar, E., Penman, I., Ardill, J.E.S., McColl, K.E.L.: A substantial proportion of non-ulcer dyspepsia patients have the same abnormality of acid secretion as duodenal ulcer patients. *Gut*, 36:534-538, 1995.
  70. Tytgat, G.N.J., Noach, L.A., Rauws, E.A.J.: *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer disease. *Gastroenterol Clin of North Am*, 22(1):127-139, 1993.
  71. Laine, L.: *Helicobacter pylori*, gastric ulcer and agents noxious to the gastric mucosa. *Gastroenterol Clin North Am*, 22(1):117-125, 1993.
-



72. Veldhuyzen van Zanten, S., Malatjalian, D., Tanton, R., et al.: The effect on eradication of *Helicobacter pylori* on symptoms of non-ulcer dyspepsia patients (NUD): a randomized double-blind placebo controlled trial. *Gastroenterology*, 108:A250, 1995.
  73. Blaser, M.J.: *Helicobacter pylori* and pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *J Infect Dis*, 161:626-633, 1990.
  74. Parsonnet, J., Friedman, G.D., Vandersteen, D.P., et al.: *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Eng J Med*, 325:1127-1131, 1991.
  75. Karnes, W.E., Samloff, I.M., Siurala, M., et al.: Positive serum antibody and negative tissue staining for *Helicobacter pylori* in subjects with atrophic body gastritis. *Gastroenterology*, 101:167-174, 1991.
  76. Lin, J.T., Wang, L.Y., Wang, J.T., Yang, C.S., Chen, C.J.: A nested case control study on the association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer risk in a cohort of 9775 men in Taiwan. *Anticancer Res*, 15:603-606, 1995.
  77. Parsonnet, J., Friedman, G.D., Orentreich, N., Vogelmann, H.: Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut*, 40:297-301, 1997.
  78. Wotherspoon, A.C., Ortiz-Hidalgo, C., Falzon, M.R., Isaacson, P.G.: *Helicobacter pylori*- associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet*, 338:1175-1176, 1991.
  79. Raymond, P.O., Major, M.D.: Detection methods of *Helicobacter pylori*: Accuracy and costs. *The American Surgeon*, 63:665-668, 1997.
  80. Sobala, G.M., Crabtree, J.E., Dixon, M.F., et al.: Acute *Helicobacter pylori* infection: clinical features, local and systemic immune response, gastric mucosal histology, and gastric juice ascorbic acid concentration. *Gut*, 32: 1415-1418, 1991.
  81. Laine, L., Lewin, D., Naritoku, W., Estrada, R., Cohen, H.: Prospective comparison of commercially available rapid urease tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointest Endosc*, 44:523-526, 1996.
  82. Puetz, T., Vakil, N., Phadins, S., Dunn, B., Robinson, J.: The Pyloritek and CLO test: accuracy and incremental cost analysis. *Am J Gastroenterol*, 92:254-257, 1997.
  83. Laine, L., Estrada, R., Lewin, D.N., Cohen, H.: The influence of warming on rapid urease test results- a prospective evaluation. *Gastrointest Endosc*, 44:429-432, 1996.
-

84. Hachem, C.Y., Clarridge, J.E., Evans, D.G., Graham, D.Y.: Comparison of agar based media for primary isolation of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol*, 48:714-716, 1995.
85. Kelly, S.M., Pitcher, M.C., Farmery, S.M., Gibson, G.R.: Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspeptia in the United Kingdom. *Gastroenterology*, 107:1671-1674, 1994.
86. Han, S.W., Flamm, R., Hachem, C.Y., et al.: Transport and storage of *Helicobacter pylori* from gastric mucosal biopsies and clinical isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 14:349-352, 1995.
87. Westblom, T.U., Madan, E., Midkiff, B.R.: Egg yolk emulsion agar, a new medium for the cultivation of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol*, 29(4): 812-821, 1991.
88. Li, C.F., Ha, D.A., Ferguson, D.A., et al.: A newly developed PCR assay of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces-evidence of high prevalence of *H. pylori* in saliva support oral transmission. *Dig Dis Sci*, 41:2142-2149, 1996.
89. Roosendaal, R., Kuipers, E.J., van den Brule, A.J., et al.: Importance of the fiberoptic endoscope cleaning procedure for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens by PCR. *J Clin Microbiol*, 32:1123-1126, 1994.
90. Megraud, F.: Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scan J Gastroenterol*, 215: 57-62, 1996.
91. Alemohammad, M.M., Foley, T.J., Cohen, H.: Detection of immunoglobulin G antibodies to *Helicobacter pylori* in urine by enzyme immunoassay method. *J Clin Microbiol*, 31:2174-2177, 1993.
92. Lizza, F., Maletta, M., Imeneo, M., et al.: Salivary-specific immunoglobulin G in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients. *Am J Gastroenterol*, 90:1820-1823, 1995.
93. Cohen, H., Retama, B., Johnson, C., Rose, S., Pronovost, A., Laine, L.: Evaluation of a rapid test to detect IgG antibodies to *Helicobacter pylori* using fingerstick whole blood samples. *Gastroenterology*, 110:A83, 1996.
94. Sadowski, D.H., Cohen, H., Laine, L., et al.: Evaluation of the Flexsure HP fingerprick blood test for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology*, 110:A246, 1996.
95. Nilson, I., Ljungh, A., Aleljung, P., Wadstrom, T.: Immunoblot assay for serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infections. *J Clin Microbiol*, 35:427-432, 1997.

96. Cover, T.L., Glupczynski, Y., Lage, A.P., et al.: Serologic detection of infection with CagA+ *Helicobacter pylori* strains. J Clin Microbiol, 33:1496-1500, 1995.
97. Koletzko, S., Haisch, I., Seeboth, I., et al.: Isotope selective non-dispersive spectrometry for detection of *Helicobacter pylori* infection with <sup>13</sup>C-urea breath test. Lancet, 345:961-962, 1995.
98. Cohen, H., Bautista, L., Crowe, H., Johnson, C., Rose, S.L., Pronovost, A.D.: Comparison of culture and history to seven commercial tests for *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol, 90:1579-1582, 1995.
99. Silverstein, F.E., Tytgat, G.J.: Atlas of Gastrointestinal Endoscopy. Second Ed., Mosby-Wolfe, 1991, Chapter 2-7.
100. Fauchere, J.L.: Evaluation of anti-*Helicobacter pylori* serum antibody response, 50-74, In: Lee, A., Megraud, f.: *Helicobacter pylori*: Tecniques For Clinical Diagnosis & Basic Research, London: W.B. Saunders Company Ltd, 1996.
101. Tezcan, S.: Epidemiyoloji, s:114-124. Ankara: Meteksan Anon-im Şirketi, 1992.
102. Aydın, F., Köseahmet, F., Katırcı, İ., Bakır, T., Bingöl, R.: Antral kronik gastritte *Helicobacter pylori* varlığının gösterilmesinde Gram boyama, kültür ve serolojik yöntemlerin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 23:231-233, 1993.
103. Gür, G., Boyacıoğlu, S., Demirhan, B., et al.: The importance of increasing the number of gastric biopsies in the diagnosis of *Helicobacter pylori*. Hepatogastroenterology, 45(24):2219-2223, 1998.
104. Lin, S.Y., Jeng, Y.S., Wang, C.K., et al.: Polimerase chain reaction diagnosis of *Helicobacter pylori* in gastroduodenal diseases: comparison with culture and histopathological examinations. J Gastroenterol Hepatol, 11(3): 286-289, 1996.
105. Nichols, L., Sughayer, M., De Grolami, P.C.: Evaluation of diagnostic methods for *H. pylori* gastritis. Am J Pathol, 95(6):769-773, 1991.
106. Pounder, R.E.: The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. Aliment Pharmacol Ther, 9 (Suppl 2): 33-39, 1995.
107. Aydın, F., Köseahmet, F., Katırcıoğlu, İ., Albayrak, L., Çalık, A., Bingöl, R.: Antral mide biyopsi örneklerinde *Helicobacter pylori*'nin belirlenmesinde kullanılan bazı yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 24: 176-178, 1994.
108. Montgomery, D.M., Martin, D.F., Peura, D.A.: Rapid diagnosis of *Camphylobacter pylori* by Gram stain. Am J Clin Pathol, 90: 606-609, 1988.

109. Aydın, F., Köseahmet, F., Katırcıoğlu, Bakır, T., Bingöl, R.: Antral kronik gastritte *Helicobacter pylori* varlığının gösterilmesinde Gram boyama, kültür ve serolojik yöntemlerin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 23: 231-233, 1993.
110. Asaka, M., Kato, M., Kudo, M., et al.: Relationship between *H. pylori* infection, atrophic gastritis and gastric carcinoma in a Japanese population. Eur J Gastroenterol Hepatol, 7(1):7-10, 1995.
111. Kato, S., Onda, M., Matsukura, N., et al.: *Helicobacter pylori* infection and genetic polymorphisms for cancer-related genes in gastric carcinogenesis. Biomed Pharmacother, 51: 145-149, 1997.
112. Kalkan, A., Bulut, V., Bahçecioğlu, İ.H., Demirdağ, K., Aral, M.: Elazığ yöresinde *Helicobacter pylori* seroprevelansı. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 27:28-32, 1997.
113. Sobala, G.M., Crabtree, J.E., Pentith, J.A., et al.: Screening dyspepsia by serology to *Helicobacter pylori*. Lancet, 338(13): 94-99, 1991.
114. Thijs, J.C., van Zwet, A.A., Thijs, W.J., et al.: Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard. Am. J. Gastroenterol.91:2125-2129, 1996.
115. Leunk, R.D., Ferguson, M.A., Morgani D.R., Low, D.E., Simor, A.E.: Antibody to cytotoxin in infection by *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol, 28(6): 1181-1184, 1990.
116. Heikkinen, M., Mayo, K., Megraud, F., et al.: Association of CagA-negative *Helicobacter pylori* strains with patients' symptoms and gastritis in primary care patients with functional upper abdominal complaints. Scand J Gastroenterol, 33: 31-38, 1998.
117. Camorlinga-Ponce, M., Perez-Perez, G., Leal-Herrera, Y., et al.: Validation of a serologic test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and immune response to urease and CagA in children. Am J Gastroenterol, 93(8): 1264-1269, 1998.
118. Garner, J.A., Cover, T.L.: Binding and internalization of the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin by epithelial cells. Infect Immun, 64(10): 4197-4203.

K.T.Ü. TIP FAKÜLTESİ MİKROBİYOLOJİ ABD "H. pylori" ARAŞTIRMA FORMU

PROTOKOL NO:

Hastanın Adı soyadı	.....	Tarih	.....
Yaşı	.....	Dosya no	.....
Cinsiyeti	.....	Telefon no	.....
Mesleği	.....	Adres	.....
Bölümü	.....		.....
Doktoru	.....		.....

Hastanın Şikayeti	.....				
Şikayetinin süresi	: 6 ay ↓ <input type="checkbox"/>	6 ay <input type="checkbox"/>	1 yıl <input type="checkbox"/>	2-3 yıl <input type="checkbox"/>	3 yıl ↑ <input type="checkbox"/>
Önceki tanı	: Yok <input type="checkbox"/>	Gastrit <input type="checkbox"/>	Ülser <input type="checkbox"/>	Ca <input type="checkbox"/>	Diğer :.....
H. pylori	: Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>	Bilmiyor <input type="checkbox"/>		
Tedavi(Hp'ye karşı)	: Almış <input type="checkbox"/>	Almamış <input type="checkbox"/>			
Kullandığı ilaçlar	.....				
Sigara alışkanlığı	: Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>			
Biyopsi örneği	: Alındı <input type="checkbox"/>	Alınmadı <input type="checkbox"/>			
Kan örneği	: Alındı <input type="checkbox"/>	Alınmadı <input type="checkbox"/>			
Diğer özellikler	.....				

Endoskopik Bulgular	.....
	.....
	.....

Histopatolojik Bulgular	:	
Enfeksiyonun şiddeti	:	Hafif : <input type="checkbox"/>
		Orta şiddette : <input type="checkbox"/>
		Şiddetli : <input type="checkbox"/>

Mikrobiyolojik bulgular:			
Mikroskopi: P <input type="checkbox"/>	Üreaz :P <input type="checkbox"/>	Kültür :P <input type="checkbox"/>	
N <input type="checkbox"/>	N <input type="checkbox"/>	N <input type="checkbox"/>	
T.IgG <input type="checkbox"/> Düzeyi:.....	T.IgM <input type="checkbox"/> Düzeyi:.....	T.IgA <input type="checkbox"/> Düzeyi:.....	
IgG1 <input type="checkbox"/> Düzeyi:.....	IgA1 <input type="checkbox"/> Düzeyi:.....		
IgG2 <input type="checkbox"/> Düzeyi:.....	IgA2 <input type="checkbox"/> Düzeyi:.....		
IgG3 <input type="checkbox"/> Düzeyi:.....			
IgG4 <input type="checkbox"/> Düzeyi:.....			