

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLAR (VETERİNER)
ANABİLİM DALI

**KÖPEKLERDE HELİKOBAKTER
ENFEKSİYONLARININ C¹⁴ ÜRE NEFES
TESTİ VE POLİMERAZ ZİNCİR
REAKSİYONU İLE BELİRLENMESİ VE
TEDAVİSİ**

DOKTORA TEZİ

Güvenç GÖKALP

**Samsun
Kasım 2013**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLAR (VETERİNER)
ANABİLİM DALI

**KÖPEKLERDE HELİKOBAKTER
ENFEKSİYONLARININ C¹⁴ ÜRE NEFES
TESTİ VE POLİMERAZ ZİNCİR
REAKSİYONU İLE BELİRLENMESİ VE
TEDAVİSİ**

DOKTORA TEZİ

Güvenç GÖKALP

Danışman: Doç Dr. Yücel MERAL

**Samsun
Kasım 2013**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Güvenç GÖKALP tarafından Doç. Dr. Yücel MERAL'in danışmanlığında hazırlanan "Köpeklerde Helikobakter Enfeksiyonlarının C¹⁴ Üre Nefes Testi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Belirlenmesi ve Tedavisi" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 01/ 11 / 2013 tarihinde yapılan sınav ile İç Hastalıklar Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Fatma Alev Akdoğan KAYMAZ
(İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Ab.D.)

Üye : Prof. Dr. Mehmet TÜTÜNCÜ
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Ab.D.)

Üye : Prof. Dr. Ahmet ÖZAK
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Ab.D.)

Üye : Doç. Dr. Yücel MERAL
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Ab.D.)

Üye : Doç. Dr. Duygu ÇAKIROĞLU
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Ab.D.)

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /.....

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŐEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalıőmam boyunca bende büyük emeği olan danışman hocam Doç.Dr. Yücel MERAL'e ,

Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Ab.D. baőkanı Sayın hocam Prof.Dr. Mehmet TÜTÜNCÜ'ye,

Eğitimim süresince bana destek olan, bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen sevgili hocam Yrd.Doç.Dr. Didem PEKMEZCİ'ye ve Anabilim dalındaki diğer değerli ğretim yesi hocalarıma,

Doktora tez çalışmalarında bize verdiği desteklerinden dolayı Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ab.D. Öğretim yesi Sayın hocam Doç. Dr. Alper ÇİFTÇİ'ye , Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Ab.D. Öğretim yesi Sayın Yrd.Doç.Dr. Sibel Uak SEMİRGİN'e,

Doktora tez çalışmaları boyunca karőılaőtıęım sorunlarda bana destek olan sevgili meslektaőım Sayın Veteriner Hekim Ayőe Birsen KADIOğLU'na,

Sosyal ve Eğitim hayatım boyunca bende büyük emekleri olan, yeri doldurulamaz güzel insanlar Annem ve Babama sonsuz teőekkürlerimi bir borç bilirim.

ÖZET
KÖPEKLERDE HELİKOBAKTER ENFEKSİYONLARININ C¹⁴ ÜRE NEFES TESTİ VE POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE BELİRLENMESİ VE TEDAVİSİ

Amaç: Bu çalışmada klinik olarak epigastrik ağrı şikâyeti mevcut olan ve olmayan köpeklerin mide biyopsisi, sıvısı ve fırça biyopsisi örneklerinde *Helicobacter* enfeksiyonlarının varlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), mikroskopisi ve bunun yanında C¹⁴-üre nefes testi yapılarak karşılaştırılmalı analiz takibi sonucu bu üç teknik arasındaki uyumun ve farklılıkların enfeksiyonun teşhisi açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmadaki hem hasta hem de sağlıklı köpeklerden kan alındı ve numune alınmasından sonra kan sayımı sonuçları kayıt edildi. Endotrakeal tüp yardımıyla nefes toplayıcı kuru kartuş sistemi ile solutturuldu. Fırça sitolojisi yöntemiyle her hayvandan mukus, biyopsi örnekleri ve mide sıvıları alındı. Numuneler, Diff-quick boya ile etken preparat üzerinde arandı. PZR analizlerinde örneklerden *Helicobacter spp.* varlığının belirlenmesi için hedef gen baz alınarak yapıldı.

Bulgular: *Helicobacter* gastritisli köpeklerde lökositoz, eritrositopeni ve eritrosit dağılım yüzdelerinde düşme tespit edilmiştir. Çalışmaya aldığımız *Helicobacter* gastritisli köpeklerde üre nefes testi ile elde ettiğimiz değerlerde *Helicobacter* gastritis tanısında belirleyici d değeri 209±163 (P≤0,001) olarak belirlenirken, diff quick boyama yöntemi ile 22 hayvanda pozitiflik saptandı. PZR yöntemiyle ise, 29 tanesi *Helicobacter spp.* 3 tanesi de *H. heilmanii* türüne sahip olduğu tespit edildi.

Sonuç: Köpeklerdeki spiral bakteri varlığının teşhisinde kullanılan üre nefes testi, PZR ve *Helicobacter* boyama yöntemleri kendi aralarında değerlendirildiğinde, üre nefes testi *Helicobacter* boyama yöntemine göre 65 kat daha güvenli olması, PZR analiz yöntemine göre ise 2 kat daha güvenli olması ve non-invaziv yöntem olması teşhis için kullanılan yöntemler arasında tercihen uygunluğu arttırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Diff- quick boyama , *Helicobacter* , PZR , Üre nefes testi

Güvenç GÖKALP (Doktora Tezi)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Kasım 2013

ABSTRACT

DETERMINATION OF HELICOBACTER INFECTIONS IN DOGS WITH C¹⁴ UREA BREATH TEST AND POLYMERASE CHAIN REACTION AND ITS TREATMENT

Aim: Within the present study, three different diagnostic approaches; PCR, microscopy, and ¹⁴C helicobacter urea breathe test that were performed with the brush biopsy technique. Samples of the stomach, and the stomach liquid for diagnosing the *Helicobacter* infection, were compared for their convenience and differences in the *Helicobacter* infected dogs that showed symptoms with or without epigastric pain.

Material and Method: Total blood counts were recorded immediately after the sampling from both sick and healthy dogs. The intubation tubes were placed and with urea dry cartridge and breath of the dogs were collected. Within the brush biopsy technique biopsy material and stomach liquids were collected. Samples were stained with Diff-quick stains and searched for the bacteria. Target gen was used for detection of *Helicobacter spp.* in the PCR analyzes.

Results: Leucocytosis, erythrocytopenia, and decrease in erythrocyte distribution width were detected in the dogs with *Helicobacter* gastritis. d level which used as a significant marker in urea breath test was determined as 209±163 (P≤0,001) in dogs with *Helicobacter* gastritis, on the other hand 22 dogs were detected as positive within the diff-quick staining. While, in PCR detection, 29 dogs were found as *Helicobacter spp.* infected, 3 dogs were found as *H. heilmanii* infected.

Discussion: Urea breath test that used for detection of spiral bacteria was found 65 times more confident when comparing the staining method in the present study. On the other hand comparing to PCR urea breath test was also found as 2 times more confident. These results with its non-invasive route makes urea breath test more optional contrary the other diagnostic methods.

Key Words: Diff-quick staining, *Helicobacter*, PCR, Urea breath test

Güvenç GÖKALP (Ph.D. Thesis)

University of Ondokuz Mayıs - Samsun, November 2013

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT: Alanin amino transferaz	LY: Lenfosit sayısı
AST: Aspartat amino transferaz	%LYM: Lenfosit oranı
Bab-A: Blood Group Antigen-Binding Adhesin	MALT: Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
CagA: CagA tipi bakteriyel sitotoksik faktör	MCH: Ortalama korpusküler hemoglobini
CBC: Tam Kan Sayımı	MCHC: Ortalama korpusküler hemoglobin konsantrasyonu
CLO-test: <i>Helicobacter pylori</i> Rapid Üreaz Testi	MCV: Ortalama korpusküler hacim
cpm: count per minute	MONO: Monosit sayısı
d: Üst ve alt pette toplanan toplam ¹⁴ CO ₂	%MONO: Monosit oranı
DNA: Deoksi Ribonükleik asit	n: Frekans
ELISA: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay	NSAID: Non-Steroidal Anti-İnflamatuar
GRA: Granülosit sayısı	PCT: Trombosit crit
%GRA: Granülosit oranı	PDWc: Trombosit dağılım genişliği
HCT: Hematokrit	PLT: Trombosit sayısı
HGB: Hemoglobin	PMNL: Polimorf Nükleuslu Lökositler
HHLO: <i>Helicobacter heilmannii</i> benzeri organizmalar	PPI: Proton Pompası İnhibitörü
HpSA: <i>Helicobacter pylori</i> Stool Antigen testi	PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
IceA: IceA tipi bakteriyel sitotoksik faktör	RBC: Eritrosit
IgA: Immunoglobulin A	RDWc: Eritrosit dağılım genişliği
IgG: Immunoglobulin G	RNA: Ribo nükleik Asit
IgM: Immunoglobulin	rRNA: Ribozomal Ribonükleik Asit
	UNT: Üre Nefes Testi
	VacA: VacA tipi bakteriyel sitotoksik faktör
	µCi: Mikro cürie
	µm: Mikrometre
	µSv: Mikro sievert

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÖZGEÇMİŞ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Helikobakter pylori	3
2.1.1. Helikobakter pylori'nin Tanımı	3
2.1.2. Helikobakter pylori'nin İsimlendirilmesi ve Lokalizasyonu	4
2.1.3. Helikobakter spp.'nin Özellikleri	6
2.1.4. Bulaşma	8
2.1.5. Patojenite	10
2.2. Tanı	14
2.2.1. Gastroskopi ile Tanı	15
2.2.2. C ¹⁴ Üre Nefes Yöntemi ile Tanı	15
2.2.3. PZR Yöntemi ile Tanı	17
2.2.4. Histopatolojik Tanı	19
2.2.5. Biyopsi Örneklerinde Helikobakter Varlığının Belirlenmesi	20
2.2.6. Hızlı Üreaz Testi ile Tanı	22
2.2.7. Serolojik Tanı	22
2.2.8. Kültürle İzolasyon	23
2.3. Tedavi	24
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1. Hematolojik Muayene	28
3.2. C ¹⁴ -Üre Nefes Testi	29
3.3. Gastroskopi Uygulaması	31
3.4. Diff-Quick İle Smear Muayenesi	32
3.5. DNA İzolasyonu	32
3.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	32
3.7. İstatistiksel Yöntem	33
4. BULGULAR	34
4.1. Hematoloji ve Serum Biyokimyası	34
4.2. C ¹⁴ -Üre Nefes Testi	36
4.3. Gastroskopik Muayene	37
4.4. Diff-Quick Boyama	37
4.5. PZR Analizi	38
4.6. PZR, C ¹⁴ -ÜNT ve Diff Quick Boyama Yöntemlerinin Karşılaştırması	40
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
7. KAYNAKLAR	53
8. EKLER	65

1. GİRİŞ:

Helicobacter pylori, ilk kez Warren ve Marshall tarafından insanlarda b tipi gastritisin nedeni olarak 1982'de Batı Avustralya'da keşfedilmiştir. *Campylobacter pyloridis* adını alan bu bakteri ile gastritis arasındaki etiyolojik ilişki Koch Postulatları'nın uygulanması ile doğrulanmıştır (Marshall ve ark., 1985; Warren ve ark., 1983).

Dünyanın birçok ülkesinde, bu organizmanın ultrastrüktürel yapısını, çeşitli mide hastalıkları ile ilişkisini ve epidemiyolojik özelliklerini inceleyen çok sayıda araştırma yapılmış ve organizmanın adı 1989'da *H. pylori* olarak değiştirilmiştir (Goodwin ve ark., 1989).

Köpeklerin mide mukozasında rastlanılan spiral yapıdaki mikroorganizmalar, insanlardaki *H. pylori* olarak bilinen bakteriden yaklaşık yüzyıl öncesinden bulunmuş ve *Helikobakter* türleri olarak belirlenmiştir. Köpeklerdeki *Helikobakter* türlerinin morfolojik yapısının insanlarda rastlanılandan büyük olmasından dolayı çok daha erken fark edildiği düşünülmektedir (Malferteiner, 2007).

Köpeklerin midesinde lokalize olan *H. heilmannii* insanlar için patojen özelliğine sahip olmasına karşın bu bakteri için virulans faktörler ve enfeksiyona karşı oluşturulan immun yanıtı dair bir veri bulunmamaktadır. İnsanlarda görülen lenfoid doku lenfomasının ortaya çıkmasında *H. heilmannii*'nin *H. pylori*'ye nazaran daha yüksek oranda bir etiyolojiye sahip olduğu görülmüştür (Stolte ve ark., 1997).

H. heilmannii benzeri Helikobakterlerin köpek ve kedilerden insanlara zoonotik olarak bulaştığı zannı üst gastrointestinal sistem semptomları olan insanlarda ve bu kişilerin elinde bulunan hayvanlarda benzer morfolojik özelliklere sahip organizmaların bulunmasıyla desteklenmektedir (Lovelace ve ark., 1994; Thomson ve ark., 1994).

Hayvanlar arasında en sık kusan tür olmalarına rağmen gastritis sonucu gelişen mide mukozasındaki şiddetli yangı durumunda bile kusmaları köpeklerde kronik gastritisin teşhisini zorlaştırmakla beraber hastalığın insidansının tam olarak ortaya konulamamasına neden olmaktadır (Turgut, 2001). Ancak, kronik kusma şikayetli köpeklerin %35'inde ve asemptomatik köpeklerin ise %28-48'inde gastritis saptanmıştır (Simpson, 2005). İnsanlarda olduğu gibi kronik gastritisin köpeklerdeki en önemli sebeplerinden birisinin de *Helicobacter* spp. enfeksiyonlarının olduğu düşünülmektedir.

Helicobacter spp. prevalansı kedi ve köpeklerde çok yüksektir. Hasta olmayan köpeklerde % 67-100, hasta olan köpeklerde % 74-90 oranlarında bulunurken, hastalığa yakalanmış veya sağlıklı olan kedilerde bu oranların % 40-100 arasında değiştiği bildirilmiştir (Simpson ve ark., 2005).

Köpek ve kedilerdeki helikobakter türlerinin midede bulunduğu kısımlarında görülen histolojik değişikliklerden sorumlu olabileceği sanılmaktadır. Bu değişiklikler üst gastrointestinal semptomları olan köpek ve kedilerde olduğu gibi klinik olarak sağlıklı köpeklerde de tespit edilmiştir (Otto ve ark., 1994).

Bu çalışmada yemeyi takiben kusma, iştahsızlık ve abdominal palpasyonda epigastrik ağrı şikâyeti mevcut olan (n=32), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve C¹⁴ Üre Nefes Testlerinde *Helikobakter* spp. negatif olan (n=41) köpeğin fiziksel ve gastroskopik incelenmesi yapılarak alınan mide biyopsisi, mide sıvısı ve fırça biyopsisi örneklerinde *Helikobakter* enfeksiyonlarının varlığının PZR ile belirlenmesi, mideden alınan smear örneklerinin Diff-quick ile boyanarak mikroskopisi ve bunun yanında ¹⁴C-Üre Nefes Testi (ÜNT) uygulamaları yapılarak karşılaştırılmalı analiz etmek ve bu üç teknik arasındaki uyumun ve farklılıkların enfeksiyonun teşhisi açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma ile sadece C¹⁴ ÜNT'nin köpeklerde rutin klinik uygulamasını göstermekle kalmamakla birlikte aynı zamanda elde edilen veriler ile enfeksiyonun ileriki epidemiyolojik çalışmaları kolaylaştıracak ve etkin bir tedavi protokolü takibine fırsat vereceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER:

2.1. *Helicobacter pylori*:

2.1.1. *Helicobacter pylori*'nin Tanımı:

H. pylori, dünyada en sık rastlanan bakteriyel enfeksiyon etkeni olup, major rezervuarının insan olduğu düşünülmektedir. *H. pylori*, fekal-oral veya oral-oral yolla bulaşan ileri derecede hareketli, virgül, S veya spiral şeklinde Gram negatif çomaklardır (Graham ve ark., 1998).

H. pylori, asemptomatik bireylerde midenin mukozal epitelinin üzerindeki mukus tabakasında yaşamaktadır. Günümüzde *H.pylori* ile birçok gastroduodenal inflamatuvar ve neoplastik hastalıklar arasında etiyolojik ilişki olduğu saptanmıştır (Köksal ve ark., 2002).

H. pylori'nin ülkemizdeki prevalansı %80'ler civarındadır. Günümüzde *H. pylori* ile ilgili çalışmalarda gastroduodenal patolojinin gelişimini etkileyen bakteri, konak ve çevreye ait faktörler önemli ölçüde açıklığa kavuşturulmuştur (Şimşek, 2011).

H. pylori midenin mukus bariyerini, spiral yapısı ve flagellası ile geçerek mide mukozasına ulaşır ve epitelyum hücrelerinin birbirlerine temas ettikleri yerlere yapışır. Serbest kalan bakteriyel antijenleri (kemotaksinler ve diğer komponentleri) özellikle polimorf nukleuslu lökositleri (PMNL) ve makrofajları aktive eder. Bakteriye karşı ilk antikor yanıtı IgM şeklindedir. Daha sonra IgA ve IgG antikorları salgılanmaktadır (Brooks ve ark., 1995; Sandıkçı ve ark., 1996).

2.1.2. *Helicobacter pylori*'nin İsimlendirilmesi ve Lokalizasyonu:

İnsan ve hayvan midesindeki spiral bakterinin varlığı 1800'lerin sonundan itibaren tanınmaktadır (Kidd ve ark., 1998). Bununla birlikte *H. pylori* ile insanlardaki gastrik hastalıklar arasındaki ilişkiye rastlanılmıştır (Marshall ve ark., 1985; Warren ve ark., 1983).

1983'de Robin Warren tarafından mide biyopsi örneklerinde *H. pylori*'nin üretildiği bildirilmesine kadar birçok araştırmacı bazı hayvan çalışmalarında spiral bakterilerin saptanmasına karşın asit ortamı nedeni ile steril kabul edilen midede, bu bakteriyel çalışmalar göz ardı edilmiştir (Warren ve ark., 1983).

1893 yılında Gulio Bizzozero tarafından köpeklerin mide parietal hücre vakuelleri sitoplazmaları içerisinde ve glandlarda spiral şeklinde mikroorganizmalar gösterilmiştir (Bingül ve ark., 1999; Dooley ve ark., 1993; Köksal ve ark., 2002).

Gastrik mukoza üzerinde görülen spiral organizmaların varlığı son yüzyılda birçok araştırmada çoğu kez vurgulanmıştır. İtalyan anatomist Gulio Bizzozero bu konudaki araştırmalarını bilim dünyası ile *H. pylori*'nin kültüre edilmesinden 100 yıl önce paylaşmıştır (Akgüç, 2011).

1896'da ise fare ve kedi midesinde spiral şeklinde mikroorganizmaların varlığı bildirilmiştir. 1906'da Krenitz, insanlarda benzer mikroorganizmaları tanımlamış, mide kanserli hastaların mide içeriklerinde bakteri bulunduğu belirtilmiştir. 1938'de Donges, otopsilerden aldığı mide içeriklerinde bu bakterinin sıklığını %43 olarak saptamış, ancak mide hastalıkları ile ilişkisini bulamamıştır. 1940'larda Freedburg ve Baron ülser veya kanser nedeni ile parsiyel mide rezeksiyonu yapılan 35 hastadan 13'ünde spiral bakteri saptamışlardır. Luck ve Seth, *H. pylori*'nin üreaz enzim salgıladığını ilk kez 1924 yılında tanımlamıştır (Dooley ve ark., 1993).

1955’de Kornberg ve Davies, gastrik üreaz aktivitesinin genelde korpusta lokalize ve bakteriyel kaynaklı olduğunu göstermişlerdir. 1975’de Ster ve Collin-Jones, mide ülserli hastalarının mide mukozalarından alınan biyopsilerinde, mukus tabakası altında bakteri varlığını göstermişler ve bu bakterinin mukozal direnci kırarak ülsere neden olabileceğini belirtmişlerdir. Fakat bakteriyi kültüre edemedikleri için konu tartışmalı olarak kalmıştır (Dooley ve ark., 1993). 1982’de ise Warren ve Marshall, standart *Campylobacter* kültür ortamına ve seçici olamayan besiyerlerine antrum bölgesinden alınan biyopsi örneklerini ekerek bakteriyi izole etmeyi başarmıştır (Marshall ve ark., 1985; Warren ve ark., 1983).

Morfolojik olarak *Campylobacter*’e benzetildiğinden *Campylobacter* benzeri bakteri adı verilmiş ise de, kimyasal ve ultrastrüktürel yapı yönünden *Campylobacter* grubundan tamamen farklı bulunmuştur. Bu bakteri, 1984’de Marshall tarafından *C. pyloridis* olarak adlandırılmıştır (Marshall ve ark., 1984).

Marshall ve Warren, *H. pylori* infeksiyonunun gastrik ve duodenal ülserle ilişkisi olduğunu göstermişlerdir (Chey ve ark., 1999; Krogfelt ve ark., 2005). Bu mikroorganizma 1987’de *Campylobacter pylori* adını aldı (Marshall ve ark., 1984).

1989’da Goodwin ve ark. mikroorganizmayı *Campylobacter* cinsinden tamamen ayırmış; helikal yapısından ve sıklıkla midenin pilor bölgesinden izole edilmesinden dolayı “*Helicobacter pylori*” adını vermişlerdir (Bingül ve ark., 1999; Dunn ve ark., 1997). Aynı zamanda *H. pylori*, latince’de midenin alt kısımlarının spiral çubuğu anlamına gelmektedir (Velazquez ve ark., 1999). *H. pylori* midede antrumda mukus tabakası içinde serbest olarak yer almakla birlikte, adhezin aracılığı ile endotel hücrelerine yapışma ve hücre içi endositozu da söz konusudur (Altındış, 2003).

H. pylori’den sonra gastrik Helikobakter türleri arasında *H. heilmannii* grubu çok sayıda memeli türünde saptanmıştır. En sık olarak köpek, kedi, çita, domuz, vahşi kedi, birçok primat türlerinde ve insanlarda görülmüştür (Heilmann ve ark., 1991; Lee ve ark., 1988; Otto ve ark., 1994). Köpek ve kedilerle yapılan çalışmalar açıkça göstermiştir ki spiral bakteri klinik açıdan normal olan köpek ve kedilerin midesinde

olduğu kadar gastrointestinal hastalığa sahip köpek ve kedilerde de saptanmıştır (Geyer ve ark., 1993, Otto ve ark., 1994).

Kedi ve köpek midesinde kolonize olan en az 4 tür spiral organizma bilinmektedir. *H. felis* (Lee ve ark., 1988), *H. salomonis* (Jalava ve ark., 1997), *H. bizzozeronii* (Hanninen ve ark., 1996). *Gastropirillum hominis* olarak isimlendirilen, *H. heilmannii* vardır (McNulty ve ark., 1989).

Hayvanlarda en sık görülen Helikobakter türünün *H. heilmannii*, insanlarda ise *H. pylori* olduğu saptanmıştır. Helikobakter benzeri bakteriler çalışmalar sırasında inceleme yapılan köpek midelerinde sıklıkla gözlenmiş ancak bu mikroorganizmalarla gastrik patoloji arasındaki ilişki net olarak adlandırılmamış, bu nedenle de izole edilen farklı türdeki Helikobakter'lerin doğal yolla infekte olmuş köpeklerdeki spesifik prevalansları da saptanamamıştır (Sağnak, 2011).

Son zamanlarda O'Rourke ve ark. (2004) reaz gen kompleksinin bir bölümünün sekans analizini yaparak *H. felis*, *H. salomonis*, *H. bizzozeronii* ve *H. heilmannii*'yi ayırmayı başarmıştır (Solnick ve ark., 2003). Sonraki yapılan çalışmada *H. pylori*'nin de köpeklerde deneysel olarak insanlardakine benzer şekilde hastalık meydana getirdiği saptanmıştır (Rossi ve ark., 1999).

2.1.3. *Helicobacter spp.*'nin zellikleri:

Helicobacter spp. genellikle spiral şekilli, mikroaerofilik, yuvarlak uçlu, Gram negatif bir bakteridir. *H. pylori* 0,5 m genişlikte, 2,5-5 m uzunlukta ve 4-6 adet polar kılıflı flagellaya sahiptir. Bu yapı bakterinin mukus gibi viskoz ortamda hareketi için gereklidir. Her bir flagella yaklaşık 30 m uzunluğunda ve 2,5 nm kalınlığındadır. Her flagella yapısının ucunda kampilobakter cinsi bakterilerde bulunmayan karakteristik şişkinlikler vardır. Bu yapı özellikleri bakterinin viskoz sıvılarda tirbuşon tarzında kolay hareket etmesini sağlar (Solnick ve ark., 2003).

H. pylori, canlıda spiral şekillidir. Üremesi için uygun olmayan koşullarda ise yuvarlak, düzensiz çubuk şeklinde görülür. Kampilobakterlerin tersine flageli kılıflıdır ve disklere sahiptir. *H. pylori*'nin hücre duvarı 12-15 nm çapında alt ünitelerden oluşmaktadır. *H. pylori* enerjisini muhtemelen aminoasit ve yağların metabolizmasından sağlamaktadır (Goodwin ve ark., 1993).

H. pylori'yi doku kesitleri ve yayma preparasyonlarda görüntüleyebilmek amacı ile hematoksilen-eosinin yanı sıra, Warthin-Starry gümüş boyası, akridin oranj, gram boyama ve giemsa gibi doku kesitleri ve yayma preparasyonlarda görüntülenebilir boyama teknikleri kullanılmaktadır. Bakteriler dokuda mukus altında, epitel hücrelerinin yüzeyinde ve lümeninde görülürler (Goodwin ve ark., 1993).

Bakterinin hacmi uzunluk olarak 5-10 µm arasında, genişlik olarak 0,3-1,2 µm arasında değişebilir (Lee ve ark., 1988; Paster ve ark., 1991). *H. felis* biyokimyasal olarak diğer mide *Helikobakter spp.* türlerine benzemektedir. 4-6 µm uzunlukta ve 0,5 µm genişliktedir. Helikal bir morfolojiye sahiptir. *H.pylori* gibi spiral yapıda ya da kıvrımlı yapıda değildir. *H. felis* çiftler halinde organizmayı çevreleyen periplazmik fibrillere sahiptir (Bağlan ve ark., 2006; Stoffel ve ark., 2000). Bu özelliği ile morfolojik olarak çok benzeyen ancak kültür yapılamayan *H. heilmanni*'den ayrılır. Ancak bu iplikçiklerde tüm suşlarda bulunmaz. *H. felis*'in 16S rRNA (ribozomal ribonukleik asit) 'sının dizi analizi yapıldığında % 1 ' den az bir farklılık gösterdiği görülmüştür. Bu özelliği ile midedeki diğer *Helicobakter spp.* türlerine en yakın türdür. *H. bizzozeronii* ve *H. salomonis* büyük mide spiral bakterileridir. *H. bizzozeronii* 5-10 µm uzunlukta ve 0,3 µm genişlikte bipolar kılıflı flagellalıdır. *H. salomonis* daha küçük (5-7 tane 0,8-1,2 µm) ve daha sıkı sarmalıdır. 16S rRNA ve 23S rRNA dizi analizi sonucunda *H. bizzozeronii* ve *H. salomonis*'in genetik olarak birbirine yakın olduğu gözlenmiştir (Bağlan ve ark., 2006). *H. heilmannii*, *H. bizzozeronii* ile birlikte yapısal özellikleri bakımından oldukça benzerdir. *H. heilmannii* de 4-10 µm uzunlukta ve 0,5-0,7 µm genişliktedir (Stoffel ve ark., 2000).

Genetik çeşitliliğinin boyutları, bakteriler arasında benzersizdir. VacA geninin mozaikliği, farklı VacA alelleri arasında in vivo koşullarda rekombinasyon olduğunu göstermekte, bu da geçici poliklonal enfeksiyonun şu anda saptanabilenden daha sık olabileceğini düşündürmektedir. VacA geninin mozaik yapısı, iki farklı işaret sırası ve orta bölge tipinden oluşmaktadır, bir genotip (VacA s1) görünürde ülserojenik kapasite açısından CagA durumuna göre daha iyi bir göstergedir. Doğal olarak konağın tekrar tekrar maruz kalması organizmanın sınırsız genetik çeşitliliğinden de sorumlu gibi görünmektedir (Çiltaş, 2007).

2.1.4. Bulaşma:

Dünya genelinde insanların yarısından fazlası gram negatif bir mide bakterisi olan *H. pylori* ile kronik olarak enfektedir. *H. pylori*'nin köpeklerde deneysel olarak insanlardakine benzer nitelikte hastalık meydana getirdiği bildirilmiştir (Rossi ve ark., 1999). Gıda kaynaklı hastalıkların epidemiyolojisi son yirmi yılda değişmiştir. Mevcut gıda kaynaklı problemlerin birçoğu henüz çözüme kavuşmadan, yeni ortaya çıkan patojenler ve yeniden önem kazanan patojenlerin yeni özellikler kazanarak daha önce taşınmadığı gıdalarla taşınması bu durumun özetidir. Yeni ortaya çıkan gıda patojenleri, geniş bir coğrafyaya uzun yıllardır yayılmış, fakat hastalık etkenlerinin analizi ve identifikasyonundaki yeni ve gelişen bilgi ve metotlardan dolayı son yıllarda tanımlanabilmiştir. Bundan dolayı *H. pylori*, taşınma yolu tam olarak bilinmediği için henüz kesin olarak su ve gıda kaynaklı bir patojen olarak sınıflandırılmamıştır (Güner, 2012).

Veteriner Hekimler ve mezbaha çalışanlarında *H. pylori* prevalansının yüksek olması nedeniyle öncelikle zoonotik bir rezervuar olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca evcil hayvan besleyenlerde prevalans düşüktür ve herhangi bir hayvan türünün de rezervuar olduğuna deliller yoktur. Bununla birlikte, Gastroenterologlar ve üst gastrointestinal sistem salgılarıyla temas eden sağlık çalışanlarında saptanan yüksek seropozitiflik oranları bu kişilerin risk grubunda yer aldıklarını düşündürmektedir (Çiltaş, 2007).

H. pylori'nin doğal kaynağı henüz bilinmemektedir. Bazı hayvanlarda *H. pylori* dışı türler bulunmasına rağmen *H. pylori* için doğal zoonotik bir rezervuara dair objektif deliller bulunamamıştır. Günümüzde *H. pylori* 'nin majör rezervuarının insan olduğu düşünülmektedir (Ergür, 2006).

Karnivorlarda da *Helicobacter spp.* enfeksiyonu yüksek bir prevalansa sahiptir. İsviçre, Amerika ve Almanya' da yaşayan kedilerde *H. heilmannii* predominant bir tür olmakla birlikte *H. bizzozeronii* ve *H. felis* daha nadir görülmektedir. Finlandiya, İsviçre, Amerika ve Danimarka'da yaşayan köpeklerde *H. bizzozeronii* ve *H. salomonis* çok sık *H. heilmannii*, *H. felis*, *H. bilis* ve *Flexispira rappini* de saptanmıştır (Simpson ve ark., 2005).

Köpeklerde *H. pylori* enfeksiyonunun doğal olarak saptanabileceği halen kabul edilmemiştir. 2003 yılında iki köpeğin midyesinden alınan biyopsi materyalinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) metodu ile yapılan analiz sonucu *H. pylori* saptanmış, bunun üzerinde yapılan sekans analizinde % 99,2 - % 100 olarak bulunan çok yüksek benzerlik oranından dolayı *H. pylori* ya da ona çok benzeyen bir tür olarak tanımlamışlardır (Happonen ve ark., 1999).

Mide Helikobacter enfeksiyonlarının insanlardaki bulaşması da henüz tam olarak bilinmemesine rağmen; *H. pylori*' nin oral-oral yolla ya da fekal-oral yolla bulaştığı öne sürülmektedir. Özellikle laktasyon periyodunda yavru köpekler birbirleriyle oldukça yakın sosyal bir hayat yaşamaktadır. Böylelikle hayatlarının çok erken zamanlarında gastrik *Helicobacter spp.* bulaşmalarına maruz kalabilirler (Happonen ve ark., 1999).

Günümüzde insanların ve evcil hayvanların daha iç içe bir yaşam sürmelerinden ötürü *H. heilmannii* benzeri organizmaların (HHLO) insanlara bulaşmasında kedi ve köpeklerin bir rezervuar olarak rol oynayabileceği öne sürülmektedir (Chisholm, 2003; De Groote, 2001; Simpson, 2005).

H. heilmannii tip I, *H. suis*, *H. felis*, *H. bizzozeronii* ve *H. salomonis* tür komplekslerinin birbirinden ayrımı için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. İnsanların domuz, köpek ve kedileri de içeren çeşitli kaynaklardan gastrospirallere maruz kalma olasılığı vardır. Hayvanlarla temas halinde bulunan insanlarda *H. heilmannii* insidansını gösteren birçok çalışma mevcuttur. Son yıllarda Almanya, Belçika ve Hollanda’ da ortak yürütülen bir çalışmada hem insan hem hayvan midesinde *H. spp.* tipleri aranmış ve *H. bizzozeronii* köpeklerin midesinde en yüksek oranda saptanmıştır. Bu durum *H. bizzozeronii*’nin köpek midesi için predominant organizma olabileceğine işaret etmektedir. İnsanların midesinde ise *Candidatus helicobacter suis* ile *H. salomonis* yüksek oranda bulunmuş olup, bu durum köpeklerden insanlara bulaşma fenomeninde akla birçok soruyu getirmektedir. Çünkü köpek ve kedilerin midelerinde oldukça nadir oranda *H. salomonis*’e rastlanılmıştır (Van den Bulck ve ark., 2005) .

2.1.5. Patojenite:

H. pylori’nin patogenetik mekanizmalarında spiral şekil ve motilite, flagella, spesifik fosfolipidlere bağlanma, üreaz, katalaz, fosfolipaz, proteaz, vakuolize eden sitotoksinler ve otoimmünite rol oynamaktadır. *H. pylori*, salgıladığı enzim ve antijenik maddeler ile varlığını sürdürebilmekte ve doku hasarına neden olabilmektedir. Bakterinin patojenik özellikleri, bakterinin konakçıda yerleşmesini sağlayan kolonizasyon faktörleri, kolonizasyonun devamını ve bakterinin yaşamını sağlayan süreklilik faktörleri ve gastrik mukozada hasara yol açan hastalık oluşturuçu faktörler olarak sınıflandırılmaktadır. *H. pylori*’nin farklı fenotiplere sahip çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. Suşlar arasındaki patojenik özellikler ve konakçıya ait immunolojik faktörler taşıyıcılık ile hastalık arasındaki klinik sonucu belirlemektedir (Çiltaş, 2007).

Bakterinin esas olarak yerleştiği yer midedir ve burada kronik bir enfeksiyona yol açar. Fakat ektopik gastrik mukoza, gastrik metaplazi gibi gastrik tip epitel hücrelerinin bulunduğu duodenum, özefagus gibi gastro-intestinal sistemin herhangi bir bölgesine de yerleşebilir. Normalde mide mukozası bakteri enfeksiyonlarına karşı çok iyi korunmuştur. Yoğun asidik ortam bunda önemli rol oynamaktadır. *H. pylori*’nin mideye yerleşebilmesi nedeniyle yanlışlıkla aside dayanıklı olarak yorumlanmaması

gerekir. Tam tersine aside duyarlı bir bakteridir. Midenin korpus ve fundus bölümünde asidite daha yüksek olduğundan, asiditenin düşük olduğu antrum bölgesine daha kolay yerleşir (Tünger, 2008). Mukus içinde serbest yaşayabildiği gibi, bazen mukozal epitelyal hücrelere yapışabilir (Ergür, 2006). Bunun yanı sıra mide asiditesinin düşük olduğu viral enfeksiyon, ateşli hastalıklar ve asit sekresyonunun azaldığı durumlarda bakterinin mideye yerleşmesi daha kolay olmaktadır. Ayrıca, *H. pylori* kendi virulans faktörleri nedeniyle midedeki asidik ortama uyum sağlayabilmektedir. Midenin asidik olan bakterisidal ortamından hareketli olması ve en önemlisi de üreaz aktivitesi olması sayesinde kurtulabilir. Üreaz enzimi üreyi parçalayarak amonyak ve karbondioksit dönuştürür. Amonyak da asit ortamda amonyuma dönuşür (Tünger, 2008). Bu ürünler bakteriyi mide asidinden korur, mide epiteli için toksiktir. Amonyum hücreler arası tutunmayı azaltır ve *H. pylori*'nin sitotoksinlerinin etkisini artırır, nötrofillerin başlattığı mukozal hasarı potansiyalize eder. Ayrıca gastritin kronikleşmesini ve ülser oluşumunu provake eder (Ergür, 2006). Oluşan bu amonyum mukus tabakası içinde bakterinin canlılığını sürdürmesinde de önemli rol oynar (Tünger, 2008). *H. pylori* enfeksiyonu serum gastrinini yükseltir. Hayvan araştırmalarında yüksek serum gastrin düzeyinin amonyağa bağlı olabileceği ortaya konmuştur (Ergür, 2006).

Böylece bakteri, enfeksiyonun ilk adımı olan mukus tabakasına geçebilmektedir. Spiral yapıda olması ve kamçuları sayesinde mukus tabakası içinde yüzebilir ve mide epiteline tutunabilir. Kolonize olan bakterilerin %90'ı mukus içinde yüzer durumda, %10' u ise epitele yapışmış durumdadır. İnvazif bir bakteri olmadığından epitelyum altına geçmez, ekstrasellüler bir bakteridir (Tünger, 2008).

Gastritis semptomu göstermeyen sağlıklı köpeklerde de *Helicobacter spp.* prevalanslarının bulunması enfeksiyonun gidişatı ve patofizyolojisinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Güneş, 2008; Stolte, 1997). Bu duruma ek olarak da köpeklerin midesinde doğal veya deneysel yollarla *H. pylori* saptanmış çalışmalar vardır (Buczolitz ve ark., 2003; Güneş ve ark., 2008; Rossi ve ark., 1999).

Nöroendokrin hücelere ve nötrofillere de tropizm gösterebilir. Epitel hücre yüzeyi ve intraepitelyal alanda; kan grubu antijenlerine, lewis A ve lewis B antijenlerine, siyalize proteinlere, bağ dokuda; laminin, vitronektin ve kollajene bağlanıp bu yapıların bütünlüğü bozar (Ergür, 2006).

H. pylori'nin mide epitelyum hücrelerine yapışmasında rol oynayan bir takım adezin molekülleri tanımlanmıştır. Tanımlanmış en önemli adezini olan Bab-A (Blood Group Antigen-Binding Adhesin), epiteldeki Lewis B kan grubu antijenlerine bağlanır. Bunun dışında, bakterinin ürettiği müsinaz enzimi mukus tabakasını eriterek, doku hasarından dolayı açığa çıkan fosfolipaz A2 de mukus tabakasının altındaki fosfolipit yapıyı hasara uğratarak bakterinin epitel ile daha yakın temasına neden olurlar. Bakteri yüzeyindeki lipit, karbonhidrat ve gangliyozitlerin de yapışmada rolü olabileceği düşünülmüş, ancak kesin olarak kanıtlanamamıştır (Das ve ark., 2007).

H. pylori için saptanmış diğer virulans faktörleri ise VacA, CagA ve IceA'dır. VacA insan ve diğer memeli hayvanların başta olmak üzere tüm epitelyum hücrelerinde asidik vakuolizasyona neden olan bir toksindir. *H. pylori* suşlarının tamamında toksini kodlayan VacA geni bulunmasına rağmen genomdaki farklılıklar nedeni ile bazı suşlar toksin üretebilir. *H. pylori*, CagA genine de sahip olabilir. Bu geni taşıyan *H. pylori* suşları daha enfektif olduğu ve daha fazla yangıya neden olduğu bulunmuştur. CagA geni yüksek oranda iltihabi reaksiyonlarla ilişkilidir (Atherthon ve ark., 1997; Go ve ark., 2000). Yapışma sonrası bu bölgede mikrovilluslar kaybolmakta, bakteriyel sitotoksik faktörler (VacA, CagA, IceA gibi) epitelyum yıkımına yol açmakta, açığa çıkan ürünler lamina propriada inflamatuvar yanıtın başlamasına neden olmaktadır. Tüm *H. pylori* suşlarında bulunan VacA toksininin patogeneizde önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir. Epitelde vakuolizasyon yapması, apopitozu indüklemesinin dışında, asit sekresyonunu inhibe edici, pepsinojen salgısını artırıcı, hücre proliferasyonunu inhibe edici, parasellüler permeabiliteyi artırıcı, mitokondriyal hasar yapıcı etkisi vardır. Ayrıca epitelin apikal plazma membranında porların oluşmasına yol açarak, çeşitli anyonların lümene geçişine neden olmakta, böylece bakterinin besin sağlamasında önemli rol oynamaktadır (Van Doorn ve ark., 1998).

Köpek ve kedilerdeki büyük Helikobakter türleri epitelyuma tutunmaz. Genellikle süperfisyal mukozaya ve özellikle fundus ve kardiyadaki gastrik bezlere kolonize olmaktadır. Bazı büyük Helikobakter türleri intrasellüler olarak da gözlenebilir. Vakuolasyon, piknosis ve paryetal hücrelerin nekrozu gibi gastrik bezlerin dejenerasyonu enfekte hayvanlarda, enfekte olmayanlara göre daha sık görülmektedir. Paryetal hücre yetmezliği muhtemelen amonyağın direkt veya indirekt toksik etkileri sebebiyle, organizmanın direkt etkisiyle veya epitel mukus ve yangısal hücre döküntülerinin yol açtığı gastrik bezlerin kollumlarındaki obstruksiyonlar nedeniyle olabilir (Turgut ve ark., 2001). Gastrik lenfoid hiperplazi ile seyreden süperfisyal lenfoplazmositik gastritis sıklıkla görülür ve *Helicobacter spp.* ile enfekte kedi ve köpeklerde yaygındır (Simpson ve ark., 2005). Kedi ve köpeklerdeki patojenite üzerine olan çalışmalar *H. pylori*'ye göre oldukça yetersizdir. Sitopatojenik etkilerine dayanarak *H. felis*, *H. bizzozeronii*'ye göre daha patojenik bulunmuştur (Norris ve ark., 1999; Peyrol ve ark., 1998).

H. heilmannii kökenli gastritisler *H. pylori*'ye göre daha hafif seyirlidir. *H. heilmannii* kökenli gastrik MALT (mucosa-associated lymphoid tumor) oluşumunu deneysel olarak ratlarda şekillendirmişlerdir. Tüm bunlara rağmen *H. heilmannii* için gerek virulans faktörleri gerek enfeksiyona karşı oluşan immün yanıtı dair yapılmış pek çalışma bulunmamaktadır. Oysa epidemiyolojik çalışmalar göstermektedir ki *H. heilmannii* ile enfekte insanlarda MALT (mucosa-associated lymphoid tumor) lenfoma ortaya çıkması (%1,5-3,4), *H. pylori* (%0,66) ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir oranda meydana gelmektedir (Stolte, 1997). Gastrik ülser ve tümörler kedi ve köpeklerde çok daha nadir görülmektedir. NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drug) kullanımı gastrik ülserasyonun köpeklerdeki en önemli sebeplerden birisidir ve özellikle antrumda görülmektedir (Guilford ve ark., 1996).

Bunun yanı sıra travma, şok, sepsis, fizyolojik stres ve baş yaralanmaları gibi stresli durumlara maruz kalma da gastrik erozyon ve ülserlerin oluşmasında rol oynamaktadır. Gastrik karsinoma ve lenfoma en sık rastlanan gastrik tümörlerdendir ve özellikle yaşlı hayvanlarda görülmektedir (Happonen ve ark., 1999).

Gastrik karsinomaya sebep vermesi gerekçesiyle çalışmalarda özellikle tercih edilen *H. pylori*'nin yanı sıra *H. felis* ve *H. heilmannii* üzerinde yapılan çalışmalarda da son zamanlarda benzer bulgulara rastlanılmaktadır (Cui ve ark.,2004; Nomura ve ark., 2004; O'Rourke ve ark., 2004).

2.2. Tanı:

H. pylori enfeksiyonunun tanısında invaziv ve non-invasiv testler kullanılmaktadır (Graham, 1998; Köksal, 2002). İnvaziv yöntemde endoskopi ve biyopsi yapılarak Gram boyama veya üreaz testi (CLO-test) ile erken, histolojik inceleme ve kültürle daha geç tanı konulmaktadır (Atherthon ve ark., 1997; Ustaçelebi, 1999). Non-invasiv yöntemler ise üre nefes testi ve antijen ya da antikor aranmasına dayalı serolojik (ELISA, immunoblot, komplemen birleşmesi) testlerdir. Bireyin *H. pylori* enfeksiyonu ile ilişkisinin araştırılmasında kanda anti *H. pylori* IgG, IgM ya da IgA antikorlarının aranması yararlı, ucuz ve hızlı testlerdendir. Serolojik yöntemlerin, özellikle epidemiyolojik çalışmalarda yararlı olduğu bilinmektedir (Fidan, 1999; Ustaçelebi, 1999).

H. pylori enfeksiyonunu tanımlamada invaziv girişim (endoskopi) gerektiren hızlı üreaz testi, histoloji, kültür, PCR (Polymerase Chain Reaction)' a dayanan testler ve mide dokusunun faz-kontrast mikroskopisi gibi incelemelerin yanı sıra invaziv işlem gerektirmeyen seroloji, üre nefes testi, “*H. pylori* Stool Antigen test (HpSA)” gibi çeşitli yöntemlerin yanı sıra dışkı, tükürük ve dental plak gibi materyallerden moleküler yöntemlerle etkeni aramak için yararlanılmaktadır (Gramley ve ark., 1999; Kabir, 2004).

Üre nefes testi; radyoaktif yöntemle yapılan, duyarlılığı ve özgüllüğü çok yüksek non-invasiv bir tanı yöntemidir. Nispeten pahalı bir yöntem olmakla beraber gerek tanı gerekse tedavinin takibi amacı ile kullanılabilir (Dunn ve ark., 1997).

2.2.1. Gastroskopi ile Tanı:

Endoskopi terimi endo (iç, içini) ve skopein (gözlem monitörü) kelimelerinden türemiştir. Boşluklu organların içini inceleme anlamındadır. Veteriner Hekimlikte ilk kez 1970'lerde kullanıma girmiştir ve tüm veteriner sahada yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır (Güzelbektaş, 2002; İmren, 1987; Jones ve ark., 1991; Twedt ve ark., 1993). Endoskoplar muayene edilen organ veya organların çeşitlerine göre değişik isimlerle adlandırılırlar (Güzelbektaş, 2002; Jones ve ark., 1991).

Gastrointestinal endoskopi'nin (gastroskopi) en önemli endikasyonu, gastrointestinal lümenin (özefagus, mide, ince ve kalın barsaklar) direk gözlemlenerek lezyonların değerlendirilmesi ve spesifik tanının konabilmesi için biyopsilerin alınmasına imkan tanınmasıdır. Ayrıca yabancı cisimlerin uzaklaştırılmasında ve uygulanan medikal tedaviye alınan cevabın değerlendirilmesinde de endoskopiden faydalanılmaktadır. Gastroskopiye, muayene edilen organların lümenlerinde herhangi bir daralma veya tıkanıklık olup olmadığı, mukozaların rengi, kıvrımlarının durumu, lümen içerisinde fazla miktarda sıvı veya yabancı kitle olup olmadığı, mukozal yüzeyde lezyon (ülser, tümöral oluşumlar) olup olmadığı, gastrik deplasman veya komşu organların büyümesi gibi kriterler değerlendirilir. Şüpheli ya da anormal bölgelerden biyopsi ve fırça sitolojisi tekniği ile alınan materyallerin histopatolojik ve sitolojik kontrolleri yapılarak kesin teşhis konulabilmektedir. Bu uygulama günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (Tams, 2001).

2.2.2. C¹⁴ Üre Nefes Yöntemi ile Tanı:

1996 ve 1997 yıllarında *H. pylori* tanısı için US Food and Administration firması, C¹³ üre ve C¹⁴ üre nefes testlerini geliştirmiştir. Üre nefes testleri non-invaziv testler içerisinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Tedavi olmamış hastalarda aktif enfeksiyonun başlangıç tanısı için ve tedaviden altı hafta sonra tedavi takibi için kullanılır. *H. pylori*'nin üreyi hidroliz etme özelliğine dayanan test, işaretlenmiş karbon atomu kullanılarak yapılır. Bu amaçla yarılanma ömrü uzun C¹⁴ radyoizotopu veya stabil C¹³ non-radyoaktif izotop kullanılır. Test C¹³ veya C¹⁴ işaretli ürenin *H. pylori*'nin

yaptığı üreaz enzimi ile parçalanması sonucu açığa çıkan CO₂' in ekspirasyon havasında saptanması esasına dayanır. Bu iki testin birbirlerine üstünlükleri çok fazla değildir. C¹⁴ üre nefes testinin daha hızlı sonuç vermesi ve ucuz olması, C¹³ üre nefes testinin ise daha emniyetli ve kolay uygulanabilir olması tercih nedenidir. C¹³ izotopunun radyoaktif olmaması avantaj olmakla birlikte, dezavantajı temini güç ve pahalı mass spektrofotometreye gereksinim duymasıdır. C¹⁴ radyoaktif izotop test sırasında az miktarda kullanıldığından maruz kalınan radyoaktivite bir günde doğadan alınan miktardan azdır. C¹⁴ scintillation counter ile kolaylıkla ölçülür. Üreaz pozitif başka mikroorganizmaların varlığında veya aklorhidride yalancı pozitif sonuçlar alınabilmektedir. Yine yakın zamanda antibiyotik, antiasit, bizmut ve anti-sekretuar ajan kullanımları nedeniyle yalancı negatif sonuçlar alınabilir. C¹³ üre nefes testinin duyarlılık ve özgüllüğü %90' nın üzerinde olup, C¹⁴ de yakın değerlere sahiptir. Serolojik ve fekal antijen testlerinden daha pahalı fakat invaziv testlerden ucuzdur (Sönmez, 2002).

C¹⁴ işaretli üre ağız yoluyla verilir, daha sonra toplanan nefes örneklerinden C¹⁴ sayımı yapılmaktadır. Enfekte hastalarda organizma üreyi amonyağa ve karbondioksit çevirdiğinden dolayı, soluk verme havasında işaretli olan C¹⁴ 'ün hesaplanması yapılmaktadır. Enfekte olmayan hastalarda işaretlenmiş üre herhangi bir önemli biyokimyasal sisteme etki etmeden idrar yoluyla atılmaktadır. Midede nadir olarak rastlanabilen *Proteus spp.* ve *Klebsiella spp.* gibi üreaz üreten organizmaların açığa çıkardığı sonuçlar ise yanlış pozitifliğe örnek olabilir (Bird ve ark., 2001).

Jiang ve ark. (2007), *H. pylori* teşhisi ile ilgili çalışmalarında *H. pylori* teşhisinde kullanılan iki non-invaziv test olan üre nefes testi ve ELISA'yı karşılaştırmış sonuç olarak da üre nefes testinin ELISA'ya nazaran duyarlılığının az oranda da olsa yüksek olduğu saptanmıştır.

2.2.3 PZR Yöntemi ile Tanı:

Son yıllarda, *H. pylori* tanısında moleküler metodların gelişmesi, mikroorganizmanın üretilmesindeki zorlukların üstesinden gelme olanağı sağlamıştır. Özellikle PZR tanısal yöntemler arasında giderek artan sıklıkla kullanılmaktadır (Krogfelt ve ark., 2005). *H. pylori*, gastrik biyopsi örneği, dışkı ve tükürük gibi sıvılardan PZR yöntemiyle gösterilebilir. Duyarlılığı %85-96 ve özgüllüğü %90-100 arasındadır (Chattopadhyoy ve ark., 2004; Dunn, 1997; Li, 1996).

Gastrik biyopsi örneklerinde *H. pylori*'nin özgün olarak tanımlanmasında bakterinin 23S rRna, glm M ve VacA gibi farklı hedef genlerine yönelik PZR yöntemi kullanılmaktadır. Ancak bu testler tanı yöntemi olarak rutin uygulamalarda pek fazla tercih edilmemektedir. Uygulamadaki teknik zorluklar, inhibitörlerin varlığı nedeni ile yanlış negatif sonuçların alınabilmesi ve maddi açıdan ekonomik olmaması PZR uygulamalarında karşılaşılabilecek dezavantajlardır. PZR' in üstünlüğü, tükürük, dışkı, gastrik sıvı, safra gibi içinde az sayıda bulunan örneklerde mikroorganizma DNA' sının saptanarak non-invaziv olarak *H. pylori* tanısı yapılabilmesine olanak sağlayabilmesidir (Bonamico ve ark., 2004; Kabir, 2007).

Moleküler yöntemler, antibiyotik direncine neden olabilecek mutasyonların tanınması, epidemiyolojik açıdan hastalığın yayılma yolları ve araştırma çalışmalarında, *H. pylori* suşları arasındaki genetik farklılıkların saptanması ve patojenitesinin araştırılması amacıyla kullanılması uygun olan yöntemlerdir. Antibiyotik kullanılan hastalarda tedavi sonrası gastrik mukozadaki bakteri sayısı kültür ve diğer tanı yöntemleri ile tesbit edilemeyecek kadar az olabileceğinden tedavi başarısının takibinde PZR' in tercih edilebilecek yöntem olduğu bildirilmektedir (Gramley ve ark., 1999; Lim ve ark., 2003).

Polimeraz zincir reaksiyonu testi bakterinin saptanması ve direnç profilinin yanı sıra epidemiyolojik çalışmalarda Helikobakter türleri arasındaki genetik farklılıkların taranması enfeksiyonun yayılım yolları ve risk faktörlerini tanımlamada yardımcı olur (Dunn, 1997; Huynh, 2005; Li, 1996; Mackay ve ark., 2003).

Araştırmacılar, *H. felis*, *H. bizzozeroni*, *H. salomonis* ve *H. heilmannii*'yi üreaz gen üzerinden sekans analizini yaparak ayırt etmeyi başarmışlardır (Solnick ve ark., 2003). Gastrik biyopsideki *Helicobacter spp.* yoğunluğu diğer metotlarla gösterilemeyecek kadar az olsa bile PZR ile *Helicobacter spp.* DNA'sı ortaya konulabilir (Jalava ve ark., 1998; Norris ve ark., 1999; Otto ve ark., 1994).

Geniş ölçekli yapılacak genotipik çalışmalar bazı epidemiyolojik sorulara yanıt verebilecek olmasına rağmen *H. pylori* DNA'sının kolay elde edilememesi nedeniyle uygulanabilirliği kolay değildir (Mackay ve ark., 2003).

Polimeraz zincir reaksiyonu testi uygulanması sırasında DNA izolasyon basamağında gerçekeşebilecek kontaminasyon, cansız mikroorganizmaların veya bunlardan arta kalan kromozomal DNA'nın bulunması yalancı pozitif sonuçlara neden olabilmektedir (He ve ark., 2002; Kabir, 2004).

H. pylori'nin PZR ile taranmasında ve tanımlanmasında ureA, ureB, ureC, cagA, adhesin ve 23S rRna geni gibi farklı gen dizileri kullanılabilir (Gramley ve ark., 1999; Lim ve ark., 2003). 16S rRna geni köpek ve kedilerde sıklıkla belirlenen *Helicobacter spp.* türlerinden *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* ve *H. heilmannii* arasında yüksek oranda benzerlik göstermektedir (Jalava ve ark., 1998; Norris ve ark., 1999; Otto ve ark., 1994).

Testin doğruluğunu etkileyen faktörler arasında primer ve hedef DNA seçimi, örneğin hazırlanması, bakteri yoğunluğu, PZR uygulaması ile ilgili teknik konular yer almaktadır (Dunn ve ark., 1997). Farklı hedef bölge ve primerlerin tercih edildiği değişik protokollerin uygulandığı PZR yöntemlerinde duyarlılığı ve özgülüğu değişmektedir (Kabir, 2004).

2.2.4. Histopatolojik Tanı:

H. pylori, mide mukozasında yaygın olarak yerleşmesine karşın yamalı bir dağılım göstermektedir (Satoh ve ark., 1996).

H. pylori kolonizasyonu antrumda yoğun olmasına karşın gastrik asit üretimini baskılayan ilaç kullanılmışsa basil yoğunluğu korpusa doğru kayar (Polat ve ark., 2010). Bu nedenle endoskopik biyopsi örneklerinin alındığı alan ayrıca öneme sahiptir. Son dönemde yapılan bazı çalışmalarda biyopsilerin korpus ve antrumun ortaları ile bu iki alanı küçük ve büyük kurvatura yakın bölümlerinden alınması gerekliliği üzerinde durulmaktadır (Satoh ve ark., 1996).

Bu yöntemin en büyük avantajı; hem gastritisin tipini hem de *H. pylori*'nin histolojik varlığını tespit etmesidir. *H. pylori* karakteristik morfolojisini kaybedip, kokoid forma dönüşürse histolojik değerlendirme yapılamaz. *H. pylori*'nin histolojik incelenmesinde, epitel hücreleri yüzeylerinde, özellikle lümende ve mukus tabakası içinde kümeler halinde kalın spiral basiller izlenmektedir (Sönmez, 2002). Midenin farklı bölgelerinden alınan doku örneklerinin histopatolojik olarak incelenmesi hem bakteri hem de oluşan doku hasarı konusunda önemli bilgiler verir. İnflamasyonun ve metaplazinin derecesi, MALT ve gastrik kanser varlığı araştırılır. Genellikle hematoksilin-eozin boyama kullanılmaktadır (Blaser ve ark., 2005). Bir başka histopatolojik inceleme yöntemi olan immunohistokimyasal boyamada ise *H. pylori*'ye karşı monoklonal veya poliklonal floresan antikorlar kullanılır. Oldukça duyarlı ve özgül bir yöntemdir (Akyön, 2004). *H. pylori*, konvansiyonel hemotoksilen-eozin boyası ile yüzey epiteline yapışık, mukus tabakasında ve sıklıkla kriptler içinde derinlerde bulunur (Dunn ve ark., 1997). Bununla kesin sonuç alınamazsa Giemsa gibi özel bir boyama önerilmektedir. Wright, akridin oranj, gümüş, Giemsa, immunfloresan ve immunperoksidaz boyama yöntemlerinin duyarlılığı hematoksilin-eozine göre daha fazla bulunmuştur (Blaser ve ark., 2005).

Steiner silver boyası, Alcian blue ve hemotoksilen ile eozin boyasının birleşimi içeren duyarlı boyama teknikleri de geliştirilmiştir (Dunn ve ark., 1997). Histopatolojik inceleme %90'ın üzerinde duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (Chey ve ark., 1999). Enfekte midede pilorusun kurvaturundan alınan örneklerde pozitif bulma şansı %90'ın üzerine çıkmaktadır (Huijsdens ve ark., 2004).

2.2.5. Biyopsi Örneklerinde Helikobakter Varlığının Belirlenmesi:

Enfeksiyöz hastalıkların teşhisi amacıyla genellikle direkt ve indirekt yöntemlerden yararlanılmaktadır. Hastalık etkenlerinin izolasyon ve identifikasyonlarını amaçlayan klasik direkt yöntemler ya da konvansiyonel teşhis yöntemleri; klinik bulgulara, otopsi bulgularına, etken izolasyonu ve identifikasyonuna, antijenik materyallerin saptanmasına ve serolojik yöntemlere dayanmaktadır. Bu yöntemler bazen başarılı sonuçlar vermez ya da latent ve gizli enfeksiyonlarda izolasyon bakımından bazı olumsuzluklara yol açarlar. Ayrıca, bazı bakteriyel ve viral enfeksiyonlarda, spesifik etkeni izole ve identifiye etmek her zaman mümkün olmamaktadır ve bazı durumlarda etkenin identifikasyonu uzun sürmektedir. Ayrıca, mikroorganizmaların fagositik hücreler tarafından endositozisi veya hastalık etkenlerinin intraselüler bir karakter taşıması da konvansiyonel tekniklerle hastalık etkenlerinin izolasyonunu güçleştirmektedir. Bu gibi olgularda, immünolojik testlere dayanan indirekt teşhis yöntemlerinin yanı sıra, mikroorganizmaya ait genetik materyallerin (DNA ya da RNA) veya proteinlerin saptanmasını amaçlayan, spesifitesi ve sensitivitesi oldukça yüksek olan daha çabuk, kesin ve güvenilir sonuçlar veren biyoteknolojik teşhis yöntemlerinin kullanılmaları giderek yaygınlık kazanmıştır. (Bilgehan ve ark., 1993; Saiki ve ark., 1988).

Bu biyoteknolojik yöntemlerden en önemlisi PZR'dır. PZR bakteri, virus mantar, parazit, protozoon gibi hastalık etkenlerine ait hedef nükleik asit zincirlerinin primer adı verilen spesifik komplementer oligonükleotidler ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri (Taq ya da Tth polimeraz) kullanılarak in vitro olarak çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan oldukça özgül ve güvenilir moleküler biyolojik bir tekniktir (Scharf ve ark., 1986). Bu hedef genetik materyaller çok az sayıda ve hatta

birçok veya sayısız diğerk veya ilgisiz DNA'lar arasında olsalar bile çoğaltılabilir, homojen bir DNA materyali haline getirilebilir ve kolayca identifiye edilebilirler (Saiki ve ark., 1988; Scharf ve ark., 1986).

Şüpheli hastalık materyallerindeki mevcut nükleik asit fragmentlerinin sayısının artırılması ya da amplifikasyonu temeline dayanan Scharf ve ark. (1986), PZR "1989 yılının en önemli bilimsel gelişmesi" olarak kabul edilmiştir. Teknik ilk kez, Saiki ve ark. (1985), tarafından hemoglobinopatilerin tanısında kullanılmış ve enfeksiyöz hastalıklarda DNA problemlerinin kullanılmasıyla diğerk genetik hastalıkların, enfeksiyöz hastalıkların ve kanser vakalarının teşhisinde de kullanılabilceğı bildirilmiştir. Sonuç olarak, rekombinant DNA teknolojisindeki önemli gelişmeler biyolojik araştırmalara, tıbbi uygulamalara yeni bir boyut kazandırarak yeni tekniklerin kullanılmasına imkân sağlamıştır (Saiki ve ark., 1985).

Birçok bakteriyel patojeni identifiye edebilmek için kullanılan geleneksel yöntemler etkenlerin selektif besiyerlerinde veya hücre kültürlerinde üretilmeleri ve daha sonra da fenotipik özelliklerinin belirlenebilmesi amacıyla biyokimyasal testlerin yapılmasına dayanmaktadır. Bu klasik yöntemler, oldukça yavaş ve zahmetlidir. Hayvanlara ait enfeksiyöz hastalıkların önemi, onların ulusal ekonomi üzerine olan olumlu ya da olumsuz etkilerine dayanmaktadır. Bu nedenle, mikrobiyal patojenleri identifiye edebilmek için daha duyarlı, daha özgül ve daha hızlı yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Tam amacıyla birçok faydalı nükleik asit problemleri ve immunolojik tanı yöntemleri geliştirilmiştir, ancak bu tekniklerin birçok eksiklikleri mevcuttur (Erlich ve ark., 1991; Murakemi ve ark., 1991).

PZR da bu yeni teknikler arasındadır. Daha önce açıklanan bazı dezavantajları olmasına rağmen, günümüzde araştırma çalışmalarının önemi, bu tekniğın uygulanması üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bununla birlikte, moleküler biyolojideki gelişmeler bu eksiklikleri en az düzeye indirebilme gayretindedir. Bu nedenle de, PZR'ın tanı amacıyla kullanılması gün geçtikçe artmaktadır (Erdem, 1993; Murakemi ve ark., 1991; Erlich ve ark., 1991; Rodriguez, 1997; Schochetman ve ark., 1988; Xu ve ark., 1991).

2.2.6. Hızlı Üreaz Testi ile Tanı:

Gastrik biyopsi dokusu üre içeren bir ortamda tutulacak olursa *H. pylori* tarafından üretilen üreaz, üreyi kısa zamanda amonyak ve bikarbonata parçalar. Amonyak üretiminin sonucu olarak pH yükselir ve ortamdaki renk pembeye dönüşür. Bu sonuç dokuda bakterinin bulunduğunu gösterir. Biyopsi örneklerinde üreaz aktivitesini araştırmak amacıyla çeşitli firmalarca üretilmiş CLO test, PyloriTek® gibi hazır ticari kitler de mevcuttur. Hızlı üreaz testlerinin duyarlılığı mukozal biyopsi örneğindeki bakteri sayısının yanı sıra incelenen biyopsi sayısına bağlı olarak değişmekle birlikte genellikle %90 civarındadır (Versalovic ve ark., 2003).

Antibiyotik, bizmut içeren bileşikler ve proton pompa inhibitörleri gibi çeşitli ilaçların kullanılması bakteri miktarını geçici olarak azaltabileceğinden yanlış negatif sonuçlara neden olabilirler. Hızlı üreaz testinde *H. pylori* yoğunluğunun az olduğu enfeksiyonlar atlanabileceğinden negatif bir test sonucu *H. pylori* enfeksiyonunun yokluğunu veya eradikasyonunu göstermek için yeterli değildir. Ticari kitlerle yapılan üreaz testleri ekonomik, yüksek duyarlılık ve özgüllüğü nedeniyle biyopsi dokusunda *H. pylori* enfeksiyonu tanısının yaklaşımlarında yaygın biçimde kullanılmaktadır (Bonamico ve ark., 2004; Kabir, 2003).

Yersinia enterocolitica ve *Proteus vulgaris* gibi üreaz aktivitesine sahip olan diğer bakteriler bu testte genellikle oniki saat içinde pozitif sonuç verir. *H. pylori* için gereken süre ise bir saattir (Ustaçelebi, 1999).

2.2.7. Serolojik Tanı:

Serolojik testler, kan ve serumdan yapılan kolay ulaşılabilir, ucuz ve kantitatif testlerdir. Kan ve serumdan yapılan serolojik tanı testleri ile aktif ve geçirilmiş enfeksiyon ayırımı yapılamamakta, bu nedenle *H. pylori* eradikasyonunun takibinde kullanımı uygun bulunmamaktadır (Demir ve ark., 2011). *H. pylori* enfeksiyonu sonrası organizmada güçlü lokal ve sistemik humoral yanıt oluşur. Midede salgısal IgA düzeyleri, serumda ise bakteriye özgül IgG ve IgA seviyeleri yükselir. Serum IgM'nin

aksine serum IgA ve IgG seviyeleri yıllarca tesbit edilir. Tedavi edilmemiş hastalarda aktif enfeksiyona işaret eder. Anti-*H.pylori* serum IgG analizleri serum IgA'ya oranla daha fazla özgün ve duyarlı olup, serum seviyesi her zaman daha yüksek oranlardadır (De Korwin, 2003; Dunn ve ark., 1997).

Lateks aglutinasyon, *H. pylori*'nin asit ile ekstrakte edilmiş antijeni ile kaplanmış lateks partiküllerinin tespitine dayanan serolojik bir testtir. Aynı anda IgG, IgA ve IgM antikorları tespit edilmektedir (Telatar ve ark.,1998). Histolojik inceleme için alınan biyopsiler midenin çok küçük bir bölgesini temsil ederken, esasen serolojik inceleme midenin tümünü temsil etmektedir. Bu nedenle yalancı pozitif gibi görünen bir serolojik inceleme sonucu, belki de yalancı negatif bir biyopsi sonucunu yansıtmaktadır (Karabiber, 1992). *H. pylori* enfeksiyonunun primer tanısında Üre Nefes Testi ile kıyaslanabilecek en iyi sonuçların kantitatif antikor testleriyle elde edilmektedir (Erzin ve ark., 2007).

2.2.8. Kültürle İzolasyon:

Teorik olarak en güvenilir tanı yöntemidir. Antibiyotik duyarlılık testinin yapılmasını ve bakterinin özelliklerinin belirlenmesini sağlar. Eğer kültür, alınan doku uygun nakil ortamında ve en kısa sürede ulaştırılarak deneyimli bir laboratuarda yapılırsa duyarlılığı %95'e erişmektedir (Dunn ve ark., 1997). *H. pylori* kuruluğa ve çevre sıcaklığına duyarlı olup oda sıcaklığında canlılığını çabuk kaybeder.

Gliserol içeren ortamlar mide biyopsi örneklerinin hem transportu hem de daha uzun süre saklanmasına yardımcı olmaktadır (Heep ve ark., 1999; Dunn ve ark.,1997). Mide biyopsi örneklerinin taşınmasında serum fizyolojik kullanışlı olabilmektedir (Kolaylı ve ark., 2003) .

Mide biyopsi örnekleri ekim öncesinde homojenizasyon veya vorteksleme işlemine tabi tutulmalıdır. Materyal, taze hazırlanmış besiyeri ortamına; at kanı, at serumu veya koyun kanı ile zenginleştirilmiş Skirrow-agar, beyin-kalp infüzyon agar, çikotalamsı agar, Brucella agar veya Columbia agar gibi besiyerlerine ekilir. Ekim

yapılan besiyerleri orta derecede nem,%5-10 CO₂ içeren 37 °C'lik ısı ortamında 5-7 gün süre ile inkübe edilmelidir (Versalovic ve ark., 2003).

Helikobakter türleri kanlı agarda gri, yarısaydam, küçük koloniler yaparlar. Gram boyamada gözlemlenen morfolojileri ile kültürden hazırlanmış Gram boyamadaki görüntüleri arasında farklılıklar olabilmektedir. Kültürden izole edilen *H. pylori* suşları genellikle tipik görünümünün yanı sıra düz basiller şeklinde de görülürken, doku biyopsi örneklerinden yapılan boyamalarda genellikle tipik görünümüleri olan helikal ve daha kıvrımlı şekilde görünürler. *H. pylori*'nin kültürde varlığı konvansiyonel yöntemlerle; mikroskopik morfolojisine ek olarak incelenecek, katalaz, oksidaz ve üreaz aktivitelerinin varlığı değerlendirilerek saptanır. *H. pylori* kültürüne; enfeksiyonun etiyolojik tanısının yanı sıra antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç profillerinin belirlenmesi, virulans faktörlerinin saptanması, aşı ve antijen hazırlanması ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanmak amacıyla gereksinim duyulmaktadır (Aksoy ve ark., 2003; De Korwin, 2003).

2.3. Tedavi:

H. pylori insanlarda gastritisin, gastroduodenal ülserlerin, gastrik adenosarkomaların ve MALT'ın en önemli sebebinin oluşturmaktadır. Uluslararası yönergeler ise *H. pylori* enfeksiyonlarının tedavisinde standart üçlü tedavi protokolünü birinci sırada göstermektedir (Rimbara ve ark., 2011).

Graham ve ark. (2010) son zamanlarda gerçekleştirilen birçok klinik araştırma ve meta analizler standart tedavide eradikasyon oranının düştüğü ya da kabul edilemeyen sınırlarda (%80 veya daha az oranda) olduğunu belirtirken, Gatta ve ark. (2009) tarafından bunun bazı Avrupa ülkelerinde başarı oranları açısından daha da düşük seviyelerde (%25–60 oranlarında) olduğu ortaya konulmuştur. Bununla beraber, özgün birincil tedavi ile birlikte sadece *H. pylori*'ye yönelik melez bir tedavi protokolünün acilen oluşturulması gerekmektedir (Hsu ve ark., 2011).

Malfertheiner ve ark. (2012) yaptıkları IV. Florans Maastricht Konsensus Raporunda *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisinde antibiyotik direnci gösteren lokal bölgelerde yeni tedavi seçeneklerinin ihtiyaç olduğu ortaya konulmuştur.

H. pylori'ye karşı düşük klatromisin direnci olan bazı ülkelerde halen en iyi tedavi seçeneğinin üçlü tedavi seçeneği olduğunu, ancak bizmut içeren dördümlü tedavinin ise klatromisine %20'den fazla direnç gösteren ülkelerde kullanımlarının daha uygun olacağı yine bu raporla bildirilmektedir. Art arda uygulanan tedavi protokolleri ile eradikasyon oranını %90-94'lere çeken umut verici bir tedavi planı ortaya konulmaya başlanmıştır (Gisbert, 2010).

Antibiyotikler, luminal asiditeden etkilenmemeleri için etkin bir asit inhibitörü ile birlikte verilmektedir. Bundan dolayı bu tedavide beş günlük standart bir ikili bir proton pompası inhibitörü (PPI) ile amoksisillin, hemen ardından yine beş günlük bir üçlü yine bir PPI ile klatromisin ve metranidazol grubu antibiyotiklerin kullanımı gereklidir. Yapılan bir amaca yönelik tedavi analizinde bu protokollerce uygulanan yeni tedavide *H. pylori* iyileştirme oranının ortalama %93 olduğu ortaya konulmuştur (Gatta ve ark., 2009).

Birçok çalışma art arda uygulanan tedavi protokollerinin standart üçlü tedavilere oranla daha yüksek bir eradikasyon oranına sahip olduğunu da ortaya koymaktadır (Tsay ve ark., 2011).

Köpek ve kedilerde görülen gastrik *Helicobacter spp.*'ler insanlardaki *H. pylori*'nin aksine daha büyük yapıdadırlar (Neiger, 2000).

Prevalanslarının aksine köpek ve kedilerde *Helicobacter spp.* ile gastritisin ve buna ilişkin klinik bulgularına ait herhangi bir bağlantı kurulamamıştır. Leib ve ark. (2007) ise kronik kusma belirtileri gösteren, gastritisli ve *Helicobacter spp.*'li köpeklerde dahi gastroduodenoskopi sırasında gastrik ülserlerin varlığına nadiren rastladıklarını belirtmişlerdir. Buna ek olarak, insanlarda *H. pylori* enfeksiyonlarında görülen gastrik asit sekresyonunda aksisteki bozulmanın köpeklerdeki *Helicobacter spp.* enfeksiyonlarında gözlenmediği bildirilmektedir (Simpson ve ark., 1999).

Bu sebeplerden dolayı son yapılan bir çalışma gastrik *Helicobacter spp.* ile enfekte olan köpeklerde asit supresyonun tedavideki etkinliğinin araştırmış ve köpeklerde antibiyotik kombinasyonlarına ek, asit supresyonu için kullanılan ilaçların tedavideki etkinliklerinin insanlardakinin aksine faydalı olmadığını ortaya koymuştur (Leib ve ark., 2007).

Bahsi geçen çalışmada araştırmacılar sabah ve akşam olmak üzere toplam iki hafta boyunca 15 mg/kg amoksisillin+ 10 mg/kg metranidazole+ 262 mg bizmut içeren üçlü bir tedavi grubu, bu üçlü tedaviye 0,5 mg/kg dozda fomatidin ekleyerek insanlarda uygulanan altın standart olan diğer dördümlü tedavi grubunu oluşturmuşlardır (Graham ve ark., 2010).

Sonuçta, araştırmacılar bu çalışmanın dört hafta sonrasında tüm gastrik *Helicobacter spp.* ile enfekte köpeklerde eradikasyon oranını %75, altı ay sonrasında ise yine çalışmadaki tüm köpeklerde eradikasyon oranını %42,9 olarak saptamışlardır (Leib ve ark., 2007).

İnsanlardaki bizmut içeren bileşiklerin duodenal ülserlerde kullanımlarının aynı zamanda *H. pylori*'ye karşı topikal bakterisidiyal bir etki gösterdiği ve bu özelliğinden dolayı imidazol grubu antibiyotiklere bakteriyel direncin gelişmesini engelleyici etkilerinin de olduğu ortaya konulmuştur (Chiba, 2000).

Sonuç olarak köpeklerdeki gastrik *Helicobacter spp.* enfeksiyonlarının tedavisinde insanlardakinden farklı olarak bir asit supresyon takviyesinin gerekli olmadığı ancak bizmut türevlerinin tedaviye dâhil edilmesinin gerekliliği ortaya konulmuştur. Tüm bu bulgular eşliğinde dahi günümüzde köpeklerdeki gastrik *Helicobacter spp.* enfeksiyonlarının tedavisinde kesin ve standart bir tedavi protokolü oturtulamamış olup bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

3.MATERYAL VE METOD:

Çalışmamızda yemeyi takiben kusma, iştahsızlık ve abdominal palpasyonda epigastrik ağrı şikâyeti bulunan, 1 ay öncesine kadar antibiyotik ve 1 hafta öncesinden aktif asit inhibitörleri almamış, hasta köpek (n=32) ve klinik muayenede hiçbir hastalık belirtisi olmayan, PZR ile C¹⁴-ÜNT testlerinin sonucunda helikobakter negatif olan sağlıklı köpek (n=41) grupları oluşturulmuştur. Helikobakter gastritisli grup ise Aytuğ ve ark. (2011), belirttiği şekilde tedavi edildikten sonra, C¹⁴-ÜNT ve tam kan sayımı analizleri yapıldı. Helikobakter gastritisli köpeklerin tedavi edilmesi sonucu tedavi grubu (n=32) olarak yeni bir grup oluşturuldu. Çalışmada toplam 73 (n=73) köpek kullanıldı. Çalışmada kullanılan köpeklerin ırklarına göre dağılımı Tablo 1 ve beslenme şekillerine göre sayıları Tablo 2 ile gösterildi.

Tablo 1. Köpeklerin ırklarına göre dağılımı

İrklar	Sağlıklı köpeklerin ırklara göre dağılımı	Hasta köpeklerin ırklara göre dağılımı
Melez Irk	34	22
Golden Retriever	4	8
Doberman	-	1
Kangal	-	1
German Shepherd	3	-
Toplam	41	32

Klinik muayenesinde sağlıklı olarak belirlediğimiz 41 köpekten, 34'ü melez, 4'ü Golden Retriever ve 3'ü ise German Shepherd ırkı olarak tesbit edildi. Sağlıklı hayvanların 31'i erkek ve 10 tanesi dişi olarak belirlendi.

Hastalığı tespit edilmiş 32 köpekten 22'si melez 8'i Golden Retriever ve diğer iki hasta köpeklerden biri Doberman bir diğeri ise Kangal ırkı olarak tespit edilmiştir. Klinik olarak gastritisli olduğu belirlenen 32 köpekten, 15'i erkek, 17'si dişi olarak belirlendi.

Tablo 2. Köpeklerin beslenme şekillerine göre sayıları.

Beslenme şekilleri	Sağlıklı köpeklerin beslenme şekillerine göre sayıları	Hasta köpeklerin beslenme şekillerine göre sayıları
Ev Yemeği	20	18
Hem Ev Yemeği, Hem Kuru Mama	11	10
Kuru Mama	10	4
Toplam	41	32

Gastritis ön tanısıyla çalışmaya alınan 32 köpek numunelerin alınması sonrasında Aytuğ (2011)'nin belirttiği şekilde amoksisilin 20 mg/kg dozunda her 8 saatte bir, omeprazol 0,75 mg/kg 1 hafta süreyle uygulandı. Çalışmaya alınan tüm hayvanlara C¹⁴-ÜNT yapıldıktan sonra gastroskopi uygulandı. Gastroskopi ile mide mukozası muayene edilerek mide sıvısı ve mide mukozasından smear alındı. Alınan smear %0,9'luk serum fizyolojik içerisinde epandorf tüplerde, mide sıvısı da epandorf tüplerde sonrasında çalışılmak üzere -18°C'de saklandı. Çalışmaya alınan tüm köpeklerin eşkal ve muayene bilgileri her hayvan için açılmış protokollere işlendi ve alınan tüm örnekler gruplara uygun olarak numaralandırıldı.

3.1. Hematolojik Muayene:

Hasta (n=32) ve tedavi edilen grup (n=32) ile sağlıklı (n=41) gruptaki köpeklerden vena jugularis yoluyla heparinli tüplere 2 ml kan alındı. Heparinli tüplere alınan kan örnekleri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında, Abacus Vet Junior marka cihazla çalışıldı ve kan sayımı sonuçları (WBC, LYM, MONO, GRA, %LYM, %MONO, %GRA, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDWc, PLT, PCT, MPV, PDWc) her hayvan için ayrı ayrı kayıt edildi.

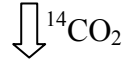
Yine aynı şekilde, hasta (n=32) ve tedavi edilen grup (n=32) ile sağlıklı (n=41) gruptaki hayvanlardan vena jugularis yoluyla düz tüplere alınan kan numuneleri 5000 devir/5 dk. santrifüj edildikten sonra kandan ayrılan serum mikropipet yardımıyla ependorf tüplere ayrıldı. Elde edilen serumlar üre, kreatinin, Alanin amino transferaz (ALT) ve Aspartat amino transferaz (AST) analizleri yapılmak üzere -18C° 'de saklandı. Idex Vet8008© marka otoanalizör ile belirtilen analizleri yapmak üzere saklanan numuneler oda ısısında çözdürüldü. Çalışmaya alınmış köpeklere ait kan serumlarında üre, kreatinin ve total protein Idex Vet8008© marka otoanalizör cihazında çalışıldı.

3.2. C¹⁴- Üre Nefes Testi:

Çalışma amacıyla hasta ve sağlıklı olarak iki gruba ayrılan hayvanlar C¹⁴-Üre Nefes Testine (ÜNT) alındı. Teste alınan hayvanların en az 6 saat aç olmasına, 1 ay öncesine kadar antibiyotik ve 1 hafta öncesinden aktif asit inhibitörleri almamış olmasına dikkat edildi. Aynı zamanda, üçüncü grup olan tedavi grubuna ait hayvanlar ise tedavi sonrasındaki Helikobakter varlığının tesbiti için C¹⁴-ÜNT alındı. Test için hayvanlara bol su ile birlikte herhangi bir ön hazırlık gerektirmeyen, içimi kolay, dökülme riski bulunmayan, emniyetli bir kapsül olan 1 mikro cürrie (µCi) dozunda, C¹⁴-üre kapsülü (HELICAP®) yutturuldu. Nefes toplayıcı kuru kartuş sistemi analizörde (Heliprobe Analyser Nosterkibion system 2223-A™) okutuldu ve sonuçlar 250 saniye içerisinde alındı (Şekil 1). Elde edilen sonuçlar Tablo 3'de belirtilen kriterlere göre değerlendirildi. Birinci derecede yer alan örnekler şüpheli olarak kabul edilerek ölçümler iki kez tekrarlandı.



Üreaz kapsülü midede üreaz (+) mikroorganizmalar tarafından $^{14}\text{CO}_2$ + Üre'ye dönüştürülür



Solunum havasında bulunan $^{14}\text{CO}_2$, içerisindeki C^{14} nefes kartında toplanır



Nefes kartlarında toplanan C^{14} Heliprobe Analyser™ tarafından sayılır

Şekil 1. Nefes toplayıcı kuru kartuş sistemi ve alınan örneklerin analizöre aktarılmasını sağlayan Heliprobe Analyser.

Tablo 3. Heliprobe Analyser ile alınan sonuçların değerlendirilmesi.

Derecelendirme	Enfeksiyon Varlığı	d (cpm)
0	Enfeksiyon yok	$d \leq 25$ cpm
1	Şüpheli	$25 \text{ cpm} < d < 50$ cpm
2	Enfeksiyon var	$d \geq 50$ cpm

3.3. Gastroskopi Uygulaması:

Gastroskopik muayene için klinik olarak hasta ve sağlıklı grup köpekler bir gün öncesinden aç bırakıldı. Köpeklerde H₂ reseptör blokörü kullanımı, antiasit tedavisi ve antibiyotik kullanımları bir hafta uygulanmadı ve son 3 saatte su alınımı da engellendi.

Anesteziye uygun olduğuna karar verilen köpeklere 1 ml/10 kg dozunda Ksilazin Hidroklorit (Rompun-Bayer®) kas içi yolla uygulanarak preanestezisi sağlandı. Preanestezik ilaç uygulamasından 5-10 dakika sonra Ketamin hidroklorür (Ketasol %10®) 10 mg/ kg dozda kas içi yolla yapıldı. Hayvan sol lateral pozisyonda yatırılarak endoskopik muayeneye hazırlandı. Damar yolu açılarak sıvı elektrolit desteği verildi. Gastroskopik muayene için klinik olarak hasta ve sağlıklı köpeklerin gastroskopik muayene prosedürüne uygun olarak hazırlıkları yapıldı. Gastrik endoskopi için Olympos® XQ20 model çalışma kanallı, soğuk ışık kaynaklı, fleksibl endoskopi cihazı kullanıldı. Her hayvanın muayene öncesinde endoskop cihazı çalışma kanalı ve çalışma aparatları ile birlikte sterilize edildi.

Farenksten başlayarak, özefagus ve antrumun sistematik muayeneleri yanı sıra midenin muayenesi, angulustan antrum ve pilorik kanal boyunca yön verilerek bir bütün halinde incelenmesi şeklinde muayene tamamlandı. Her hayvandan pilor bölgesi, korpus bölgesi ve fundus bölgelerinden fırça sitolojisi yöntemiyle ayrı ayrı mukus ve

biyopsi örnekleri ve mide sıvıları alındı. Alınan numuneler epandorf tüplere koyulmuş %0.09'luk serum fizyolojik içerisinde muhafaza edildi.

3.4. Diff-Quick ile Smear Muayenesi:

Lam üzerine sürülen smear havada kurutulup metanolle fiske edildikten sonra Diff-quick boya II ve I ile boyanarak 2 dakika içerisinde Diff-quick boyama yapıldıktan sonra preparat havada kurutuldu. Daha sonra etken 400 büyütme mikroskopta S ya da spiral şeklinde (Şekil 2) preparat üzerinde arandı. Bulunan sonuçlar protokole kayıt edildi.

3.5. DNA İzolasyonu:

Biyopsi sonucu alınan örneklerden DNA ekstraksiyonu, spin kolon ile filtrasyon prensibine dayanan ekstraksiyon kiti (Invitrogen DNA Extraction Kit) ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında, gerçekleştirildi. DNA ekstraksiyonu üretici firmanın bildirdiği metoda göre yapıldı ve elde edilen DNA'ların konsantrasyonları NanoDrop Spektrofotometre ile ölçülerek 50 ng/ml olacak şekilde eşitlendi.

3.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR):

Biyopsi örneklerinden Helikobakter'lerin belirlenmesi için gerçekleştirilen PZR analizlerinde kullanılan primerler ve beklenen ampikon boyutları Tablo 4'de gösterilmiştir. PZR analizlerinde örneklerden öncelikle *Helicobacter spp.* varlığının belirlenmesi için Helikobakter cinsine özgü ve 16S rRNA genini hedef alan PZR yapılmıştır.

PZR analizi Riley ve ark. (1996)'nın bildirdiği yöntemle göre gerçekleştirilmiş ve 375 bp'lik bant görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir. Cins spesifik PZR sonucunda pozitif bulunan örnekler için DNA'lara tür spesifik PZR yapılmıştır. Bu amaçla *H. pylori*'ye özgü 16S rRNA geni (Riggio ve Lennon, 1999), *H. heilmannii*'ye

özgün ureB geni (Nieger ve ark., 1998), *H. felis* ve *H. bizzozeronii*'ye özgün 16S rRNA geni (De Groote ve ark., 2001) için ayrı ayrı olmak üzere PZR uygulanmıştır. Tüm PZR analizleri ilgili literatürde bildirilen yöntem ve koşullarda gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4. Helikobakterlerin belirlenmesi için gerçekleştirilen PZR analizlerinde kullanılan primerler, oligonükleotid dizisi ve ampikon boyutları.

Helikobakter türleri	Primer adı	Oligonükleotid dizisi	Ampikon boyutu
<i>Helicobacter</i> cins-spesifik	HGSP1	TAT GAC GGG TAT CCG GC	375 bp
	HGSP2	ATT CCA CCT ACC TCT CCC A	375 bp
<i>H. pylori</i>	HPRR1	CGT TAG CTG CAT TAC TGG AGA	295 bp
	HPRR2	GAG CGC GTA GGC GGG ATA GTC	295 bp
<i>H. heilmanii</i>	HHUB1	GGG CGA TAA AGT GCG CTT G	580 bp
	HHUB2	CTG GTC AAT GAG AGC AGG	580 bp
<i>H. felis</i> , <i>H. bizzozeronii</i>	HSRR1	TGC GTA GGC GGG GTT GTA AG	434-373 bp

3.7. İstatistiksel Yöntem:

Çalışmada elde edilen veriler var (+) ve yok (-) tipinde elde edilen eşikli karakterdeki veri tipidir. Bu nedenle verilerin istatistik modellemesinde önce Binomiyal karakterdeki verilerin veri yapısı ve dağılım şekli belirlenerek en uygun matematik modelleme araştırılmıştır. Kategorik veri analizinde χ^2 istatistiklerinden yararlanılmıştır. Araştırma konusu olan hipotezlerin test edilmesinde temel olarak χ^2 analizi kullanılmakla beraber frekans sınıflarının değerlendirilmesinde Odd's Ratio hesaplamalarından yararlanılmıştır. Odd's Ratio değerleri istenen bir durumun karşıt duruma göre kaç kat farklı ya da değişken olduğunu göstermektedir. Burada 1'e yaklaşan değerler iki farklı durum arasında farkın olmadığını gösterirken 1'den büyük değerlerde incelenen olayın lehine bir artışın olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Çalışmada incelenen olayın gözlenen tüm durumlar içindeki farklılığı Eklemeli Risk, incelenen olayın kendi içindeki farklı diğer durumdan farkı ise Relatif Risk faktörü ile incelenmiştir. Sensivite analizi istenmeyen durumun gerçekleşme olasılığının değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Spesivite analizi ise incelenen durumun

başarılı olma ya da tekrarlanması olasılığı olarak düşünülebilmektedir. Bu amaçla çalışmada Sensitivite/Spesivite olasılıkları hesaplanmıştır (Zhang ve ark., 1998; Robbins ve ark., 2002; Viera ve ark., 2008).

4. BULGULAR:

4.1. Hematoloji ve Serum Biyokimyası:

Çalışmaya aldığımız köpeklerden sağlıklı (n=41), helikobakter gastritisli köpeklerde (n=32) ve tedavi grubu köpeklerde (n=32), lökosit (WBC), eritrosit (RBC) ve eritrosit dağılım genişliğinde (RDWc) istatistiki olarak bir önem saptanmış ($P \leq 0,001$), diğer parametreler ise istatistiki olarak önemli değildir.

Sağlıklı köpeklerde ve helikobakter gastritisli köpeklerde WBC sırasıyla $8,3 \pm 1,3$ ve $15,34 \pm 6,67$ ($p \leq 0.001$), RBC sırasıyla $6,08 \pm 1,17$ ve $5,13 \pm 1,27$ ($P \leq 0,001$), RDWc ise sırasıyla $19,93 \pm 4,7$ ve $25,6 \pm 3,55$ ($P \leq 0.001$) olarak saptanmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. Çalışmaya alınan köpeklerde hematolojik değerleri dağılımı ve önem derecesi.

Kan sayımı parametreleri ve Birimleri	Sağlıklı köpek (n=41)	Hasta köpek (n=32)	Tedavi grubu (n=32)
WBC (10 ³ µl)	8,3±1,3 ^b	15,34±6,67 ^a	7,6±2,4 ^b
LYM (10 ³ µl)	2,42±1,64 ^a	3,93±1,77 ^a	3,42±1,36 ^a
MONO (10 ³ µl)	0,44±0,27 ^a	0,5±0,35 ^a	0,49±0,1 ^a
GRAN(10 ³ µl)	8,22±2,9 ^a	8,2±3,6 ^a	7,2±1,6 ^a
LYM (%)	20,78±8,66 ^a	20,92±13,82 ^a	20,41±7,1 ^a
MONO (%)	4,48±1,43 ^a	3,93±2,19 ^a	3,22±0,9 ^a
GRAN (%)	68,46±23,96 ^a	71,27±20,68 ^a	66,21±14,6 ^a
RBC (10 ⁶ µl)	6,08±1,17 ^a	5,13±1,27 ^b	5,77±0,8 ^b
HGB (g/dl)	14,09±2,44 ^a	13,34±4,28 ^a	13,71±2,94 ^a
HCT (%)	39,58±4,92 ^a	40,49±10,26 ^a	34±2,62 ^a
MCV (fl)	66,84±6,47 ^a	65,96±9,88 ^a	64,21±9,88 ^a
MCH (pg)	26,27±12,77 ^a	30,62±15,82 ^a	28,1±10 ^a
MCHC (g/dl)	36,31±8,82 ^a	36,21±8,21 ^a	36,9±9,2 ^a
RDWc (%)	19,93±4,7 ^b	25,6±3,55 ^a	21,2±2,4 ^b
PLT (10 ³ µl)	414,52±166,24 ^a	405,24±191,26 ^a	366,3±117,2 ^a
PCT (%)	0,42±0,12 ^a	0,38±0,19 ^a	0,22±0,16 ^a
MPV (fl)	9,46±1,39 ^a	8,94±1,68 ^a	8,44±1,2 ^a
PDWc (%)	38,6±4,7 ^a	39,06±4,72 ^a	38,64±3,2 ^a

* Farklı harf taşıyan gruplar kendi arasında önemlidir. (P<=0,001)

Çalışmamızda, klinik olarak hasta köpeklerden (n=32) ve sağlıklı köpeklerden (n=41) elde ettiğimiz serum biyokimyasal değerler Tablo 6'da gösterilmiştir. Bu iki grup arasında üre, kreatinin, ALT ve AST serum enzimleri ile ilgili istatistiksel açıdan herhangi bir önem saptanamamıştır (Tablo 6).

Tablo 6. Çalışmaya alınan köpeklerde Üre, Kreatinin, ALT ve AST değerleri

Serum Biyokimyasal Parametreler	Sağlıklı köpek (n=41)	Hasta köpek (n=32)
Üre	39,22±8,32	43,17±12,8
Kreatinin	0,9±0,4	1±0,2
ALT	32,8±4,9	44,6±10,8
AST	37,4±9,9	52,3±12,73

4.2. C¹⁴-Üre Nefes Testi:

Çalışmaya aldığımız köpeklerden sağlıklı (n=41), hasta köpeklerde (n=32) ve tedavi grubu (n=32) olan köpeklerde üre nefes testi ile elde ettiğimiz değerler Tablo 7'de gösterilmiştir. C¹⁴ izotopunun toplamı olan d değeri, d1 (alt ped) ve d2'de (üst ped) toplanan değerler sağlıklı ve hasta köpeklerde sırasıyla 28,03±10,95cpm ve 109±163cpm (P<=0,001) olarak belirlenmiştir. d1 ve d2 parametreleri için gruplar arası istatistiksel bir karşılaştırma yapılmamıştır.

Tablo 7. Çalışmada uygulanan C¹⁴-ÜNT yöntemi ile elde edilen d, d1 ve d2 değer dağılımları.

C ¹⁴ izotopunun değerleri (cpm)	Sağlıklı köpek (n=41)	Hasta köpek (n=32)	Tedavi grubu (n=32)
d1	15,03±7,54	108,7±92,27	21,2±10,2
d2	13±5,29	1±0,2	8,4±7,9
d	28,03±10,95 ^b	109±163 ^a	30,2±4,1 ^b

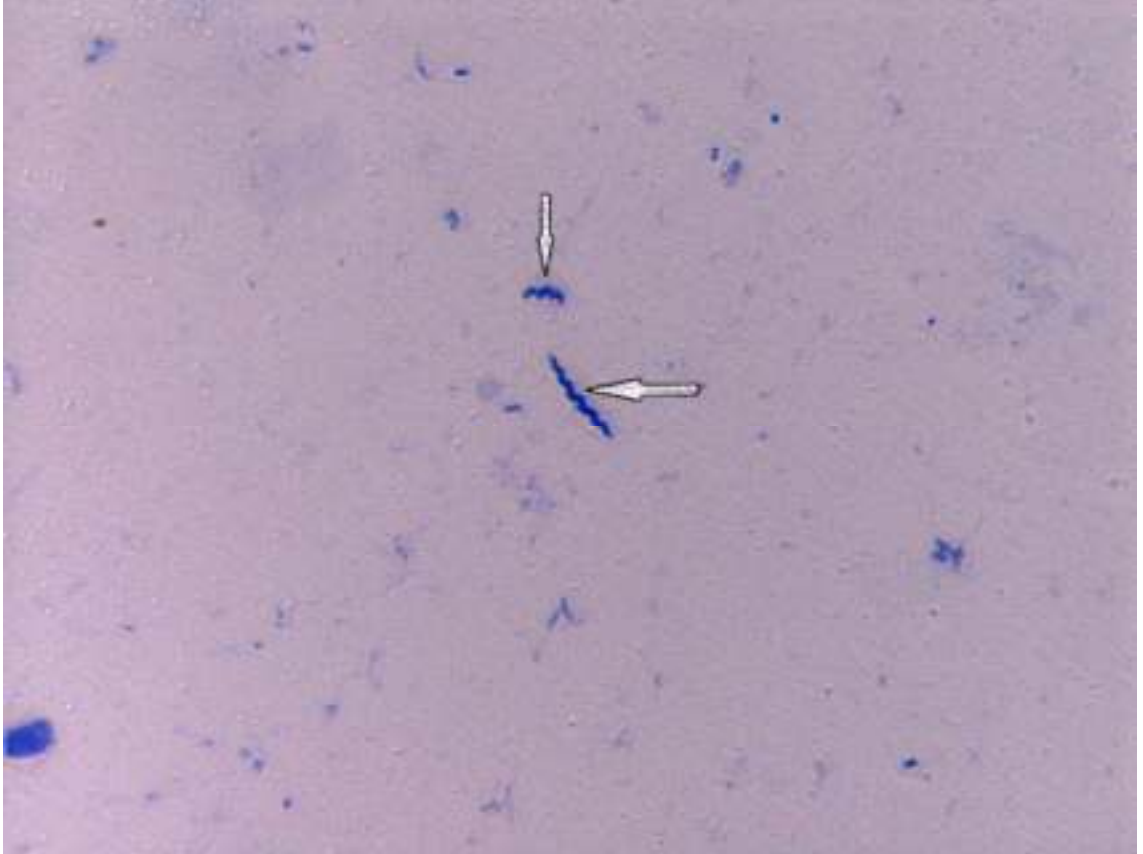
* Farklı harf taşıyan gruplar kendi arasında önemlidir. (P<=0,001)

4.3. Gastroskopik Muayene:

Çalışmamızda yöntemine uygun şekilde yapılan gastroskopik muayene ile hasta hayvanların (n=32) tamamında mide mukozasında hiperemi ve ödem (eritamatöz yangı) gözlemlendi. İki vakada ise ülser tesbit edildi.

4.4. Diff-Quick Boyama:

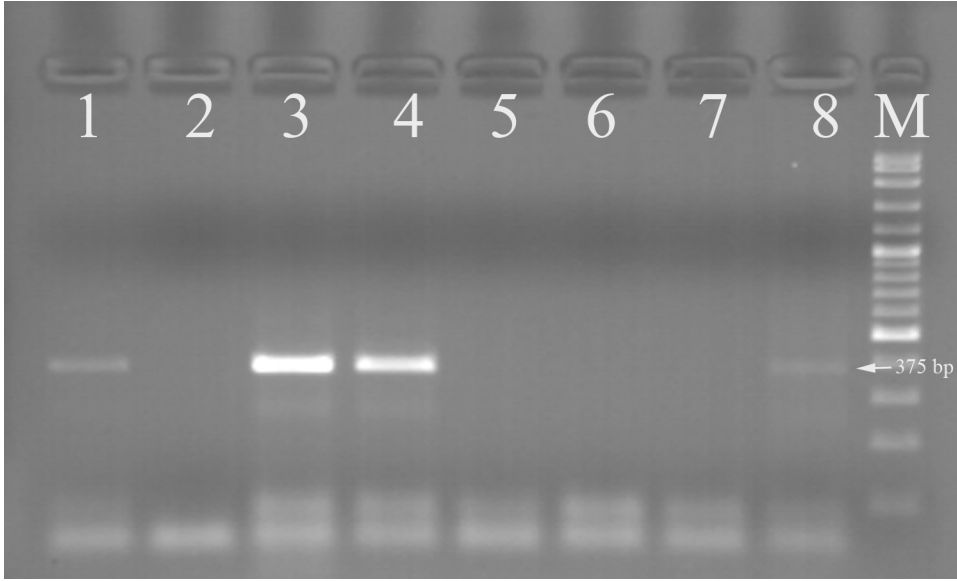
Hayvanların klinik muayene bulgularına göre Helikobakter gastritisli olduğu düşünülen 32 köpekten diff quick boyama yöntemi ile 22 hayvanda pozitiflik saptandı (Şekil 2).



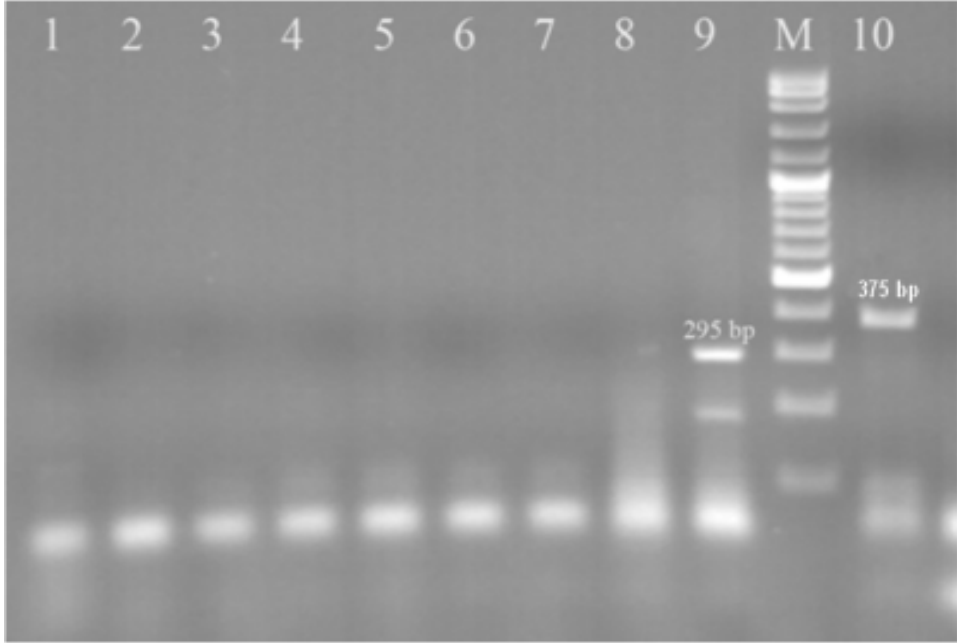
Şekil 2. Gastroskopik fırçalama aracılığıyla alınan mide mukoza ve sıvısının, Diff-quick boyama yöntemi ile boyanarak elde edilen sürüntü numunelerinde *Helikobakter*'lerin 40X büyütmede mikroskopik görüntüsü (Oklar).

4.5. PZR Analizi:

Klinik olarak hasta 32 köpekten 29 tanesi PZR ile *Helicobacter spp.* pozitif bulunurken bunlardan 3 tanesi *H. heilmanni* türü olarak belirlendi. *H. felis* ve *H. Bizzozeronii* ise tespit edilmedi (Tablo 8). Tür spesifik PZR elektroforez görüntüleri Şekil 3 ve 4’de gösterilmiştir.



Şekil 3. Cins spesifik PZR sonucu. M: marker; 1, 3, 4 ve 8 no’lu örnekler pozitif, diğerleri negatif



Şekil 4. *H. pylori* spesifik PZR sonucu. M: marker; 1-8 no’lu örnekler negatif, 9 no’lu örnek pozitif kontrol DNA, 10 no’lu örnek *Helikobakter* cins spesifik PZR kontrolü.

Tablo 8. Enfekte köpeklerde helikobakter türlerinin dağılımı.

Helikobakter türleri	Hasta hayvan sayısı (n)
<i>Helicobacter spp.</i> (+)	29
<i>H. pylori</i> (+)	-
<i>H. heilmanni</i> (+)	3
<i>H. felis</i> (+)	-
<i>H. bizzozeronii</i> (+)	-

4.6. PZR Analizi, C¹⁴-ÜNT ve Diff Quick Boyama Yöntemlerinin Karşılaştırılması:

Tablo 9'daki verilere göre, Odd's Ratio analizinin yanlış teşhis koymadaki riski değerlendiren Eklemeli Risk analizinde, kullanılan yöntem olarak klinik bulguyu altın standart olarak baz aldığımızda, klinik bulguya göre teşhis koyma, Diff Quick Boyama yönteminden 18,51 kat, PZR'dan 600 kat ve C¹⁴-ÜNT'den ise 1204 kat daha az güvenlidir. Helikobakter teşhisinde kullanılan yöntemleri kendi arasında değerlendirdiğimizde; Diff-quick yöntemi ile teşhis yöntemi, PZR ile teşhis yönteminden 32,41 (18,51 /600) kat ve C¹⁴-ÜNT'den 65,05 (18,51 /1204) kat, PZR ile teşhis yöntemi C¹⁴-ÜNT ile teşhis yönteminden 2 (600/1204) kat daha az güvenli bir yöntem olarak bulunmuştur.

Tablo 9. Çalışmada uygulanan tanı yöntemlerinin Frekans (%), Odd's Ratio's , $\chi^2_{sd=1}$ ve P değer dağılımları.

Yöntem	Frekans (%)		Eklemeli Risk	Relatif Risk		$\chi^2_{sd=1}$	P Değeri
	Helikobakter (-)	Helikobakter (+)		Helikobakter (-)	Helikobakter (+)		
Klinik Bulgu	41 (60.27)	32 (39.73)	-	-	-	-	-
Diff-quick Boyama	51 (69.86)	22 (30.14)	18.51	5.46±0.04	1.88±0.01	23.13	0.001
PZR	44 (60.27)	29 (39.73)	600	28.34±0.02	4.12±0.03	64.88	0.001
C¹⁴-ÜNT	42 (57.53)	31 (42.47)	1204	29.52±0.04	4.28±0.01	61.33	0.001

Odd's Ratio analizinin Relatif Risk analizinde, yine klinik bulguyu altın standart olarak aldığımızda Helikobakter boyama yöntemindeki relatif risk (yanılma payı ya da hata yapma olasılığı) kendi arasında 2,9 (5,46/1,88) kat daha fazla güvenilirken, PZR ile teşhis koymada relatif risk 6.88 (28,34/4,12) kat daha güvenilir ve C¹⁴ -ÜNT ise kendi arasında 6,9 (29,52/4,28) kat daha güvenilir olarak çalışmamızda belirlenmiştir.

Tablo 9'da görüldüğü üzere $\chi^2_{sd=1}$ olduğunda klinik bulgu 23,13 ve P değeri önemlilik arz etmektedir (P<=0,001). Aynı şekilde PZR ve C¹⁴ -ÜNT'de bu değer sırasıyla 64,88 ve 61,33 olarak bulunmuştur ve aynı şekilde P değeri önemlilik arz etmektedir (P<=0,001).

Tablo 10. Çalışmada uygulanan yöntemlerin Frekans (n), Sensitivite, Spesivite ve Q değeri dağılımları.

Yöntem	Frekans (n)		Sensitivite (%)	Spesivite (%)	Q değeri (1-Spesivite) (%)
	Helikobakter (-)	Helikobakter (+)			
Klinik Bulgu	41	32	-	-	-
Diff-quick Boyama	51	22	59,38	92,68	7,32
PZR	44	29	93,75	97,56	6,25
C ¹⁴ -ÜNT	42	31	96,55	97,73	3,45

Tablo 10’da yer alan sensitivite ve spesivite analizinde; hasta olmayan bir hayvanı belirleme hassasiyeti (gerçek tanı) olan sensitivite analizinde C¹⁴-ÜNT yöntemi ile Helikobakter teşhisi %96,55 ile en duyarlı teşhis yöntemi olarak bulunurken, bunu PZR %93,75 ve Helikobakter boyama yöntemi %59,38 takip etmiştir. Spesivite analizinde, C¹⁴-ÜNT Helikobakter teşhis yöntemi ile %97,73 oranı ile en iyi oran olarak bulunurken, PZR ve Diff-quick boyamada bu oran sırasıyla %97,56 ve %92,68 olarak bulunmuştur.

Q değeri ise, (1-Spesivite) değeri olarak ve hasta olan bir hayvanın doğru teşhis edilememesi yani yanlış teşhis riskini tanımlamaktadır. Bir sayı değeri olarak baz alındığında, analizlerde bir sayısına yakın olan değerlerde yanlış teşhis koyma riski azalmaktadır. Buna göre C¹⁴-ÜNT yöntemi 3,45’lik değeri ile yanlış teşhis koyma riskinde PZR ve Diff-quick boyama yöntemlerine göre en güvenilir yöntem olarak görülmektedir. PZR yöntemi ise 6,25’lik değeri ile Diff-quick boyama yöntemindeki 7,32’lik değere göre bire daha yakın olduğundan PZR yöntemi, Diff-quick boyama yöntemine göre daha güvenilir bir yöntem olarak görülmektedir.

Klinik bulguya göre teşhis koyma standart olarak kabul edildiğinde, Tablo 9 ve 10'daki frekans sayı ve oranlarına göre (hasta ve hasta olmayan hayvanların sayı ve oranları klinik bulguya göre hasta olmayanların sayısı 41 (%60,27) hasta olan hayvanların sayısı 32 (%39,73) hayvan olduğu görülmektedir. C¹⁴-ÜNT tanı yöntemi bu orana en yakın değer olan 42 (%60,20) hasta olmayan hayvanla ve 31 (%39,80) hasta olan hayvanla diğer yöntemlere göre daha fazla duyarlılık göstermektedir.

Yani C¹⁴-ÜNT tanı yöntemi ile 1 hayvan hasta olarak değerlendirilip (sağlıklı gruptan hasta gruba katılmış) yanlışlıkla tedavi edilmiştir. Bu oran PZR'da 3 hayvan (44, %57,73) sağlıklı ve (29, %42,47) hasta olan hayvan olarak belirlenmiştir. Yani PZR ile teşhiste 3 hayvanda yanlış pozitiflik elde edilmiştir. Helikobakter boyama teşhis yöntemiyle ise 51 (%69,86) sağlıklı ve 22 (%18,51) hasta olan hayvan belirlenmiştir. Helikobakter boyama yöntemi ile klinik bulgusu Helikobakter gastritisi gösteren 32, PZR ile 29 ve C¹⁴-ÜNT ile 31 hayvandan ancak 22 tanesi belirlenebilmiştir. Tablo 9 ve Tablo 10'daki bütün veriler, istatistik açıdan önem arz etmektedir.

5.TARTIŞMA:

Hayvanların midelerinde spiral yapıdaki mikroorganizmalar ilk kez 19. yüzyıl sonlarında Rappin ve ark. (1881) tarafından bulunmuştur. Daha sonraları, Bizzozero tarafından 1893 yılında, gastrik bezlerde ve kanallarda inhibisyon yapabilen bir tür bakteri bulmuştur. Salomon ise bu yapıdaki mikroorganizmaları kedi ve ratların midelerinde bulmuştur (Güneş, 2008).

Kampilobakter olarak sınıflandırılan spiral şekilli bu mikroorganizmalar 1998 yılında Owen tarafından *Helicobacter* olarak tanımlanmıştır. Marshall ve Warren (Humphryes ve ark., 1988) tarafından 1983 yılında insan mide mukozasında *H.pylori* izole edilmiştir. Yine 1984 yılında Langenberg (Leunk ve ark., 1988) tarafından bu mikroorganizmaların üreaz salgıladığı ortaya konulmuştur. Köpeklerde helikobakter enfeksiyonlarının tespitinde, fiziksel muayene, radyografi, gastroskopi ve histopatoloji metotları kullanılmasına karşın tutarlı sonuçlar bulunamadığından, çoğu kez biyopsi alınımının gerekli olduğu bildirilmiştir (Güneş, 2008; Güzelbektaş, 2004; Simpson, 2005).

Helikobakter enfeksiyonunu tanımlamada invaziv girişim (endoskopi) gerektiren hızlı üreaz testi, histoloji, kültür, PZR'ye dayanan testler ve mide dokusunun faz kontrast mikroskopisi gibi incelemeler ve invaziv olmayan seroloji, 13C ve 14C ÜNT, Helikobakter dışkı antijen testi (HpSA) gibi çeşitli yöntemlerden yararlanılmaktadır (Gramley ve ark., 1999).

Helikobakter türlerinin etken olduğu enfeksiyonların tanısında kullanılan non-invaziv yöntemlerinin başında ÜNT ve serolojik testler gelmektedir. Ayrıca, dışkı, ağız içi sekresyonları gibi örneklerden moleküler yöntemler kullanılarak da Helikobakter varlığı araştırılabilmektedir (Kabir, 2004).

Helikobakter enfeksiyonlarının tanısında non-invaziv testlerden biri olarak kabul edilen üre nefes testi, endoskopi yapılmaksızın Helikobakter enfeksiyonunun direkt taranmasını mümkün kılmakta hem tedavi edilmemiş hastalarda aktif enfeksiyonun

başlangıç tanısında hem de tedaviden sonraki dönemlerde bile tedavinin etkinliğini takipte kullanılabilen duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksek bir testtir (Graham ve ark., 2002).

Helikobakter enfeksiyonlarının tanısında kullanılan ve bakteriye özgü 16S ribozomal RNA'nın amplifiye edilmesine dayanan Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemi ise yaygın şekilde kullanılmaktadır (Altındış, 2003). Diğer taraftan ise hastalık etkeni mikroorganizmanın tanınmasında kullanılan en yaygın moleküler yöntem olarak kabul edilmektedir (Lim ve ark., 2003).

Endoskopi işlemine gereksinim duyulan invaziv tanı yöntemleri arasında histolojik inceleme, bakteriyolojik kültür, PCR ve hızlı üreaz testi sayılabilir. Her iki grup tanı yönteminin her birinin uygulama, hasta seçimi, sonuç alma süresi ve maliyetleri açısından avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Mikrobiyolojik kültür, özellikle ilaç direncinin yüksek olduğu durumlarda antimikrobiyal direnç paternlerinin gösterilmesi amacıyla tercih nedeni olabilmektedir (Huynh, 2005).

Gisbert ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada biyopsi temelli metotların Helikobakter tayini için kullanılan teşhis yöntemleri içinde invaziv özelliğinin fazla olduğu ve bununla birlikte, biyopsi esnasında alınan örnekleri üst mide bölümünde kanamalara neden olabilmesi açısından biyopsi temelli metotların yüksek oranlarda yanlış pozitifliğe neden olabildiğini belirtilmiştir. Chisholm ve ark. (2003), Güneş (2008), çalışmalarında, tanı yöntemleri içinde mikroskobik metotların yeterince hassas olmaması, ortamda bulunan bakteri sayısının az olmasından ileri geldiğini bildirmektedir.

Helikobakter enfeksiyonları köpek ırkları açısından incelendiğinde, çalışmamızda hastalık ile köpek ırkları açısından bir önem arz etmediği görülmektedir. Kırmızı köpeklerin ve sokak köpeklerinin bu hastalıktan daha çok muzdarip oldukları, evde bakılan safkan köpeklerin ise bu hastalığa daha az yakalandıkları sonucuna ulaşılmaktadır (Tablo 1). Çalışmamızdaki 32 klinik olarak helikobakter enfeksiyonlu

köpekten 18'sinin ev yemeği yediği, 10'unun hem ev yemeği hem kuru mama yediği, 4'ünün ise sadece kuru mama yediği görülmektedir (Tablo 2).

Köpeklere ev yemeği vermenin, onların beslenme şekillerine uymamasından dolayı mide hastalıklarına karşı yatkınlıklarını arttıracakları çalışmamızda görebilmekteyiz. Aynı şekilde ticari mamaların köpek mide asit kompozisyonunu bozmamasından dolayı köpek beslenmesinde olduğu kadar mide hastalıklarının önlenmesinde de önemli bir yeri olduğunu da düşünmekteyiz.

Çalışmamızda tam kan sayımı analizlerinde, sağlıklı köpeklerden alınan örneklerde lökosit ortalama değer açısından $8,3 \pm 1,3 \times 10^3 \mu\text{l}$ olurken, helikobakter gastritisi saptanan köpeklerden alınan lökosit ortalama değer $15,34 \pm 6,67 \times 10^3 \mu\text{l}$ olmaktadır ($P \leq 0,001$). Tam kan sayımı analizlerinde sağlıklı köpeklerdeki eritrositin ortalama değeri $6,08 \pm 1,17 \times 10^6 \mu\text{l}$ civarında seyrederken, helikobakter gastritisi saptanan köpeklerdeki bu ortalama değer $5,13 \pm 1,27 \times 10^6 \mu\text{l}$ olarak saptanmıştır ($P \leq 0,001$). Bu durum, eritrosit dağılım genişliğinde ise sağlıklı köpeklerde $19,93 \pm 4,70(\%)$ değerlerinde bulunmuşken, Helikobakter gastritisi saptanan köpeklerde $25,6 \pm 3,55(\%)$ değerlerinde bulunmuştur (Tablo 5).

Bununla birlikte Noyan ve ark. (2013), helikobakter enfeksiyonunun insanlarda hematolojik değerler üzerindeki etkilerini araştırdığı çalışmalarında, benzer şekilde yapılan tam kan sayımı analizlerindeki lökosit ortalama değerinde artış belirlenmiş, aynı şekilde Choi ve ark. (2006) 40 örnekte yaptıkları çalışmada ise köpeklerde Helikobakter varlığında lökosit ortalama değer artışı olduğu belirtilmiştir.

Jennifer ve ark. (2011), 34 kedi ve köpek üzerinde yaptıkları bir çalışmada vitamin B12 ve demir eksikliğine bağlı olarak helikobakter türlerinin eritrosit sayısında azalmaya ve eritrosit dağılım genişliğinde artışa neden olabileceğini belirtmişlerdir.

Sağlıklı köpeklerden elde ettiğimiz serum biyokimyasal ortalama değerlerden üre $39,22 \pm 8,32$ mg/dl, kreatinin $0,9 \pm 0,4$ mg/dl, ALT $32,8 \pm 4,9$ u/l, AST $37,4 \pm 9,9$ u/l değerlerini alırken, Helikobakter gastritisli köpeklerden elde ettiğimiz serum

biyokimyasal değerlerden üre $43.17 \pm 12,8$ mg/dl, kreatinin $1 \pm 0,2$ mg/dl, ALT $44,6 \pm 10,8$ u/l, AST $52,3 \pm 12,73$ u/l değerlerinde olması çalışmada kullanılan üre, kreatinin, ALT, AST serum enzim değerleri ile ilgili istatistiki açıdan herhangi bir önem saptanamamıştır (Tablo 6).

Tablo 9'daki verilere göre, Odd's Ratio analizinin yanlış teşhis koymadaki riski değerlendiren Relatif Risk analizinde, kullanılan yöntem olarak klinik bulguyu baz aldığımızda klinik bulguya göre teşhis koymada C¹⁴-ÜNT yöntemi ile bulduğumuz Relatif Risk ortalama değer analiz sonucu ise $29,52 \pm 0,04$ ve $4,28 \pm 0,01$ oranlarında bulunmasına karşın; Lee ve ark. (1996), (n=32) örnekten yaptıkları çalışmada Relatif Risk analiz oranları Odd's Ratio ortalaması olarak 36 ve 5 oranlarında bulunmuştur.

Çalışmamızda PZR yöntemi ile bulduğumuz Relatif Risk ortalama değer olarak $28,34 \pm 0,02$ ve $4,12 \pm 0,03$ bulunmuş, Hwang ve ark. (2002), (n=23) örnekten yaptıkları çalışmada ise bu ortalama değeri 19,3 ve 6,118 oranlarında bulmuşlardır.

Son olarak helikobakter Diff quick boyama yöntemi Odd's Ratio analizindeki Relatif Risk ortalama değerleri çalışmamızda $1,88 \pm 0,01$ ve $5,46 \pm 0,04$ oranlarında bulunmasına karşın; Eslick ve ark. (1999), tarafından yapılan çalışmada helikobakter türleri araştırılan 42 örnekte 1,68 ve 2,46 oranlarında bildirmiştir.

Kullandığımız C¹⁴-ÜNT, PZR ve Diff quick teşhis yöntemlerinden Odd's Ratio analizindeki Relatif Risk analiz sonuçlarıyla diğer araştırmacıların analiz sonuçlarının ortalama değerleri paralellik göstermektedir. Tablo 9'da görüldüğü üzere $\chi^2_{sd=1}$ olduğunda klinik bulgu 23,13 ve P değeri önemlilik arz etmektedir ($P \leq 0,001$). Aynı şekilde PZR ve C¹⁴-ÜNT'de bu değer sırasıyla 64,88 ve 61,33 olarak bulunup aynı şekilde P değeri önemlilik arz etmektedir ($P \leq 0,001$).

Çalışmaya aldığımız köpeklerden sağlıklı (n=41), helikobakter gastritisli köpeklerde (n=32) C¹⁴-ÜNT ve tedavi grubu (n=32) ile elde ettiğimiz değerler Tablo 7'de gösterildi. d1 (alt ped) ve d2 (üst ped) toplanan C¹⁴ izotopunun toplamı olan d değeri sağlıklı ve helikobakter gastritisli köpeklerde sırasıyla $28,03 \pm 10,95$ cpm ve 209 ± 163 cpm

($P \leq 0,001$) olarak belirlendi. Elde ettiğimiz bu sonuçlar, Jonaitis ark. (2007), (n=108) örnekte yaptıkları çalışmada spiral bakteri varlığının tespiti için $35,02 \pm 5,15$ cpm ve 220 ± 82 cpm ($P \leq 0,001$) olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz değerler ile Jonaitis ark. (2007), bildirdiği değerler paralellik arz etmektedir.

Tablo 8' de görüldüğü gibi çalışmamızda tür spesifik PZR analizleri yapılmış ve klinik olarak hasta olan 32 köpekten, 29 tanesinde *Helicobacter* spp. 3 tanesinde *H. heillmani* türü tespit edilmiştir. Hwang ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada *Helicobacter* spp. olarak tespit edilen 21 köpeğin yanında, *Helicobacter heillmannii* türüne sahip 2 köpek bildirilmiştir.

Bunun yanında, O'Rourke ve ark. (2004), (n=26) yaptıkları çalışmada hem kedi hem de köpek mide mukozasından aldıkları örneklerden tespit ettikleri *Helicobacter* spp. dışında *H. felis*'i de her iki karnivorun midelerinde tespit etmiştir. Aynı zamanda Eaton ve ark. (1996), (n=54) örnekte yaptıkları çalışmalarında hasta olan köpeklerden alınan mide mukoza örneklerinden de *H. felis* tespit etmiştir.

H. pylori'nin köpeklerde taşıyıcı formda olmadığı ve bu yüzden yapılan araştırmaların çoğunda köpeklerin midelerinde rastlanılmadığına kanaat getirilmiştir (Güneş ve ark., 2008; Hermanns ve ark., 1995; Neiger ve ark., 1999).

Buczolits ve ark. (2003), (n=54) yaptıkları çalışmalarda, köpeklerin midesindeki ortamın, *H. pylori*'nin kokoid forma dönüştürmesi yüzünden kültürünün mümkün olmadığı belirtilmiştir. Biz de tür spesifik PZR ile yaptığımız çalışmamızda, araştırmacıların çalışmalarına paralel olarak *H. pylori*'ye rastlamadık.

Andersen ve ark. (1998), Öztürk ve ark. (2003), çalışmalarında *H. pylori*'nin gastrik mukozada yamalı dağılım göstermesi ve histolojik muayenenin yüksek oranda patolog deneyimine bağlı olması gibi nedenlerden dolayı biyopsiye dayalı testlerin doğruluğunu etkileyebileceği belirtilmişlerdir. Bu yüzden biyopsiye dayalı testler çoğunlukla altın standart kabul edildiğinden dolayı, serolojik testler veya C^{14} -ÜNT ile

yanlış pozitif olduğu düşünölen test sonuçları, gerçekte; histolojik inceleme sonuçları ile ortaya konamayan *H. pylori* enfeksiyonlarını göstermektedir.

Bu çalışmada spiral bakteri varlığının teşhisinde kullanılan C¹⁴-ÜNT ve PZR gibi yöntemlerinin yanında Diff-quick boyama yöntemi kullanılmıştır. Gastroskopik muayene sırasında fırçalama yöntemiyle elde edilen örneklerden Diff-quick boyama yapılmış ve elde edilen bulgular ışığında spiral bakteri varlığının teşhisi için başvuru olan bu yöntemin duyarlılığı çalışmamızda %59,38 olarak saptanmıştır.

Bu çalışmaya paralellik göstermesi açısından önem arz edebilecek çalışmalarda, Castiglioni ve ark. (2012), Diff-quick boyama yöntemindeki duyarlılığı boyama için alınan (n=27) örneğin yeri açısından farklılıklar gösterdiğini ve Helikobakter boyama yönteminin duyarlılığını %52 ile % 85 arasında seyredebildiğini belirtmiştir.

Bununla beraber, Tzeng ve ark. (2005), (n=47) yaptıkları çalışmalarda spiral bakteri varlığının helikobakter boyama yöntemiyle belirlenmesinde ve duyarlılık açısından kayda değer bir düzeyde olabilmesi için kullanılan fırçalama yöntemiyle alınan örneklerin midenin prepilorik antrum bölgesinden olması teşhis duyarlılığı açısından önem arz etmektedir. Mikroskobik incelemelerde tipik bakteriler görülür. Ancak burada dikkat edilmesi gereken konu, etkenin genellikle yaygın değil de fokal şekilde ürediğı için, mide biyopsisi ve mide sıvısı örneklerinde saptanamaması, her zaman için negatif olarak değerlendirilmemeli ve doğrulanmalıdır (Sandıkçı, 1996).

Sütö ve ark. (2000), (n=51) çalışmalarında midenin rastgele bölgesinde aldıkları numunelerin C¹⁴ -ÜNT göre yanlış pozitiflikler verdiğini, Tzeng ve ark. (2005), (n=47) ise PZR ile yanlış pozitifliklerin önüne geçmek için numunelerin midenin prepilorik antrum bölgesinden alınması gerektiğini çalışmalarında belirtmişlerdir. Biz de çalışmamızda Helikobakter gastritisi semptomları gösteren köpeklerin teşhisinde kullandığımız PZR analizi için yanlış pozitiflikleri engellemek için (Tzeng ve ark., 2005) yaptıkları çalışmaya benzer bir şekilde midenin preplorik antrum bölgesinden numuneleri aldık.

Çalışmamızda hasta olduğu belirlenen (n=32) hayvanlar tedavi grubuna alınıp, 1 hafta süreyle amoksisilin 20 mg/kg ve omeprazol 0,75 mg/kg eşliğinde tedavi yöntemi kullanıldı. Antiasit ve antimikrobiyel ajanlar eşliğinde kullandığımız bu tedavi protokolü tedavi grubundan aldığımız ÜNT ve tam kan sayımı analizlerini gözönüne aldığımızda etkin bir yöntem olarak gösterilebilmektedir.

Helikobakter enfeksiyonlarının tedavisinde asit supresyonu ile birlikte antimikrobiyel tedavi protokolü birinci sırada gösterilmektedir (Graham, 2010). Bununla birlikte, Gatta ve ark., 2009 yılında 12 örnekte yaptıkları çalışmada antibiyotiklerin, luminal asiditeden etkilenmemeleri için etkin bir asit inhibitörü ile birlikte verilmesi gerektiğini ve bundan dolayı bu tedavide beş günlük standart bir ikili bir proton pompası inhibitörü (PPI) ile amoksisillin, hemen ardından yine beş günlük bir üçlü yine bir PPI ile klatromisin ve metranidazol grubu antibiyotiklerin kullanımı gerekliliğini öne sürmüştür.

Sonuç olarak kullanılan tedavi analizinde bu protokollerce uygulanan yeni tedavi yöntemiyle çalışmamızdaki tedavi protokolünde paralellik göstermiş, iyileştirme oranın ortalama %93 olduğu ortaya konulmuştur. Simpson ve ark. (1999), (n=78) ile Leib ve ark. (2007), (n=75) yaptıkları çalışmalarda insanlarda Helikobakter enfeksiyonlarında görülen gastrik asit sekresyonundaki aksisteki bozulmanın köpeklerdeki Helikobakter enfeksiyonlarında gözlenmediği bildirilmektedir. Bununla birlikte çalışmamızda kullandığımız tedavi protokolünden farklı olarak *Helicobacter* spp. olan köpeklerde asit supresyonun tedavideki etkinliğinin araştırmış ve köpeklerde antibiyotik kombinasyonlarına ek, asit supresyonu için kullanılan ilaçların tedavideki etkinliklerinin insanlardakinin aksine faydalı olmadığını ve bizmut türevlerinin tedaviye dâhil edilmesinin gerekliliği ortaya koymuştur.

Çalışmamızda kullandığımız köpeklerde (n=73), helikobakter pozitifliğinin elde edilmesinde PZR yöntemi ile bulduğumuz %93,75'lük duyarlılığının yanında, Eaton ve ark. (1996), 54 köpekte kullandığı PZR yöntemi ile *Helicobacter* spp. ve *H. felis* bulmuş ve çalışmasındaki PZR duyarlılığını ise %90 oranında bulmuştur.

De Groote ve ark. (2001) ise 21 köpekte kullandığı PZR ile tür bazında *H. felis*, *H. salomonis* ve *H. bizzozeronii* türlerini 3 köpekte tespit etmiş, PZR'ın Helikobakter teşhisindeki duyarlılık oranını ise %95 olarak bulmuştur.

Helikobakter teşhisinde C¹⁴-ÜNT yöntemiyle köpeklerde yaptığımız bu çalışmada elde edilen %96,55 oranındaki duyarlılığının yanında, Kubota ve ark. (2013), (n=38) köpekte yaptığı çalışmada üre nefes testinin Helikobakter teşhisindeki duyarlılığını %89 oranında bulmuştur. Bunun yanısıra Atli ve ark (2012), Helikobakter teşhisinde C¹⁴-ÜNT yöntemini (n=128) insanda araştırmış ve insanlardaki üre nefes testi duyarlılığını % 91,4 olarak bulmuştur.

Çalışmamızda elde ettiğimiz %96,55'lik oranın diğer araştırmacıların elde ettiklerinden daha yüksek olmasının nedeninin bizim çalışmamızda endotrakeal tüp ile diğer akciğer havasını kuru kartuşlara aktarmamız olduğunu düşünmekteyiz. Oysaki Kubota ve ark. (2013), (n=46) yaptıkları çalışmada bunu maske yardımıyla yapmışlardır. Diğer taraftan insanlarda kullanılan yöntemle göre direk spontan olarak hayvanın kullanılan kit içerisine solutturması daha zor olduğundan ve çalışmanın hassasiyetini azaltacağından dolayı, çalışmamızda kullandığımız endotrakeal tüp aracılığıyla direk kuru kartuş içerisine aktarılması çalışmamızdaki bu hassasiyeti arttırmaktadır.

Helikobakter tayini için alınan numunelerden 2 örnekte; C¹⁴-ÜNT testi pozitif olarak elde edilmiştir ve PZR'da bu numunelerin negatif sonucu ile karşılaşmıştır. Bu durum ise endoskopi aracılığıyla PZR için alınan numunelerin belirttiği şekilde midenin prepilorik antrum bölgesinden alınmaması sonucunda oluştuğu düşünülmektedir (Tzeng ve ark., 2005). Aynı şekilde Peura ve ark. (1996), 128 örnekte bildirdiği şekilde orofarinks, mide ve ince barsakların üst bölümünde üreaz üreten *H. pylori* dışı bakterilerin üremesi de yanlış pozitif üre nefes testi sonuçlarına katkıda bulunabileğini bildirmektedirler. C¹⁴-ÜNT ile elde edilen bu yanlış pozitifliği rağmen Zotta ve ark. (2008), yaptıkları çalışmaya göre, *Streptococcus thermophilus*, *H. pylori* ile mide mukozasında bulunmakta ve aynı florada bulunabilmesine karşın *H. pylori*'nin üreaz

aktivitesinin baskın olması ve yoğunluğun florada en yaygın halde bulunması üre nefes testi sonuçları açısından pozitifliği arttırmaktadır.

C¹⁴-ÜNT, *H. pylori* enfeksiyonu teşhisinde yüksek oranda doğruluk taşıdığı çalışmamızda belirlenmiş olup (Tablo.10), çalışmamıza paralel olarak, Raju ve ark. (1994), yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri verilerle *H. pylori* enfeksiyonu teşhisinde kullanılan yöntemlerden biri olan C¹⁴-ÜNT'nin diğer teşhis yöntemleri karşısında pozitif sonuç verme oranının yüksek olduğu belirtilmiştir. Hasta olmayan bir hayvanı belirleme yani spiral bakteri aktivitesinin olup olmadığını ortaya koymak için yapılan analizlerde, C¹⁴ ÜNT yöntemi ile teşhis %96,55, PZR yöntemi %93,75 ve Helikobakter boyama yöntemi ile teşhis ise %59,38 oranlarında duyarlı bulundu (Tablo 10).

Karnivorlarda *Helicobacter spp.* tayini için kullanılan non-invaziv yöntemlerin başında gelen C¹⁴-ÜNT, tür tayininden önce spiral bakteri varlığının belirlenmesinde bu çalışmada elde edilen üre nefes testi duyarlılık oranı çalışmamızda %96,55 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, Wong ve ark. (2001), (n=68) yaptıkları çalışmada bu oran %94,5, Vaira ve ark. (2007), (n=85) yaptıkları çalışmalarda ise %95-97 arasındaki oranlarda seyretmektedir. Çalışmamızda epigastrik ağrı ve kusma gibi gastritis semptomları gösteren köpeklerdeki spiral bakteri varlığının teşhisinde kullanılan üre nefes testi, PZR ve Diff quick boyama yöntemleri kendi aralarında değerlendirildiğinde, üre nefes testi helikobakter boyama yöntemine göre 65 kat daha güvenli olması, PZR analiz yöntemine göre ise 2 kat daha güvenli olması ve non-invaziv yöntem olması teşhis için kullanılan yöntemler arasında tercihen uygunluğu arttırmaktadır (Tablo 9). Buna benzer şekilde, (Jonaitis ve ark., 2007; Kopanski ve ark., 2002) yaptıkları çalışmalarda üre nefes testinin Helikobakter tayini için kullanılan diğer yöntemlere göre duyarlılığı yüksek, non-invaziv olduğu bildirilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER:

Köpeklerdeki spiral bakteri varlığının teşhisinde kullanılan ÜNT, PZR ve Diff-quick boyama yöntemleri kendi aralarında değerlendirildiğinde, C¹⁴ ÜNT, Diff-quick boyama yöntemine göre 65 kat daha güvenli olması, PZR analiz yöntemine göre ise 2 kat daha güvenli olması ve non-invaziv yöntem olması teşhis için kullanılan yöntemler arasında tercihen uygunluğu arttırmaktadır. Beşeri olarak hazırlanan C¹⁴ Helikobakter üre nefes kuru kartuş sistemine ait kartuşlar anesteziye alınarak entübe edilen köpeklerde entübasyon tüpünün ucuna seloteyp ile bağlanması ve sonrasında 20 dakika bu kartuşun içine solutturulması sonucunda köpeklerde Helikobakter'in varlığı %96,55 sensitivite ve %97,73 spesifite oranında duyarlılık ve özgüllük ile çalışmamızda tespit edildi. Non-invaziv olan bu yöntem serbest veteriner kliniklerinde bile güvenle ve kolaylıkla yapılabilir. Likit Helikobakter tayin kitleri ile yapılamayan Helikobakter tayini C¹⁴ Helikobakter üre nefes kuru kartuş sisteminde kullandığımız bu yöntem ile kolaylıkla yapılabilir. Bu sayede köpeklerde helikobakter enfeksiyonu teşhisi için kullanılan diğer pahalı, uygulaması zor ve laboratuvar şartlarının gerekli olduğu yöntemler yerine, invaziv olmayan bir test ile hastalığın yüksek oranda doğru tesbiti sağlanabileceği belirlenmiştir. Hem köpeklerden hem de onların sahiplerinden C¹⁴ Helikobakter ÜNT kuru kartuş sistemi ile yapılacak araştırmalar ile günümüzde stres hastalığı olarak bilinen helikobakter hastalığının epidemiyolojisi hakkında ayrıntılı bilgilere ulaşılabilir.

7. KAYNAKLAR:

- Akgüç M, Bozdağı M. Helikobakter pilori Enfeksiyonunda CagA ve Gastrik Kanser İlişkisi, Güncel Gastroenteroloji. 2011, 15(2): 87-94
- Aksoy D Y, Aybar M, Özalın E. Evaluation of the *Helicobacter pylori* stool antigen test (HpSA) fort pense he detection of *Helicobacter pylori* infection and comparison with other methods. Hepatogastr. 2003: 50: 1047-1049.
- Akyön Y, *Helicobacter pylori*: Mikrobiyolojik tanı yöntemleri, Hacettepe Tıp Dergisi. 2004: 35 (4) : 182-186.
- Altındış M., Özdemir M. Helicobacter pylori ve Tanısı, The Med. J. Kocatepe. 2003 1: 1-12.
- Andersen L P, Kiilerick S, Pedersen G, Thoreson AC, Jorgensen F, Rath J, Larsen NE, Borup O, Krogfelt K, Scheibel J, Rune S. An analysis of seven different methods to diagnose *Helicobacter pylori* infections. Scand J Gastroenterol 1998; 33 : 24–30.
- Atherthon J, Covacci A. Pathogenic properties of *Helicobacter pylori*. Cur. Opin. in Gastroenterol. 1997: 20-24.
- Atli T. , Arslan B.U. , Yalcin A.E. et all. Comparison of the C14 urea breath test and histopathology in the diagnosis of the helicobacter pylori in the elderly. Journ. of Pak. Medi. Ass. 2012 ; (62) : 1061-1065.
- Aytuğ N, Köpek ve Kedilerin İç hastalıkları Klinik El Kitabı, Medipres Yayınları, 2011. Bağlan P.H, Sarınay E, Ahmed K, Özkan M, Özden A, Turkish isolates of *Helicobacter pylori* belong to the Middle Eastern genotypes. Clin. Microbiol. and Infect. 2006: 97-98.
- Barabino A, *Helicobacter pylori*- Related Iron Deficiency Anemia: A review, 2002: Vol. 7, Issue 2: 71-75.
- Bilgehan H , (1993):Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Barış Yay. Fakülteler Kitabevi, Bornova - İzmir.
- Bingül R, *H.pylori* Micobiyolojisi, 9. Türk Klinik ve Mikrobiyoloji Kongresi, 3-9 Kasım 1999 Antalya, Kongre Kitabı. 51-55.
- Bird N, University of Sheffield, Department of Surgical and Anaesthetic Sciences, Royal Hallamshire Hospital, Application Note. 2001.

- Blaser M.J, *Helicobacter pylori* and other gastric *Helicobacter* species. In: Mandell G.L. Bennett J.E, Dolin R, Mandell, Douglas and Bennet's Principles of Practice of Infections Diseases. Philadelphia: 6th: Churchill Livingstone: 2005: 2557-2567.
- Bonamico M, Strappini P.M, Bonci E, Evaluation of stool antigen test, PCR on oral samples and serology fort pense he non-invasive detection of *Helicobacter pylori* infection inchildren. *Helicobacter*. 2004: 9: 69-76.
- Brooks G.F, Janet S.B, Stephen A.M, Jawetz M. Melinck & Adelberg's Medical Microbiology, 21. Baski, Appleton & Large Connecticut. 1995: 242-243.
- Buczolits S, Reinhard H, Rosengarten R, Busse H. J. PCR-based genetic evidence for occurence of *H.pylori* and novel *Helicobacter* species in the canine gastric mucosa. *Vet. Microbiol.* : 2003: 259-270.
- Castiglioni V, Facchini R V, Mattiello S, Luini M, Gualdi V, Scanziani E, Recordati C. Enterohepatic *Helicobacter* spp. in colonic biopsies of dogs: molecular, histopathological and immunohistochemical investigations. *Veterinary Microbiology*. 2012: 159 (2) : 107-114.
- Chattopadhyoy S, Patra R, Ramamurthy T. et all. Multiplex PCR assay for rapid detection and genotyping of *Helicobacter pylori* directly from biopsy specimens *J. Clin. Microbiol.* 2004: 42: 2821-2824.
- Chey W.D, Murthy U, Toshes P, Carpenter S. The 13C-Urea Blood test accurately Detects *H.pylori* infection: multicenter trial. *Am J. Gastroenterol.* 1999: 94 (6) :1522-25.
- Chiba N, Rao BV, Rademaker JW, et al. Meta-analysis of the efficacy of antibiotic therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1992;87: 1716–1727.
- Chisholm S.A, Owen R.J. Development and application of a novel screening PCR assay for direct detection of *Helicobacter heilmanni* like organisms in human gastric biopsies in Southeast England. *Bacteriology*: 2003: 1-7.

- Choi W J, Shin W J, Son J Y, Seo S D, Park H S. Toxicological study of the hepatotherapeutic herbal formula CGX, in beagle dogs. *World J Gastroenterol* 2006; 12(46): 7497-7502.
- Çiltaş A, Tedaviye Dirençli Hipotroidi hastalarında *Helicobacter pylori* Eradikasyonunun L-Tiroksin Emilimi Üzerine Etkisi, Uzmanlık Tezi, 2007, T.C. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
- Cui G, Koh T.J, Chen D. Overexpression of glycine-extended gastritis inhibits. Parietal cell loss and atrophy in the mouse stomach. *Cancer Res.* 2004:8160-66.
- Das J. C, Paul N, Epidemiology and pathophysiology of *Helicobacter pylori* infection in children, *Indian J. Pediatr.* 2007: 74 (3) : 287-290.
- De Groote D, Haesebrouck F, Van Doorn L.J, Vandamme P, Ducatelle R. Evaluation of a group-specific 16S ribosomal DNA-Based PCR for detection of *Helicobacter bizzozeronii*, *Helicobacter felis* and *Helicobacter salamonis* in fresh and embedded Parafin-embedded gastric biopsy specimens. *J.of Clin. Microbiol.* 2001:1197-1199.
- De Korwin J.D, Advantages and Limitations of diagnostic methods for *H.pylori* infection. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 2003: 27: 380-390.
- Demir T, Turan M, Tekin A, Kırşehir bölgesindeki dispeptik hastalarda *Helicobacter pylori* antijen prevalansı, *Dicle Med. J.* , 2011: 38 (1) : 44-48.
- Dooley C.P, Background and historical Considerations of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Cim. North Am.* 1993: 22(1) : 1-19.
- Dunn B.E, Cohen H, Biaser M. *Helicobacter pylori*. *Clin. Microbiol Res.* 1997 720-741.
- Eaton K.A, Dewhirst F.E, Paster B.J. Prevalence and varieties of *Helicobacter* species In dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. *J.Clin. Microbiol.* 1996: 34 (12) : 3165-3170.
- Erdem B , (1993) : Kanatlardaki Viral hastalıkların Teşhisinde Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR) Kullanılması. Seminer. A.G. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ergür E.N.D. , Farengeal ve Palatin Tonsillerde Hızlı Üreaz Testi ve İmmunohistokimyasal Analiz Yöntemiyle *Helicobacter Pylori* kolonizasyonunun araştırılması. Uzmanlık Tezi. 2006. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi.

- Erlich A H, Gelfand D, Sninsky J. J , (1991): Recent advances in the Polymerase Chain Reaction. *Science*. 252, 1643 -1652.
- Erzin Y, Altun S, Dobrucalı A, Aslan M. Erdamar S, Dirican A, Kocazeybek B. Dispeptik hastalarda Anti-*Helicobacter pylori* IgG ELISA kitinin *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun birincil tanısındaki etkinliğinin değerlendirilmesi, 2007,21 (3) : 129-33.
- Eslick G.D, Lim L.L. Y, Byles J.E, Xia H.H.X, Association of *Helicobacter pylori* infection with gastric carcinoma; a meta-analysis. *Am. J. Gastr.* 1999; 2373-79.
- Fidan I, Türet S. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda patogeneze ve tanı. *Enfeksiyon Dergisi*. 1999: 13: 455-460.
- Gatta L, Vakil N, Leandro G, Di Mario F, Vaira D. Sequential therapy or triple therapy for *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials in adults and children. *Am J Gastroenterol* 2009;104:3069–79.
- Geyer C, Colbatzky F, Lechner J et al: Occurrence of spiral-shaped bacteria in gastric biopsies of dogs and cats. *Vet. Rec.* 1993: 133: 18-19.
- Gisbert J.P, Pajares J.M, C13-urea breath test in the management of *Helicobacter pylori* infection, *Digest. and Liv. Dis.* , 2005; 37: 899-906.
- Gisbert JP, Calvet X, O’connor A, M_egraud F, O’Morain CA. Sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a critical review. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:313–25.
- Go M.F, Craze S.E. Virulence and pathogenicity of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol. Clin. of North America*. 2000: 29 (3) , 649-671.
- Goodwin C.S, Armstrong J.A, Peters M. Collins M.D, Sly L, McConnel W, Harper W. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustalea* to *Helicobacter gen. nov. As Helicobacter pylori com.nov. and Helicobacter mustalea comb. nov.* ,respectively. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 1989; 39: 397-405.
- Goodwin C.S, Warsley B.W. , Microbiology of *H.pylori*. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 1993: 22 (1) : 15-19.

- Graham D.Y, Albert L.C, Smith J.L, et al. Iatrogenic *Campylobacter pylori* infection is A cause of epidemic achlorhydria. Am. J. Gastroenterol. 1998; 83: 974- 980.
- Graham DY, Fischbach L. Helicobacter pylori treatment in the era of increasing antibiotic resistance. Gut 2010;59,1143–53.
- Graham KS, Graham DY. Contemporary Diagnosis and Management of H. pylori Associated Gastrointestinal Diseases. Çeviri: Kahramanoğlu M. Çağdaş Tanı ve Tedavi- *H.pylori*'ye bağlı Gastrointestinal Hastalıklar. İstanbul: AND Danışmanlık, Eğitim, Yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti., 2002: pp. 5-82.
- Gramley W.A, Asghar A, Frierson H.F, Powell S.M. Detection of *H.pylori* DNA in fecal samples from infected individuals. J. Clin. Microbiol. 1999: 37: 2236-2240.
- Guilford W.G, Strombeck D.R. Chronic gastric diseases. Strombec 's Small Animal Gastroenterology. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1996: 275-302.
- Güner A, Telli N, Helikobacter pylori: Yeni Bir Gıda Patojeni mi? , J.Fac. Vet. Med. Univ. Erciyes. 2012: 9 (1) : 51-63.
- Güneş S, Gastritis Semptomu gözlenen Köpeklerin Gastroskopik Değerlendirilmesi: Gastrik Helikobakterlerin tanısı ve önemi, İstanbul Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2008.
- Güzelbektaş H, Köpeklerde Osefageal ve Gastrik Lezyonların Endoskopik Muayenesi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2002.
- Hanninen M.L. , Happonen I. , Saari S., Jalava K. : Culture and characteristics of *Helicobacter bizzozeronii*, a new canine gastric *Helicobacter* spp. Int. J. of Syst. Bacteriol. : 1996: 160-166.
- Happonen I, Canine and feline gastric *helicobacters*: diagnosis and significance in chronic gastritis. Ph. D. Thesis, Department of Clinical Veterinary Sciences, Section Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Finland. : 1999.
- He Q, Wang J.P, Osato M, Lachman L.B. Real-time quantitative PCR for detection of *Helicobacter pylori*. J. Clin. Microbiol. 2002: 40: 3720-3728.

- Heep M, Scheibl K, Degrell A, Lehn N. Transport and storage of fresh and frozen gastric biopsy specimens for optimal recovery of *Helicobacter pylori*. J. Clin. Microbiol. 1999; 37: 3764-3766.
- Heilmann K L, Bochar F. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*, Clinical, histological and ultrastructural findings. Gut, 1991: 137-140.
- Hermanns W, Kregel K, Breuer W, Lechner J. *Helicobacter-like* microorganisms: Histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. J. of Com. Path. , 1995: Volume 112, Issue 3: 307-318.
- Hsu PI, Wu DC, Wu JY, Graham DY. Modified sequential *Helicobacter pylori* therapy: proton pump inhibitor and amoxicillin for 14 days with clarithromycin and metronidazole added as a quadruple (hybrid) therapy for the final 7 days. *Helicobacter* 2011;16:139–45.
- Humphreys H. , Bourke S. , Dooley C. , McKenna D. , Effect of treatment on *Campylobacter pylori* in peptic disease: a randomised prospective trial. Gut, 1988 : 29 : 279-283.
- Huijsdens X W, Linskens R K, Koppes J, Tang. L, Meuwissen S G, VandenbrouckeGrauls C M et al. Detection of *Helicobacter* species DNA by quantitative PCR in the gastrointestinal tract of healthy individuals and of patients with inflammatory bowel disease. FEMS Immun. Med. Microbiol. 2004: 41: 79-84.
- Huynh H. Q. Invasive tests for *Helicobacter pylori* in children. Can. J. Gastroenterol. 2005: 19: 429-432.
- Hwang C Y, Han H R, Youn H Y. Prevalence and clinical characterization of gastric *Helicobacter* species infection of dogs and cats in Korea. Journal of Veterinary Science 2002, 3 (3) 2, 123-133.
- İmren Y H, Turgut K. Kedi ve Köpeklerde Endoskopi, Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 1987: 57 (2) : 27-35.
- Jalava K, Kaartinen M, Utriainen M, Happonen I, Hanninen M. L. *Helicobacter salomonis* sp. nov. , a Canine Gastric *Helicobacter* related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. Int. J. Of Sys. Bacteriol. : 1997 975-982.

- Jalava K, On S LW, Vandamme P A R, Happonen I, Sukura A, Hanninen M L. Isolation and identification of *Helicobacter* spp. from canine and feline gastric mucosa. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998: 3998-4006.
- Jiang J H, Xu D, Yan Y, Men K, Shao Z. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a meta-analysis, *J. of Med. Col. of PLA*. 2007: 22 (4) 246-49.
- Jennifer M L, Andrew J S. Iron Homeostasis and Disorders in Dogs and Cats : A Review. *J Am Ani Hos Ass*. 2011: 47 (3) : 151-160.
- Jonaitis L V, et all. Evaluation of a novel C14- urea breath test ‘ ‘ Heliprobe ‘ ‘ in Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Medicina (Kaunas)*. 2007, 43 (1). 32-35.
- Jones B D. Principles of Endoscopy Proceedings. World Small Animal Vet. Ass. XVI World Congress, Vienna, Austria. 1991.
- Kabir S. Review article: Clinic-based testing for *Helicobacter pylori* infection by enzyme Immunoassay of faeces, urine and saliva. *Alim. Pharmacol Ther*. 2003: 17: 1345-1354.
- Kabir S. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in feces and saliva by polymerase chain reaction: a review. *Helicobacter*. 2004: 9: 115-123.
- Karabiber N. *Helicobacter pylori* İnfeksiyonu Tanı Yöntemleri, *Klinik Dergi*, 1992: 5(1) : 15-16.
- Kidd M, Modlin I M. A century of *Helicobacter pylori*. *Digestion* 59: 1998: 1-15.
- Kolaylı F, Karadenizli A, Çelebi A, Şentürk Ö, Bingül R, *Helicobacter pylori*'nin İzolasyonunda dört farklı taşıma ortamının karşılaştırılması. *İnfeksiyon*
- Kopanski Z, Jung A. et all. , Comparative diagnosis value of the breath test and the urine Test with C14 ure in the detection of the *Helicobacter pylori* infection. *Nuc. Med. Rev. , 2002, Vol. 5, No. 1: 21-24.*
- Köksal F. *Helicobacter pylori*. In: Topçu A. , Söyletir G. , Doğanay M.,eds. *İnfeksiyon Hastalıklar ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2002: 1643- 1647.
- Krogfelt K A, Lehours P, Megroud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2005: 10: 720-741.

- Kubota S, Ohno K, Tsukamoto A, Maede S, Murata Y, Nakashima K, Fukushima K, Uchida K, Fujina Y, Tsujimoto H. Value of the 13-C ürea breath test for detection of gastric *Helicobacter* spp. infection in dogs undergoing endoscopic examination. 2013: 75 (8) : 1049-1054.
- Lee A, Hazell S L, O'Rourke J. Isolation of a spiral-shaped bacterium from the cat stomach. *Infect Immun*: 1988: 2843-2850.
- Lee A, *Helicobacter pylori*, The unsuspected and unlikely global gastroduodenal pathogen. *Int. J. Inf. Dis.* , 1996: 47-56.
- Leib M S, Duncan R B, Ward D L, Triple antimicrobial therapy and acid suppression in dogs with chronic vomiting and gastric *Helicobacter* spp. *J.Vet.Intern Med.*2007 Nov-Dec;21(6):1185-92.
- Leunk L D , Johnson P T, David B C, Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *J Med Microbiol.* 1988 : 26 : 93-99.
- Li C, Ha T, Chi D S, et all. A newly developed PCR assay of *H.pylori* in gastric biopsy, saliva and feces-evidence of high prevalence of *H.pylori* in saliva supports oral transmission. *Dig. Dis. Sci.* 1996: 41: 2142-2149.
- Lim C Y, Lee K H, Cho M J. Detection of *Helicobacter pylori* in gastric mucosa of patients with gastroduodenal diseases by PCR-restriction analysis using the RNA polymerase gene (rpOB). *J Clin. Microbiol.* 2003: 41: 3387-3391
- Lovelle P J, Landas S, Mitros F A, Conklin J L. Acute Gastritis Associated with spiral organisms from cats. *Dig Dis Sci*,1994; 4: 744-750.
- MacKay W G, Williams C L, McMillian M, Ndip R W, Shepherd A J, Weaver L T. Evaluation of protocol using gene capture and PCR for detection of *Helicobacter pylori* DNA in feces. *J. Clin. Microbiol.* 2003: 41: 4589-4593.
- Malfertheiner P. *Helicobacter pylori*- a timeless source of Lessons and Research Initiatives. *Helicobacter*, 2007; 12: 85-89.
- Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, et al.; European *Helicobacter* Study Group. Management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht IV/Florence Consensus Report. *Gut* 2012;61.646–64.

- Marshall B J, Warren J R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984: 1311-1314.
- Marshall B, Armstrong J, McGeachie D, et al. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med. J. Aust.* 1985: 142: 436-439.
- McNulty C A, Dent J C, Curry A, Uff J S, Ford G A, Gear M W, Wilkinson SP. New spiral bacterium in gastric mucosa. *Journal of Clinical Pathology*. 1989: 585-591.
- Murakami K, Minamide W, Wada K, Naakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin - resistant strains of staphylococci by Polymerase Chain Reaction. *J. Clin. Microbiol.* 29, 1991: 2240 - 2244
- Neiger R, Dieterich C, Burnens A, Waldvogel A. Detection and Prevalence of *Helicobacter* Infection in Pet Cats. *J. of Clin. Microbiol.* 1998: 634-637.
- Neiger R, Simpson K. *Helicobacter* infection in dogs and cats: Facts and fiction. *J Vet Intern Med* 2000;14:125–133.
- Nomura S, Baxter T, Yamaguchi H. Spasmolytic polypeptide expressing metoplasia to preneoplasia in *H. felis* infected mice. *Gastroenterol.* 2004: 582-594.
- Norris C.R. , Marks S.L. Ealton K.A. , Torabian S.Z. , Munn R.J. , Solnick J.V. Healthy cats are commonly colonized with *Helicobacter heilmannii* that is associated with Minimal gastritis. *J. of Clin. Microbiol.* 1999: 189-194.
- Noyan T. Complete blood cell parameters of Anti-Hp IgG antibody positive and negative subjects. *Turk J Biochem.* 2013: 38(2) : 133-137.
- O'Rourke J.L. Dixon M.F. , Jack A. , Enno A. , Lee A. Gastric B-cell mucosa-associated Lymphoid tissue (MALT) lymphoma in an animal model of *Helicobacter heilmannii* infection. *J. of Path.* 2004: 896-903.
- Otto G. Hazell S.H. , Fox J.G. et al: Animal and public health implications of gastric colonization of cats by *Helicobacter-like* organisms. *J.Clin. Microbiol.* 1994: 32: 1043-49.
- Öztürk E , Yeşilova Z. Ilgan S. Arslan N , Erdil A, Celasun B., Özgüven M ; A new, practical, low-dose 14C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: clinical validation and comparison with the standard method: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.* 2003. Vol.30 No.11:1452-1462.

- Paster B. J. ,Lee A. Fox J.G. Dewhurst F.E. ,Tordoff L.A. , Fraser G. J. , O'Rourke J.L. Taylor N.S. , Ferrero R. Phylogeny of *Helicobacter felis* sp. nov. , *Helicobacter mustelae*, and related bacteria. International Journal of Systemic Bacteriology. 1991: 31-38.
- Peura DA, Pambianco DJ, Dye KR, Lind C, Frierson HF, Hoffman SR, Combs MJ, Guilfoyle E, Marshall BJ. Microdose 14C-urea breath test offers diagnosis of *Helicobacter pylori* in 10 minutes. Am J Gastroenterol. 1996 Feb; 91(2): 233-238.
- Peyrol S. , Lecoindre P. , Berger I. , Deleforge J. , Chevallier M. Differential pathogenic effect of two *Helicobacter-like* organisms in dog gastric mucosal. J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 1998: 425-433.
- Polat M. Saçokara M. Nazlıgül Y. , Ata M., Kızılcıca G. , Ökten H. , Nobel Medicus online dergi, Hpfast Nobel Med. 2010: 2 (6) : 53-56.
- Raju G.S. , Smith M.J. , Morton D. , Bardhan K.D. , Mini dose C14-urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*, Am J Gastroenterol, 1994; 89 (7) : 1027-1031.
- Riggio MP, Lennon A. Identification by PCR of *Helicobacter pylori* in subgingival plaque of adult periodontitis patients. J Med Microbiol. 1999;48:317-322.
- Rimbara E, Fischbach LA, Graham DY. Optimal therapy for *Helicobacter pylori* infections. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2011;8:79–88.
- Robbins A.S. , Chao S.Y. , Fonseca V.P. , What is the relative risk? A method to directly estimate risk ratios in cohort studies of common outcomes. Ann Epidemiol. 2002; 12 (7) : 452-454.
- Rodriguez, J.M. (1997): Detection of pathogens by using the Polymerase Chain Reaction (PCR). Vet J. 153, 287 -305.
- Rossi G. Rossi M. Vitali C.G. Fortuna D. , Burrioni D. , Pancotto L. Capecchi S. , Sozzi S. , Renzoni G. Braca G. Guidice G.D. , Rappuoli R. , Ghiara P. , Taccini E. A conventional beagle dog model for acut and chronic infection with *Helicobacter pylori*. Infect Immun. 1999: 3112-3120.
- Sağnak S. , Özgür Y.N. , İstanbul Yöresinde Sağlıklı ve Klinik Belirti Gösteren Köpeklerde *Helicobacter pylori* varlığının Kültür, PCR ve Restriction Fragment Polymorphism (RFCP) ile Saptanması, J.Fac. Vet. Med. İstanbul Üniv. 2011: 37 (2) : 149-159.

- Saiki, K. R. Scharf, Ş, Faloona et all. (1985): Enzymatic amplification of p - globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of side cell anemia. Science, 230: 1350 -1354.
- Saiki, K. R. Gelfand, H.D. Stoffl, Ş, Scharf, J.Ş, et all. (1988) : Primer – directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polimerase. Science. 239, 487 – 494.
- Sandıkçı M.Ü. Köksal F. Helikobakter enfeksiyonları. Topçu A. , Söyletir G. Doğanay M. Eds, Enfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 1996: 1005-1009.
- Satoh K. , Kimura K. ,Yusht T. , Distribution of inflamation and atrophy in the stomach of *H.pylori* (+) and patirnts with chronic gastritis. Am. J. Gastroenterol: 1996: 91 (5) : 963-969.
- Scharf S. J. , Horn G.T. , Erlich H.A. , Direct cloning and sequence analysis of enzymatically amplified genomic sequences. Science 5; 1986 ; (233) : 1076-1078.
- Schochetman, G. Ou, C. , Jones K. W. (1988) : Polymerase Chain Reaction. J. Inf. Dis. 158:1154-1157.
- Simpson K. W., Strauss-Ayali D, McDonough P, et al. Gastric function in dogs with naturally acquired gastric Helicobacter spp. infection. J Vet Intern Med 1999;13.507–515.
- Simpson K.W. , Feldman E.C. , Ettinger S.T. , St. Louis P.A. Diseases of the stomach. Textbook of Veterinary Internal Medicine (6th ed.) ,Elseiver Saunders: 2005: 1311-1325.
- Solnick J.V. , O'Rourke J.L. Vandamme P. , Lee A. The Genus Helicobacter: 2003. Song Q. , Lange T. , Spahr A. , Adler G. Bode G. Characteristic distribution pattern of *H.pylori* in dental plaque and saliva detected with nested PCR. Soc. Gen. Microbiol. 2000 ; (49) : 349-353.
- Sönmez C. , Helikobakter enfeksiyonu tanısında yeni yaklaşımlar. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü. Güncel Gastroenteroloji. Eylül (2002) : 137-146.

- Stoffel M.H. , Friessa A.E. , Burnens A. , Schmassmann A. , Neiger R. , Distinction of gastric *Helicobacter* spp. In humans and domestic pets by scanning electron microscopy. *Helicobacter* 2000: 232-239.
- Stolte M. Kroker G. Meining A. , Morgner A. , Bayerdörffer E. , Bethke B. A comparison of control study involving 404 *Helicobacter pylori* and *Helicobacter heilmannii* gastritis. A matched patients. *Scan. J.Gastroenterol.* 1997: 28-33.
- Süto G. Vincze A. , Pakodi F. , Hunyady B. , Karadi O. et all, C13-urea breath tests is superior in sensitivity to detect *Helicobacter pylori* infection than either antral histology or rapid urease test. *J. Physiol (Paris)*, 2000 ; (94) : 153-156.
- Şimşek İ. , Binicier Ö.B. , Helikobakter pylori, Türk İç Hastalıkları Uzmanlık Derneği İç Hastalıkları dergisi, Derleme. 2011: 18: 13-28.
- Tams T.R. , *Small Animal Endoscopy*, Second Edition, The C.V.Mosby Company, Philadelphia. 2001.
- Telatar B. , Bayramikli O.U. , Yayla A. , Kavaklı B. , *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun Tamsında kullanılan Lateks Aglutinasyon testinin yaşa göre değişen tanı değeri. 1998: 9: 1-4.
- Thomson M. A. , Stoney P. , Greer R. , Cleghorn G. T. , Canine-Human transmission of *Gastrospirillum hominis*. *Lancet*, 1994; 343: 1605- 1607.
- Tönger Ö. *Helicobacter pylori* infections, *Turk J Infect.* : 2008: 22 (2) :107-115.
- Trimarchi H. , Forrester M. et all. , Low Initial Vitamin B12 leves in *Helicobacter pylori* positive patients on Chronic Hemodialysis. *Nephron Clin. Practice.* 2004: 96: 28-32.
- Tsay FW, Tseng HH, Hsu PI, et al. Sequential therapy achieves a higher eradication rate than standard triple therapy in Taiwan. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;27: 498–503.
- Turgut K. , Ok M. *Kedi ve Köpek Gastroenterolojisi*, Konya. 2001.
- Twedt D.C. , *Perspectives on Gastrointestinal Endoscopy*, *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 1993: 23 (3) : 481-495.
- Tzeng J. , Lin Y.L. Chung S.M. Chu Y. , Comparison of Four Diagnostic Methods For *Helicobacter pylori*. *Tzu. Chi. Med. J.* 2005: 17 (5) : 339-343.

- Ustaçelebi Ş. (ed) , Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara.
1999, 536-540.
- Vaira D. , Holton J. , Ricci C. , Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests. Best Practice & Res Clin Gastroenterol, 2007: Vol.21,
No. 2: 299-313.
- Van Doorn L.J. , Figueiredo C. , Sanna R. , et al. Clinical relevance of the cagA, vagA and iceA status of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology. : 1998, 115: 58-66.
- Vanden Bulck K. , Baele M. Hermans K. , Ducatelle R. , Haesebrouck F. , Decostere A. First report on the occurrence of *Helicobacter heilmanni* in the stomach of rabbits. Vet Res of Com. 2005: 271-279.
- Velazquez M., Feirtag J. M. , *Helicobacter pylori* ; characteristics , pathogenicity, detection methods and mode of transmission implicating foods and water. Int. J. Food Microbiol, 1999; 53: 95-104.
- Versalovic J. , Fox J.G., *Helicobacter* : In Murray P.R. , Baron E.J. , Jorgensen J.H. , Pfaller M.A. , Tenover F.C. , Tenover F.C. , Manual of Clinical Microbiology. Washington D.C. ASM Press. 2003: 915-928.
- Viera A.J. , Odds ratio and risk ratios, What is the difference and why does it matter. South Med. J. 2008; 101 (7) : 730-734.
- Warren J. , Marshall B. , Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1: 1983: 1273-1275.
- Wong B.C.Y. , Wong W.M., Wang W.H. et al. , An evaluation of invasive and non-invasive tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Chinese. Aliment Pharmacol Ther. 2001 ; (4) : 505-511.
- Xu L. Larzul, D. (1991): The Polymerase Chain Reaction: Basic methodology and applications Comp. Immun. Microbiol. Infect. Diş 14: 209 - 221.
- Zhang J. , Yu K.F. , What is the relative risk? A method of correcting the odds ratio in cohort Studies of common outcomes. 1998, JAMA, 19: 1690-1691.
- Zotta T. , Ricciardi A. , Rossano R. , Parente E. , Urease production of *Streptococcus thermophilus*. Food Microbiol, 2008; 25: 113-119.

EKLER :



Resim 1: C¹⁴ Üre Nefes Testinde kullanılan Helicap kapsül



Resim 2: Endotrakeal tüp yardımıyla nefes toplayıcı kuru kartuş sistemi



Resim 3: Gastrokopi ünitesi



Resim 4: Gastrokopi ile fırça biyopsisi ve mide biyopsisi ekipmanları



Resim 5: C^{14} Üre Nefes Testinin endotrakeal tüp yardımıyla nefes toplayıcı kuru kartuş sistemi ile gerçekleştirilmesi



Resim 6 : C^{14} Üre Nefes Testinin nefes toplayıcı kuru kartuş sistemi ile uygulaması esnasında kartuştaki turuncu rengin sarıya dönene kadar kartuş içine solutturulması



Resim 7: Gastroskopi ünitesi kurulduktan sonra hayvan sedasyon halindeyken uygulamanın gerçekleştirilmesi

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Güvenç Gökalp

Doğum Yeri: Ankara

Doğum Tarihi: 26/ 04 / 1982

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Samsun Özel Ar İlkokulu 1987-1992

Samsun Anadolu Lisesi 1994-1999

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, 2000-2006

Çalıştığı Kurum ve Yıl:

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, 2008-2013.

E-posta: guvencgokalp@hotmail.com