



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÜST GASTROİNTESTİNAL SİSTEM
HELICOBACTER PYLORI İNFEKSİYONLARINDA
CagA ve VacA GEN VARLIĞININ
SPESİFİK IgA ÜZERİNE
ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat MEHLİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Tekin KARSLIĞİL

ARALIK 2007

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ÜST GASTROİNTESTİNAL SİSTEM
HELICOBACTER PYLORI İNFEKSİYONLARINDA
CagA ve VacA GEN VARLIĞININ
SPESİFİK IgA ÜZERİNE
ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Murat MEHLİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Tekin KARSLIGİL**

Bu tez Gaziantep Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TF.06.02 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEZ ONAY SAYFASI

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÜST GASTROİNTESTİNAL SİSTEM HELİCOBACTER PYLORİ
İNFEKSİYONLARINDA CagA ve VagA GEN VARLIĞININ
SPESİFİK IgA ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Murat MEHLİ

19. 12. 2007

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Ayşe BALAT
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.



Prof. Dr. İclal BALCI
Anabilim Dalı Başkanı

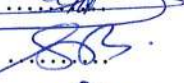
Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.



Doç. Dr. Tekin KARSLIGİL
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. İclal BALCI
2. Prof. Dr. Zeki ÇELEN
3. Doç. Dr. Tekin KARSLIGİL
4. Doç. Dr. Ayşen BAYRAM
5. Yrd. Doç. Dr. Fahriye EKŞİ



ÖNSÖZ

Gaziantep Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenen bu projeyle dünyada yaygın olarak bulunan ve gastrointestinal problemlerin en önemli nedeni olarak gösterilen *Helicobacter pylori* etkeninin, hastanemize gastrointestinal sistem şikayetleriyle başvuran hastalarda ne oranda bulunduğu, pozitif hastaların yaş, cinsiyet, kan grupları ile sigara kullanımı, aile içi dağılımı ve kronik hastalıklarla ilişkisi araştırılmıştır. Yine bakterinin patojenliğinde en önemli rolü oynayan ve toksin üretiminden sorumlu cagA ve vacA genlerinin varlığı ve bu genlerin varlığında immün sistemin durumu değerlendirilmiştir. *H. pylori* enfeksiyonunun eradikasyonunda aşı çalışmalarına ağırlık verilmiş, bu konuda Faz II aşamasında bulunan aşılar geliştirilmiştir. Bakteriye karşı korunmada humoral immüitenin ön planda olduğu görülmekte, oluşan sekretuar immünglobulinlerin bakterinin kolonizasyonunu önlemekte önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda bakteriye ait faktörlerden cagA ve vacA gen varlığının, IgA oluşumunu ne oranda tetiklediği araştırılmıştır.

Uzmanlık eğitimim süresinde en iyi şekilde yetişmem için çalışan, başta bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. İclal Balcı hocama, tez çalışmamda büyük emeği geçen ve katkısı olan Doç. Dr. Tekin Karşılıgil'e, yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ayşen Bayram'a ve sabrından dolayı sevgili eşim Songül Mehli'ye çok teşekkür ederim.

Dr. Murat Mehli

Gaziantep 2007

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	<u>sayfa</u> İ
İÇİNDEKİLER.....	İİ
ÖZET.....	İV
ABSTRACT.....	VI
KISALTMALAR.....	Vİİİ
TABLO LİSTESİ.....	İX
ŞEKİL LİSTESİ.....	X
RESİM LİSTESİ	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 <i>Helicobacter</i> 'ler.....	3
2.1.1 Sınıflandırma.....	4
2.2. <i>Helicobacter pylori</i>	5
2.2.1 Tarihçe.....	5
2.2.2 Görünüm ve Boyanma Özellikleri	6
2.2.3 Kültür Özellikleri	7
2.2.4 Biyokimyasal Özellikler	8
2.2.5 Genetik Özellikleri	10
2.3. Patogenez	10
2.3.1 Bakteriyel Patojenitede Rol Alan Enzimler.....	10
2.3.2 Bakteriyel Patojenitedeki Virulans Faktörleri.....	13
2.4. Plazmid	22
2.5. <i>H. pylori</i> 'ye İmmunolojik Yanıt	22
2.5.1 Humoral İmmun Yanıt	22
2.5.2 Hücresel İmmun Yanıt	23
2.6. <i>H. pylori</i> 'de Mukozal Hasar.....	24
2.7. <i>H. pylori</i> 'nin Üst GİS'de Yaptığı Hastalıklar.....	26
2.7.1 Gastroözofajial Reflü Hastalığı.....	26
2.7.2 Gastrit.....	27
2.7.3 Mide Ülseri	27

2.7.4 Duodenal Ülser	28
2.7.5 Nonülser Dispepsi	29
2.7.6 Mide Kanseri	29
2.7.7 Mucosa Associated Lenfoid Tissue (MALT) Lenfoma	31
2.8. Tanı.....	32
2.8.1 Non İnvaziv Testler	33
2.8.2 İnvaziv Testler	37
2.9. Tedavi.....	44
2.10. Epidemiyoloji	45
2.11. Korunma ve Kontrol	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	51
3.1. Örneklerin Toplanması ve İdentifikasyonu	51
3.2. <i>H. pylori</i> İnfeksiyonun Tanısında Üre Nefes Testi	51
3.3. Moleküler Tanı Yöntemleri.....	52
3.3.1 <i>H. pylori</i> PCR’da Kullanılan Reaktifler	52
3.3.2 DNA Ekstraksiyonu	53
3.3.3 <i>H. pylori</i> ’ye Ait PCR Ürünlerinin Araştırılması.....	54
3.3.4 <i>H. pylori</i> ’ye Ait PCR Ürünlerinin İncelenmesi.....	55
3.3.5 <i>H. pylori</i> VacA Gen Bölgesinin PCR Yöntemiyle Araştırılması.....	56
3.3.6 <i>H. pylori</i> VacA Gen Bölgesinin PCR Yöntemiyle İncelenmesi	57
3.3.7 <i>H. pylori</i> CagA Gen Bölgesinin PCR Yöntemiyle Araştırılması	57
3.3.8 <i>H. pylori</i> CagA Gen bölgesinin PCR Yöntemiyle İncelenmesi	58
3.4. <i>H. pylori</i> ’de Serolojik Tanı	59
3.4.1 Mikroelisa Yönteminde Kullanılan Reaktifler.....	60
3.4.2 <i>H. pylori</i> Spesifik IgA’nın Mikroelisa Yöntemiyle Araştırılması.....	60
3.4.3 Sonucun Okutulması	61
4. BULGULAR.....	62
5. TARTIŞMA.....	72
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	84
7. KAYNAKLAR.....	86

ÖZET

ÜST GASTROİNTESTİNAL SİSTEM *HELICOBACTER PYLORI* İNFEKSİYONLARINDA CagA ve VagA GEN VARLIĞININ SPESİFİK IgA ÜZERİNE ETKİSİ

Murat MEHLİ

Uzmanlık Tezi

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Tekin KARSLIĞİL

Aralık 2007, 100 Sayfa

Dünya nüfusunun yarıdan fazlasında infeksiyon yapan, büyük oranda işgücü ve maliyet kaybına yol açan *Helicobacter pylori*, gastrointestinal sistemin inflamatuvar infeksiyonlarından kalp damar hastalıklarına, otoimmün hastalıklardan kansere kadar etken patojen olduğu ispatlanan veya suçlanan önemli bir bakteridir. Bu bakteri ile ülkemizde ve yurtdışında çeşitli prevalans, patojenite ve aşı araştırmaları için çalışmalar yapılmaktadır. Biz de bölgemizdeki suşlarla yaptığımız çalışmada hem epidemiyolojik özelliği, hem de üst gastrointestinal sistem *H. pylori* infeksiyonlarında bakterinin patojenliğinden sorumlu olan genlerden vacA ve cagA varlığını araştırarak, organizmanın buna verdiği immun yanıtı değerlendirdik. Burada varolan patojenitenin özellikle bu bakterinin eradikasyonu için yapılan aşı çalışmalarına ne oranda etkide bulunabileceğini araştırdık.

Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Gastroenteroloji Bilim Dalına üst GIS şikayetleriyle başvuran ve endoskopiyle non ülser dispepsi, gastrit, gastroözefajial reflü, mide ülseri, duodenal ülser ve gastrik karsinoma ön tanısı konan 154 hasta çalışmaya alındı. Hastaların epidemiyolojik özellikleri anket formu ile değerlendirildi. Hastalardan endoskopi ile biyopsi örnekleri ve periferik venöz kan alındı. Üre nefes testi ile *H. pylori* pozitifliği araştırıldı. Üre nefes testi pozitif 96 hastada polimeraz zincir reaksiyonu ile 16S rRNA, vacA ve cagA gen bölgeleri

araştırıldı. Aynı zamanda bu hastaların serumlarından spesifik *H. pylori* IgA'nın seviyeleri ELISA yöntemiyle araştırıldı.

Elde edilen sonuçlar *H. pylori* infeksiyonunda yaş, cinsiyet, hastalık ilişkileri, ilaç kullanımı ile ilişki, aile içi geçiş hakkında istatistiki bilgiler sağlamış, bölgemizde infeksiyonun prevalansı hakkında bilgi vermiştir. *H. pylori* infeksiyonunda patojeniteden sorumlu çok sayıda faktör olduğu, bunlardan özellikle vacA geninin varlığının önemli bir infeksiyöz faktör olduğu gösterilmiş, vacA ve cagA genlerinin birlikteliğinin IgA üretimini daha iyi tetiklediği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Helicobacter pylori*, CagA, VacA, Polimeraz zincirleme reaksiyonu, IgA

ABSTRACT

THE EFFECT OF CagA AND VacA GENE ON PRODUCING OF SPECIFIC IgA IN *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION THE UPPER GASTROINTESTINAL SYSTEM

Murat MEHLI
Residency Thesis
Department of Microbiology and Clinical Microbiology
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Tekin KARSLIGIL
December 2007, 100 Pages

H. pylori which is an important bacterium, is the cause of more than half of world population and it is also the reason of great loss of work, labor force and cost and it is proved to be or accused of being the efficient pathogenic of diseases from gastrointestinal system inflammatory infectious to cardiological diseases, from autoimmune diseases to cancer. There are many investigations about this bacterium on the prevalence, pathogenity and vaccine in our country and in the world. In our study, we analyzed the immune response of organism by searching the existence of vacA and cagA genes that are the cause of pathogenic character of *H. pylori* in the infection of upper gastrointestinal tract and of its epidemiological characteristics. We researched that how the existence of patogenicity affects the vaccine studies that developed for the eradication of this bacterium.

One hundred fifty four patients were included taken from Gaziantep University, Medical Faculty Hospital, Department of Gastroenterology and whom they were pre-diagnosed as non-ulcer dyspepsia, gastro-esophageal reflux, ulcer, duodenal ulcer and gastric carcinoma by endoscopy. The epidemiological characteristics of patients were evaluated by questionnaire. Biopsy materials and peripheral venous blood samples from patients were collected. Being positive or not samples of *H. pylori* was determined by

urea-breath test. In the 96 patients who had positive for urea-breath test, 16 s rRNA, vacA and cagA genes were researched using the PCR. In the meantime, level of *H. pylori* specific IgA was researched in the serum by ELISA method. The results were provide information about age, sex, relation with chronic diseases and drug using and statistical information about domestic transition and give information about the prevalence of infectious in our region. It was determined that there are many factors that are the cause of patogenicity of *H. pylori* infectious and especially the existence of vacA gene is an important infectious factor and IgA production is triggered by the togetherness of vacA and cagA genes.

Key words: *Helicobacter pylori*, CagA, VacA, PCR, IgA

KISALTMALAR

- ATCC: Amerikan tipi kültür koleksiyonu
- BabA: Kan grubu antijenlerini bağlayan adezyon geni
- Bp: Baz çifti
- CagA: Sitotoksinle ilişkili gen A
- DNA ladder: Moleküler ağırlık belirleyicisi
- dTTP: Deoksi timidin trifosfataz
- dUTP: Deoksi urasil trifosfataz
- GyrA: Kinolonlara direnç sağlayan gen A
- HIV: İnsan immün yetmezlik virusu
- Hp: *Helicobacter pylori*
- Hp sIgA: *Helicobacter pylori* spesifik immunoglobulin A
- HpaA: *Helicobacter pylori* Adezyon geni
- IgA: İmmunoglobulin A
- IgG: İmmunoglobulin G
- IgM: İmmunoglobulin M
- kDa: Kilo dalton
- Mr: Moleküler ağırlık birimi
- NCTC: Kültür tiplerinin ulusal koleksiyonu
- NIH: Ulusal Sağlık Enstitüsü
- PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
- PTPδ: Protein tirozin fosfataz reseptörü
- rDNA: Ribozomal deoksiribonükleik asit
- RecA: Rekombinasyon yapan gen A
- sRNA: Küçük ribonükleik asit
- TBE: Tris-borat-EDTA
- VacA: Vakuolizasyon ilişkili Sitotoksin A
- WHO: Dünya Sağlık Örgütü

TABLO LİSTESİ

sayfa

Tablo 1. <i>H. pylori</i> türleri ve konak tropizmi.....	4
Tablo 2. <i>H. pylori</i> 'nin patogeneizde rol alan enzimleri.....	13
Tablo 3. <i>H. pylori</i> ve duodenum ülseri arasındaki ilişki.....	28
Tablo 4. <i>H. pylori</i> ve Mide karsinomu arasındaki ilişki.....	31
Tablo 5. ^{13}C ve ^{14}C üre nefes testleri arasındaki farklar.....	35
Tablo 6. Üre nefes testi sonuçlarıyla cinsiyetin karşılaştırılması.....	62
Tablo 7. Üre nefes testi sonuçlarıyla kan gruplarının karşılaştırılması.....	63
Tablo 8. Üre nefes testi sonuçlarıyla yaş gruplarının durumu.....	63
Tablo 9. <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda aile bireylerinin durumu.....	64
Tablo 10. <i>H. pylori</i> sonuçlarıyla sigara kullanımının karşılaştırılması.....	64
Tablo 11. <i>H. pylori</i> pozitifliği ile kronik hastalıkların karşılaştırılması.....	65
Tablo 12. Üre nefes testi sonuçlarının hastalık türlerine göre dağılımı.....	65
Tablo 13. <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda Proton pompa inhibitörü ve antibiyotik kullanımı.....	66
Tablo 14. PCR sonuçlarının hastalık gruplarına göre dağılımı.....	67
Tablo 15. PCR ile <i>H. pylori</i> pozitifliği saptanan hastalarda <i>vacA</i> ve <i>cagA</i> sonuçları.....	68
Tablo 16. Üre nefes testi ile Hp sIgA antikorlarının karşılaştırılması.....	69
Tablo 17. <i>H. pylori</i> Hp sIgA seropozitifliği ile <i>vacA</i> ilişkisi.....	69
Tablo 18. <i>H. pylori</i> Hp sIgA seropozitifliği ile <i>cagA</i> ilişkisi.....	69
Tablo 19. <i>VacA</i> ve <i>cagA</i> birlikteliğinin Hp sIgA üzerine etkisi.....	70
Tablo 20. Hp sIgA ile hastalık grupları arasında ilişki.....	70
Tablo 21. Hastalık grupları ile Hp sIgA Optik dansite değerleri arasındaki ilişki.....	71

ŞEKİL LİSTESİ

sayfa

Şekil 1. İn vivo vakuolizasyon oluşum mekanizması.....	16
Şekil 2. <i>H. pylori</i> 'nin konak hücreye sinyal aktarımı.....	20

RESİM LİSTESİ

sayfa

Resim 1. <i>H. pylori</i> 'nin elektron mikrosbunda görünümü.....	7
Resim 2. <i>H. pylori</i> 'nin uç şişkinlikleri (terminal bulb) ve disklerinin elektron mikrosko- bundaki görünümü.....	7
Resim 3. Üç günlük inkübasyonda kanlı agarda <i>H. pylori</i> 'nin görünümü.....	9
Resim 4. <i>H. pylori</i> 'nin kültüre edilmiş gastrik hücreye yapışmalarının elektron mikroskop görünümü.....	9
Resim 5. VacA'nın aktivasyonu ile HeLa hücrelerinde vakuolizasyon oluşumu.....	16
Resim 6. Üre nefes testi aşamaları.....	34
Resim 7. Sırasıyla Giemsa, Genta ve Warthin-Starry gibi özel boya teknikleri ile <i>H. pylori</i> 'nin boyanması.....	38
Resim 8. Üreaz testinin mekanizması.....	39
Resim 9. <i>H. pylori</i> 'nin dünyada görülme sıklığı.....	46
Resim 10. Moleküler ağırlık belirleyicisinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	59
Resim 11. <i>H. pylori</i> 'ye ait amplifikasyon ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	66
Resim 12. <i>H. pylori</i> vacA genine ait amplifikasyon ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	67
Resim 13. <i>H. pylori</i> cagA genine ait amplifikasyon ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	68

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Helicobacter pylori doğumdan itibaren oral yolla alınarak midede kolonize olan ve dispepsi, eroziv gastrit, peptik ülser, duodenal ülser ve midenin karsinomu gibi çeşitli hastalıklara neden olabilen önemli bakteriyel etkenlerden biridir (1).

H. pylori, dünyada en sık rastlanan infeksiyonlardan biri olup dünya nüfusunun yarısı bu organizma ile infektidir (2). *H. pylori*, dünya genelinde duodenal ülserli hastaların %95'inde, mide ülserli hastaların %70-80'inde, nonülser dispepsili hastaların ise yaklaşık %50'sinde görülmektedir. Prospektif ve retrospektif çalışmalarda gastrik kanser ve gastrik lenfomada %90 oranında *H. pylori* bulunmuştur (3,4).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda duodenal ülserde *H. pylori* prevalansı %80-90, gastrik ülserde %60-75, gastritlerde %40-100, mide kanserinde %30-90 ve non ülser dispepside %40-80 arasında değişmektedir (5). Güney Doğu Anadolu'da 1994 ve 2004 yılları arasını kapsayan geniş bir çalışmada yaş gruplarına göre *H. pylori* seroprevalansı araştırılmış; 10 yıllık süre içinde, prevalansın anlamlı derecede azalmış olduğu saptanmıştır. Örneğin 1994 yılında 21-30 yaş grubunda %71.1 olan prevalansın, %60.4'e düştüğü belirlenmiştir (6).

H. pylori, Gram negatif, unipolar, spiral veya kıvrımlı, hareketli, künt veya yuvarlak uçlu, 4-6 adet unipolar kampçıya sahip, mikroaerofilik, 0.5-1 µm genişliğinde 2,5-4 µm uzunluğunda bir bakteridir. *Helicobacter*'ler genellikle midede yaşarlar ve mucus tabakasında kolonize olmak için üreaz enzimine ihtiyaç duyarlar (7,8).

Etkenin çeşitli patojenite faktörlerinden en önemlileri, cagA ve vacA geni tarafından oluşturulan toksin üretimidir (8).

H. pylori tanısında; invaziv yöntemler (kültür, histopatolojik inceleme, hızlı üreaz testi, moleküler tanı yöntemleri) ve noninvaziv yöntemler (Üre soluk testi, serolojik

testler, dışkı örnekleri için kullanılan tanı yöntemleri, antijen testleri, polimeraz zincir reaksiyonu gibi) kullanılmaktadır (9).

Maastricht 2-2000 konsensus raporuna göre *H. pylori* eradikasyonu uygulanacak hastalıklar: Peptik ülser ve komplikasyonu, düşük dereceli mukosa-associated lymphoid tissue (MALT) lenfoma, atrofik gastrit, gastrik kanser rezeksiyonu sonrası ve mide kanserli hastaların birinci derecede yakınları olarak belirtilmektedir (10).

IgA mide mukozasındaki lokal immun yanıtın bir parçasıdır ve uzun süre kanda yüksek kalır. Sistemik antikor yanıtının en önemli komponenti ise IgG olup özellikle de IgG₁'dir. Bunlardan IgA antikorları *H. pylori*'nin mide epiteline yapışmasını engellerken IgG'ler, kompleman fiksasyon ve aktivasyonda rol oynarlar (11). Yapılan bir çok çalışmada humoral immunité olarak IgG'ler incelenmiş ancak IgA'lar yeterince araştırılmamıştır. Uygun antijenler kullanılarak yapılacak aşılamların IgA cevabı oluşturup hastalığın kontrolüne katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çalışmamızda; *H. pylori* patojenite faktörlerinden cagA ve vacA geni varlığının, IgA üretimine ne oranda katkı sağladığının araştırılması planlanmıştır. Bu amaçla hastalardan alınan antrum biyopsi örneklerinden PCR yöntemiyle *H. pylori* varlığı, daha sonra cagA ve vacA gen bölgeleri araştırılmıştır. Ayrıca hastaya ait serum örneğinde ELISA yöntemiyle spesifik IgA araştırılmış ve PCR sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 *Helicobacter*'ler

Önceleri *Campylobacter pyloridis* olarak bilinen *Helicobacter pylori* invitro ortamda ilk defa 1982 yılında üretilenmiştir (12). Bu oldukça hareketli virgül, s veya spiral şeklindeki Gram negatif çomaklar, semptomatik insanların mide mukozal epitelinin üzerindeki mukus tabakasında yaşarlar (13).

Son yıllarda *H. pylori* ile birçok gastroduodenal inflamatuvar ve neoplastik hastalıklar arasında etyolojik ilişki kanıtlanmıştır (1). *Campylobacter*'lere çok benzedikleri için daha önceleri bu genusa ait oldukları düşünülmüştür. Ancak daha sonra birçok genotipik ve fenotipik karakterlerinin *Campylobacter*'lerden farklı olduğu saptanarak, bu yeni cinse *Helicobacter* denmiştir (14).

H. pylori'nin *Campylobacter* genusundan farklı olan özellikleri;

- a) Kılıflı polar demetler halde 4-6 flajellerinin bulunması,
- b) Aksial flamanın olmaması,
- c) Optimal hareketini visköz bir ortamda göstermesi,
- d) Hücre çeperinin düzgün olması,
- e) Üreaz ve katalaz üretmesidir (15).

Helicobacter türü ayrıca *Campylobacter*'lerden kılıflı kirpiklerinin olması, benzersiz yağ asitleri profili ve çok farklı 16 sRNA sekansları ile ayrılırlar. Bu nedenle *Helicobacter*'ler daha çok *Wallinella* genusuna daha yakındırlar (16). *Helicobacter*'ler genellikle midede yaşarlar ve mukus tabakasında kolonize olmak için üreaz enzimine ihtiyaç duyarlar (7). *Helicobacter*'lerin en belirgin biyokimyasal karakterleri oldukça yüksek üreaz üretmeleridir. Üreazın regülasyonu çok kompleks bir olaydır ve en azından sekiz genin rol aldığı gösterilmiştir (17). Bunun yanında oksidaz, katalaz pozitifliği gibi birçok biyokimyasal özellikler *Helicobacter*'lerde homojen ise de,

genomik seviyede geniş varyasyonlar vardır. Bu varyasyonlar PCR yöntemleri ile gösterilmiştir (18).

2.1.1 Sınıflandırma

Bu bakteriler insanlar kadar hayvan türlerinde de geniş bir oranda bulunur. Hayvanlarda en sık görülen *Helicobacter* türü *Gastrospirillum hominis* veya *H. heilmannii*'dir. İnsanlarda ise en sık görülen tür *H. pylori*'dir. Ayrıca diğer *Helicobacter* türlerinin bir kısmı da az bir yüzdeyle insanlarda gösterilmiştir. *H. pylori* dışında bir türle oluşan insan enfeksiyonunu ilk kez Dent ve arkadaşları rapor etmiştir. *H. heilmannii*, *H. pylori* dışında insan midesinde kolonize olan ve gastritle ilişkisi bulunan tek türdür. *H. cinaedi* ve *H. fennelliae* proktit vakalarında HIV varlığında ya da yokluğunda homoseksüellerde görülebilir (8). Gastrik *Helicobacter*'ler genusunda; *H. pylori*, *H. heilmannii*, *H. mustele*, *H. felis*, *H. nemestrinae*, *H. acinonyx*, nongastrik *Helicobacter*ler içerisinde ise; *H. fennelliae*, *H. cinaedi*, *H. muridarum* sık görülmektedir (8). Tablo 1'de *Helicobacter* genusunda konak, doku ve ilk tespit edildiği yıllar verilmiştir.

Tablo 1. *H. pylori* türleri ve konak tropizmi (13)

TÜR	KONAK	DOKU	İLK BİLDİRİM
<i>H. pylori</i>	İnsan	MİDE	1985
<i>H. mustelae</i>	İnsan	GIS	1988
<i>H. cinaedi</i>	İnsan	GIS	1988
<i>H. felis</i>	Kedi	GIS	1991
<i>H. fennelliae</i>	Kedi	GIS	1991
<i>H. nemestrinae</i>	M.nemestrina	GIS	1991
<i>H. muridarum</i>	Rodent	GIS	1992
<i>H. acinonychis</i>	Domuz	GIS	1993
<i>H. bilis</i>	İmbret fare	GIS	1993
<i>H. hepaticus</i>	Fare	KARACİĞER	1994
<i>H. pametensis</i>	Kuş,dornuz	GIS	1994
<i>H. pullorum</i>	İnsan	GIS	1995
<i>H. bizzazeronii</i>	Köpek	GIS	1996
<i>H. heilmannii</i>	Kedi, köpek, rat	MİDE	1996
<i>H. trogonum</i>	Rat	GIS	1996
<i>H. cholecystus</i>	Syrian hamster	GIS	1997
<i>H. rodentium</i>	Laboratuvar faresi	GIS	1997
<i>H. rappini</i>	Fare	GIS	1997
<i>H. salomonis</i>	Köpek	GIS	1997
<i>H. bovis</i>	Sığır	GIS	1999
<i>H. suis</i>	Domuz	GIS	1999

2.2 *Helicobacter pylori*

2.2.1 Tarihçe

1982 yılından önce yapılan bir çok hayvan çalışmalarında spiral mikroorganizmaların gösterilmesine karşın, mikroorganizmanın kültürü yapıncaya kadar, araştırmacılar midenin asit ortamından dolayı mideyi steril kabul etmiş ve önceki yapılan çalışmaları fazla dikkate almamışlar, bu nedenle gastrik bakteriyolojik çalışmalar uzun yıllar geri planda kalmıştır (8). Spiral mikroorganizmaların hayvanların midesinde varlığı ilk defa 1893 yılında Bizzozero ve sonra 1896 yılında Slamon tarafından bulunmuştur (8).

1906'da Krenitz, insanlarda benzer organizmalar tanımlamış, mide kanserli hastaların gastrik içeriklerinde bakterilerin bulunduğu belirtilmiştir. 1938'de Donges, otopsilerden alınan insan mide örneklerinde bu spiral mikroorganizmanın prevalansını %43 bulmuş, ancak mide hastalıkları ile ilişkisini kanıtlamamıştır. 1940'larda Freedburg ve Barron, ülser veya kanser nedeniyle parsiyel mide rezeksiyonu yapılan 35 hastanın 13'ünde (%37) mide mukozasında spiral bakteri tespit etmişlerdir (19).

H. pylori'nin salgıladığı üreaz enzimini ise ilk kez 1924'de Luck ve Seth tanımlamıştır. 1955'de Kernberg ve Dovres, gastrik üreaz aktivitesinin genelde korpusda lokalize ve bakteriyel kaynaklı olduğunu göstermişlerdir. 1975'de Steer ve Colin-Jones, gastrik ülserli hastaların gastrik mukozalarından alınan biyopsilerde, mukus tabakasının altında ve mide mukozasında bakteri varlığını göstermişler, bu bakterinin mukozal direnci kırarak ülseri neden olabileceğini belirtmişlerdir. Fakat bakteriyi kültüre edemedikleri için bu konu tartışmalı olarak kalmıştır (8).

1980'li yıllara gelindiğinde Warren, Avustralya'da aktif gastritli 135 hastanın mide mukoza materyalinde, *Campylobacter jejuni* benzeri kıvrımlı spiral basili gözlemiştir. 1982 yılında ise Warren ve Marshall, standart *Campylobacter* kültür ortamına 34 antral biyopsi materyalini ekerek bakteriyi izole etmeyi başarmışlardır (8,19).

Bu mikroorganizma çoğunlukla antral mukozada bulunduğu için *Campylobacter pyloridis* denilmiş, sonraları ise biyolojik tiplere göre *Campylobacter pylori* olarak isimlendirilmiştir (19). Daha sonra ise, mikroorganizmanın fonksiyonel ve enzimatik özelliklerinin farklı olmasının saptanması ile *Campylobacter* cinsinde yer alamayacağına karar verilmiştir. 1989'da ise Goodwin, bu bakterinin *Campylobacter* genusunda olmadığını bildirmiştir. Sonuçta bu bakterinin en çok midenin pilorik

bölgesinde bulunmasından ve helikal görünümünden dolayı *Helicobacter pylori* denilmiştir (15). 1987'de Avrupa *Helicobacter pylori* Çalışma Grubu kurulmuştur. 1994'te NIH (National Institute of Health) konsensusunda *H. pylori*'nin peptik ülser hastalığının en önemli nedeni olduğu ve ülserli hastaların bu mikroorganizma için eradikasyon tedavisi olmaları gerektiği kabul edilmiştir (8).

Gastrik kanser ve *H. pylori* infeksiyonu arasındaki ilişki ilk kez 1991 yılında 4 çalışma ile gösterilmiştir (3). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) bir kolu olan International Agency for Cancer Research, mevcut verileri yeniden gözden geçirmiş ve *H. pylori* insanlarda karsinojen olarak kabul edilmiştir. *H. pylori* infeksiyonunun gastrik Non Hodgkin Lenfoma (NHL), diğer lenfoproliferatif hastalıklar ve MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) lenfoma gelişmesiyle de ilişkisi bulunmuştur. Gastrik MALT lenfomalı hastalara *H. pylori* eradikasyon tedavisi, lezyonlarda sıklıkla gerileme sağlamıştır. *H. pylori* önceden bilinmeyen bir mikroorganizma iken, şimdi gastrointestinal hastalıkların çoğuyla ilişkili bulunmuştur (8).

2.2.2 Görünüm ve Boyanma Özellikleri

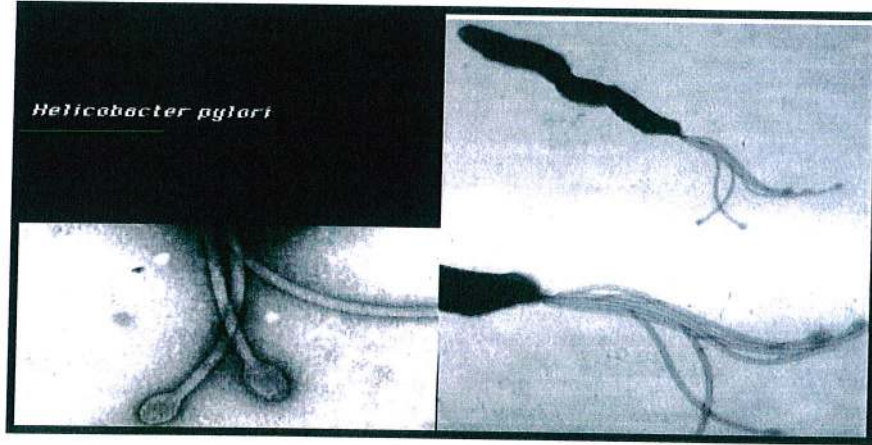
H. pylori, Gram negatif, unipolar, spiral veya kıvrımlı, hareketli, künt ve yuvarlak uçlu, 4-6 adet unipolar kamçıya sahip, mikroaerofilik, 0.5-1 µm genişliğinde 2,5-4 µm boyunda bir bakteridir (Resim 1).

H. pylori, canlıda spiral şekillidir, üremesi için uygun olmayan koşullarda yuvarlak, düzensiz çubuk şeklinde yada küremsi görülürler. Diğer *Campylobacter* tersine flagellası kılıflıdır ve distalde *Campylobacter*'lerde görülmeyen uç şişkinlikler (terminal bulb) ve disklere sahiptir. Bu yapı, bakterinin gastrik mukus gibi viskoz ortamlarda tirbişon tarzı hareketi için gereklidir (Resim 2).

Dış yüzünde kalın bir glikokaliks tabakası bulunur, hücre duvarı, 12-15 nm çapında subünitelerden oluşmaktadır. *H. mustelae*, bir çok karışık yerleşimli ve kamçılı olup gelincikte gastrit ve erezyon yapar. *H. heilmannii*, daha çok kedi ve köpekte, nadiren insanda bulunur. Tirbişon şekilli, bir uçta bir çok kamçısı vardır, aksiyel flamanı yoktur. İnsan gastritlerinin %1'i, tahminen kedi, köpekten geçen bu bakteriye bağlıdır. *H. felis*, kedi, köpekte bulunur. *H. helmanii*'den farklı olarak, aksiyel flamanlıdır, kediden izole edilip farelerde üretilebilir, son zamanlarda yararlı bir aşı modeli olarak üzerinde çalışılmaktadır (8,15).



Resim1. *H. pylori*'nin elektron mikrosbunda görünümü (20)



Resim 2. *H. pylori*'nin uç şişkinlikleri (terminal bulb) ve disklerinin elektron mikroskopundaki görünümü (21)

H. pylori'yi doku kesitlerinde ve yaymada görüntüleyebilmek için Warthin-Starry gümüş boyası, Hematoksilen-Eosin, Akridin Oranj, Gram Boyama ve Giemsa kullanılmaktadır. Dokuda mukus altında, epitel hücre yüzeyinde ve lümende spiral şekilde görülürler, kültürde ise basil yapıda, kıvrık ve sirküler şekildedirler (8,15).

2.2.3 Kültür Özellikleri

Mikroaerofilik bir mikroorganizma olup %5-10'luk CO₂'li ortamlara gereksinim duyar. Yüzeyi kurumuş besiyerlerinde üreyemez. *H. pylori*, %5-7 at kanlı agarda zayıf da olsa bir hemoliz oluşturur. Üremesi için uygun diğer besiyeri *Brucella*, çikolata, Colombia ve Skirrow agarlardır (11,22,23). *H. pylori*'nin üremesi için ortama eklenen

karbondioksitin yanında gereken optimal oksijen konsantrasyonu ise % 2-8'dir (15). Kan, hemin, serum, nişasta, kömür içeren besiyerlerini daha çok sever. Katı besiyerlerinde ise hareket yeteneğini yitirir. En iyi üreme ortamlarından biri de nemlendirilmiş çikolata agardır. İdeal olarak 37°C'de, %98 nemli ve %5-15 CO₂'li ortamlarda 4-7 günde yaklaşık 1-15 mm çapında, yuvarlak, dışbükey, şeffaf koloniler yapar (11,22) (Resim 3).

Kanlı besiyerlerinde düzgün, pigmentsiz, 0.5 mm çapında koloniler oluşturarak ürer, şekerleri etkilemez. Kültür için ideal olanı, biyopsi materyalinin hemen kanlı zengin besiyerine ekilmesidir. Hemen ekim olamıyorsa, brucella broth, nutrient broth, beyin-kalp infuzyon broth gibi taşıma besiyeri kullanılabilir. Bu besiyerlerinde materyal oda ısısında veya +4 derecede 4-5 saat saklanabilir (8,15).

H. pylori oldukça zor kültüre edilir. Diğer mikroorganizmaların üremesini engellemek için besiyerine vankomisin, trimetoprim, kolistin, polimiksin B veya nalidiksik asit eklenir. Mantar üremesini engellemek için sikloheksimid, nistatin, amfoterisin B eklenebilir. Besiyeri kontrolleri, 3. 5. ve 7. günlerde yapılır. Kolonilerin identifikasyonu Gram boyası ve biyokimyasal testler ile yapılır. *H. pylori* oral alınımından sonra, mukus içinde artan hareketi ile kendisine uygun ortama ulaşmakta, adezinleri ile yapışıp üreaz enzimi ile çevresindeki asit ortamı nötralize etmektedir (Resim 4). Mikroaerofilik özelliği nedeni ile kolayca üreyebilmektedir. Ortaya çıkan klinik tablo, konağın verdiği yanıtla oluşmaktadır (8,15).

2.2.4 Biyokimyasal Özellikler

Çomak yada virgül şeklindeki bu bakteri, üreaz, katalaz, oksidaz pozitifler. Zorunlu mikroaerofildir. Nitratların nitrite indirgenmesini, karbonhidratların oksidasyon ve fermentasyonunu yapamaz. *H. pylori*, enerjiyi muhtemelen aminoasit ve yağların metabolizmasından sağlamaktadır (8,15).

H. pylori üreaz, katalaz, DNAase, alkalin fosfat, lösinaminopeptidaz, gama-glutamil aminopeptidaz enzimleri salgılayabilir. Bunlardan, özellikle üreaz testinin olumluluğuna yol açan üreaz enzimi, mide örneklerinden bakterinin doğrudan tanımlanmasında kullanılmaktadır. *H. pylori*, antibiyotiklere duyarlılık bakımından da *Campylobacter fetus*'e benzer. Penisilinler, sefalosporinler, tetrasiklinler, eritromisin, rifampisin, aminoglikozoidler, metronidazol ve bizmut bileşiklerine duyarlıdır.

Kotrimoksazol, sefsulodin ve polimiksin'e dirençlidir. Ayrıca, safra tuzlarına duyarlılığı nedeni ile bağırsaklarda üremesi de olanaksızdır (11,22).



Resim 3. Üç günlük inkübasyonda kanlı agarda *H. pylori*'nin görünümü (24)



Resim 4. *H. pylori*'nin kültüre edilmiş gastrik hücreye yapışmalarının elektron mikroskop görünümü (25)

2.2.5 Genetik Özellikleri

H. pylori'nin komple gen dizi sırası (genom sequence) Tomb ve arkadaşları tarafından 1997 yılında açıklanmıştır. *H. pylori*'nin 26695 nolu suşu G + C oranı %39 mol olan, 1.667.867 baz çiftine sahip tek bir sirküler yapıda kromozom içermektedir. Toplam gen sayısı 1590 olup her biri ortalama 1049 baz çifti taşımaktadır. Konu ile ilgili yapılan diğer çalışmalar, G+C oranı % 34.1-37.5 mol (ortalama %35.2) olan bir

genoma sahip olduklarını göstermektedir. Kodlanan birçok genler arasında: 16S, 23S ve 5S ribosomal RNA (rRNA) genleri, DNA replikasyonunda görev alan *gyrA*, homolog DNA rekombinasyonundan sorumlu *recA* ve *ftsH* genleri gibi hücre canlılığı için önemli olanlar belirlenmiştir (8).

Birçok gen bölgesinin virulansla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bunlar arasında: dış membran proteinleri (*OipA*) ve lipopolisakkarit moleküllerini kodlayan genler, vakuolizasyon sitotoksin geni (*vacA*), sitotoksin ilişkili gen (*cagA*), adhesin geni (*hpaA*), flagellin genleri (*flaA* ve *flaB*), üreaz gen kümesi yapısal alt birimleri kodlayan *ureA* ve *ureB* geni, fonksiyonu bilinmeyen *ureC* ve *ureD* genleri ile üreaz aktivitesi için gerekli olan *ureE*, *ureF*, *ureG*, *ureH* ve *ureI* genleri bulunmaktadır (8).

2.3 Patogenez

Patogenetik mekanizmalarda spiral şekil ve motilite, flajella, spesifik fosfolipidlere bağlanma, üreaz, katalaz, fosfolipaz, proteaz, vakuolize eden sitotoksinler ve otoimmünite rol oynamaktadır (8).

2.3.1 Bakteriyel Patojenitede Rol Alan Enzimler

H. pylori, gastroduodenal mukozanın koruyucu faktörlerini değiştirerek mukozal hasar oluşturabilen çeşitli enzimler salgılar. Fosfolipaz A1, A2 ve C enzimleri, fosfolipidden zengin gastrik mukozayı hasara uğratabilecek özelliktedir. *H. pylori* ile infekte olan kişilerin mide suyunda, fosfolipazların fosfolipidlere etkisi sonucu ortaya çıkan lizolesitin konsantrasyonunun ve fosfolipaz A2 düzeyinin artmış olduğu gösterilmiştir (26).

Bakteriyel fosfolipaz aktivitesi sonucu ortaya çıkan lizolesitin ve yağ asidi bileşikleri, platelet aktive edici faktör, lökotrienler ve prostaglandinler gibi ülserojenik potansiyeli olan maddelerin açığa çıkmasına neden olabilir (26). Lizolesitin, epitel hücrelerine ve koruyucu mukus tabakasına direkt olumsuz etkileri de vardır. Ayrıca, *H. pylori* 'nin salgıladığı fukosidaz nöraminidaz ve glikosulfataz gibi enzimler de, mukus tabakasının yapısını bozarak, koruyucu özelliğini azaltır (27). Bakteriyel enzimler, gastrik defans mekanizmalarını bozucu etkilerinin yanında, direkt olarak da mukozal hasar oluşturabilirler. İn vitro çalışmalarda, *H. pylori* 'nin toksik aldehit metabolitlerinin oluşmasına yol açan alkol dehidrogenaz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir (28).

– *H. pylori* 'nin oluşturduğu hastalıkların patogeneğinde rol oynayan en önemli enzim olan üreaz, ürenin amonyak ve karbondioksitde ayrışmasını katalize eder. Bu reaksiyon sonucunda oluşan amonyak, infeksiyonun başlangıç döneminde, bakterinin çevresinde alkalen bir ortam oluşturarak, mide asiditesinin zararlı etkisinden korur. Hayvan çalışmalarında, üreaz salgılayamayan mutant suşların, mide asidinin nötralize edilmesinden sonra bile kolonize olamadığının gösterilmiş olması, bu enzimin, *H. pylori* infeksiyonundaki önemini göstermektedir (29).

Yapılan bir çok çalışmada, üreaz enziminin katalizörlüğü ile ürenin hidrolize olmasının, gastrik mukoza hücrelerine zararlı etkilerinin olduğu gösterilmiştir (30). Oluşan amonyağın su molekülleri ile birleşerek amonyum hidroksitde dönüşmesi, direkt olarak toksik etki oluşturabilir (31). İn vitro çalışmada amonyak, epitel hücrelerinde vakuolizasyon oluşturduğu ve mide suyundaki amonyak konsantrasyonunun, gastritin derecesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, mide suyundaki amonyak miktarı, midedeki *H. pylori* yoğunluğunun göstergesi de olabileceği düşünülmüştür (32). Mukozal hasar oluşumunda, amonyağın indirekt etkileri de vardır. Amonyak, epitel hücrelerine zararlı etkileri olan toksinlerin vakuolizan etkilerini arttırabilmektedir. Ayrıca, mukozal yüzeyde pH'nın artmasına yol açarak, parietal hücrelerde üretilen hidrojenin lümene geçişini engeller ve geriye diffüzyonuna neden olmaktadır (33).

Amonyağın, gastrik epitel hücreleri arasındaki sıkı bileşkelerin fiziksel ya da fonksiyonel bütünlüğünü bozmak suretiyle de, mukozal hasar oluşumuna katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bunuda, lökosit kemotaksisini artırarak nötrofillerden myeloperoksidaz salınımını stimüle ederek yapmaktadır (34).

H. pylori tarafından salgılanan ve mukozal hasar oluşumuna indirekt olarak katkıda bulunan bir diğer enzim de, N-alfa-histamin metiltransferaz'dır. Bu enzim, midede N-alfa-metil histamin konsantrasyonunun artmasına neden olur. Bu histamin metaboliti, mide asit sekresyonunu güçlü bir şekilde stimüle eder ve antral somatostatin salınımını inhibe edici özelliğe sahiptir. Bu özellikleri ile, *H. pylori* infeksiyonu sırasında gastrik asit sekresyonunda meydana gelen değişikliklerde katkısı olduğu sanılmaktadır (35).

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 oluşturucu faktörler olarak sınıflandırılmaktadır. *H. pylori*'nin farklı fenotiplere sahip çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. Suşlar, aynı patojenik özellikleri taşımamaktadır. Suşlar arasındaki patojenik özellikler ve konakçıya ait immunolojik faktörler taşıyıcılık ile hastalık arasındaki klinik sonucu belirlemektedir (8).

Sadece mide epitelinde kolonize olabilen *H. pylori*, midenin yanı sıra, özefagus, duodenum, meckel divertikülü gibi metaplazik yerleşimli mide epiteli bulunan herhangi bir yerde, mukus tabakasının altında mide epiteline bitişik konumda yerleşebilir. Böylece nötrale yakın bir ortamda yaşayarak bakterisidal nitelikte olan mide sıvısından korundukları bilinmektedir. Yine hücre dışı süperoksit dismutaz ve katalazın nötrofillerin fagositoz etkilerine karşı mikroorganizmanın canlılığını sürdürmesine yardım ettiği düşünölmektedir (8).

Organizmanın ayrıca kişinin mukus bikarbonat bariyerini zayıflatan müsin eritici bir proteaz ve doku költür hücre dizilerinde vakuolizasyona yol ačan sitotoksin salgıladığı bilinmektedir (VacA). *H. pylori* vakalarının yaklaşık %60'ında gösterilen ve 87 DA (dalton angstrom) ağırlığında bir protein olan bu sitotoksin, invivo olarak görölmekte, invitro şekli ise hücre költürlerinde gösterilebilmektedir. 128 kDA denen ikinci bir proteine ise gene bağlı sitotoksin A veya cagA (Cytotoxin associated gene A) denmektedir. CagA proteini taşıyan suşların daha virölan oldukları bilinmektedir (8).

Gelecekte *H. pylori* genotiplerinin bilinmesi farklı hastalık gruplarında risk altında bulunan kişilerin saptanmasına olanak sağlayacaktır. Elektron mikroskopisi ile yapılan çalışmalarda bakterinin hücreler arası alana penetre olabildiği gözlenmiştir. *Escherichia coli*'ye benzeyen yapışma ayakçıkları ve adezyon proteinleri ile epitel hücre zarına yapışabildiği ve bu yolla hücre ayrışmasına yol ačan direkt mekanik etkisi olduğu düşünölmektedir. Son yıllarda mekanik etkiler ve salgılanan toksinlerden çok, infeksiyon sırasında ortaya çıkan inflamasyon ve inflamasyon mediatörlerinin hücresel hasara neden olduğu görüşü ağırlık kazanmaktadır. Ayrıca bakterinin katalaz enzimi sayesinde nötrofillerde biriken reaktif oksijen metabolitlerin toksik etkilerinden korunabilmektedirler. Fosfolipaz ve proteaz enzimi ise epitelyal hücre membranları ve mukus tabakasının sindiriminin sağlanması yanında mukusun çözönebilirliğini arttırmaktadır. *H. pylori*'nin salgıladığı lipaz ve fosfolipazlarla mukoza lipidlerini parçaladığı, bununda patogeneizde rol alacağı düşünölmektedir (8) (Tablo 2).

Tablo 2. *H. pylori*'nin patogeneizde rol alan enzimleri (8)

ENZİM:	ETKİ:
ÜREAZ	<i>H.pylori</i> 'nin yaşam koşulunu sağlar ve üreden toksik amonyum yapar
FOSFOLİPAZ	Toksik izolesitin yapar
ALKOL DEHİDROGENAZ	Asetaldehit yapar
PROTEOLİTİK AKTİVİTE	Proteinleri parçalar
HEMOLİTİK AKTİVİTE	Eritrositleri parçalar
KATALAZ	Makrofajlarda canlı kalmayı sağlar
SODYUM DİSMUTAZ	O ₂ metabolitlerini inaktive eder
LAKTAT DEHİDROGENAZ	Piruvatı laktata çevirir
PİRUVAT DEKARBOKSİLİZ	Piruvatı asetaldehite çevirir
PİRUVAT DEHİDROGENAZ	Piruvatı asetata çevirir
ALDOLAZ	Pürin oluşturur
ATPase	Enerji metabolizması yer alır
FOSFOTRANSFERAZ VE FUMARAT REDÜKTAZ	<i>H. pylori</i> 'nin aneorobik solunumuna imkan sağlar
FUKOSİDAZ	Mukus tabakasının yapısını bozar
NÖRAMİNİDAZ	Mukus tabakasının yapısını bozar
GLİKOSULFATAZ	Mukus tabakasının yapısını bozar
N-ALFA-HİSTAMİN METİLTRANSFERAZ	Midede N-alfa-metil histamin konsantrasyonunun artmasına neden olur
SÜPEROKSİT DİSMUTAZ	Nötrofillerden korunmayı sağlar
PROTEAZ	Müsin eriterek bariyeri bozar

2.3.2 Bakteriye Patojenitedeki Virulans Faktörleri

H. pylori patogeneizinde bir çok virulans faktörü rol alır.

Spiral şekil, flagella ve motilite: *H. pylori*, yoğun viskoz solüsyonlarda oldukça iyi hareket kabiliyetine sahiptir. Aktif motilite ile asit ortamdan hızla geçerek gastrik mukus tabakasını penetre eder (8). Mukus tabakasında aktif hareketini devam ettirir. Flagellar kılıf membranının tipik yapısı olan proteinler ve lipopolisakkaritlerden oluşur. Büyük bir olasılıkla bu kılıf, flagella filamentlerini gastrik asiditeden korumaktadır. Flagella filamentleri FlaA ve FlaB olmak üzere iki farklı flagellin proteini içerir (36). *H. pylori*'nin hareketli oluşu en önemli virulans etmeni olarak kabul edilmektedir. Domuzlarda yapılan çalışmalarda en virulan suşların, en hareketli suşlar olduğu gösterilmiştir. Hayvan modellerinde *H. pylori*'nin flajellası olmayan mutant tiplerinde virulan olmadığı gösterilmiştir. *H. pylori*'nin gastrik epitel hücrelerine yapışması çeşitli mekanizmaları içerir. Bu adezyon işlemi komplekstir. *H. pylori* spesifik fosfolipitlere bağlanma sonucu müsin tabakada persistan olarak kalır (8).

Adhezinler: *H. pylori* epitelyal hücrelere tutunabilmek için adezinler oluşturur. Bu tipte en iyi tanımlanan adezin, epitelyal hücrelerin yüzeyinde bulunur ve bir karbonhidrat antijen olan Lewis b antijenini tanıyan BabA'dır. Üreaz ve flajella bütün *H. pylori* suşlarında bulunmasına karşın BabA sadece bazı suşlarda bulunur. *H. pylori* BabA(+) suşlarının glandular atrofi, intestinal metaplazi ve artmış epitelyal hücre proliferasyonu ve gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (37). Mukus tabakasının penetrasyonunu takiben burada bulunan fosfotidiletanolamin, gangliozid GM3 ve O kan grubu taşıyan kişilerde bulunan Lewis X antijeni gibi özel bazı fosfolipidlere bağlanarak mukus sekrete eden epitelyal hücrelerin arasındaki sıkı bileşkelerde selektif olarak kolonize olurlar (8).

H. pylori mide epitel hücrelerine tutunabilmek için en az 5 farklı adhezin kullanmaktadır. Bunlardan flagella membranında taşıdığı HpaA proteini ve dış membranında yer alan HspA daha önce belirlenmiştir. Buna ek olarak dış membran yapısında 19 yeni lipoprotein bulunmuştur. Bunlardan çok azının fonksiyonu belirlenebilmiş, bazılarının ise bakterinin adherens özelliğine katkı sağladıkları gösterilmiştir (37).

Üreaz: Daha öncede anlatıldığı gibi üreyi katalize ederek amonyak ve bikarbonat oluşumunu sağlayan yüksek molekül ağırlıklı üreaz enziminin klinik değer kazandığı bilinmektedir (8). *H. pylori*'nin üreaz enzimi 550 kilo dalton (kDa) ağırlığında heksamerik bir moleküldür. 61.7 kDa (α) ve 26.5 kDa (β) ağırlığında iki farklı subünit içerir.

Ürenin amonyum iyonu ve suya hidrolizini sağlayan bu enzim gastrit oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. *H. pylori* üreazı, bakteriyel üreazlar arasında benzersizdir. *H. pylori* patogeneğinde önemli rol oynadığından son araştırmalar üreazın hayvan modelleri ve insanlarda aşı olarak kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır. Çıplak fare modelinde izogenik mutantlar kullanılarak üreazın mide kolonizasyonundaki temel rolü doğrulanmıştır. Üreaz hidrolizi ile üretilen amonyak, mide epitel hücreleri üzerinde toksik etkilere neden olabilir. Ayrıca amonyak bakteriyel adhezyonu artırıp, komplemanı inaktif hale getirir (37).

Isı şoku proteinleri (Hsp): *H. pylori*, iki ısı şoku proteini sentezler. Bunlar, HspA ve HspB olarak adlandırılır. *H. pylori*'nin patogeneze ve immunolojisinde rol oynamaktadır. *H. pylori*, HspA'nın *H. felis* fare modelinde *H. pylori* enfeksiyonuna karşı korunma sağladığı gösterilmiştir. *E. coli* ısı şoku proteini clpB ve başka clp

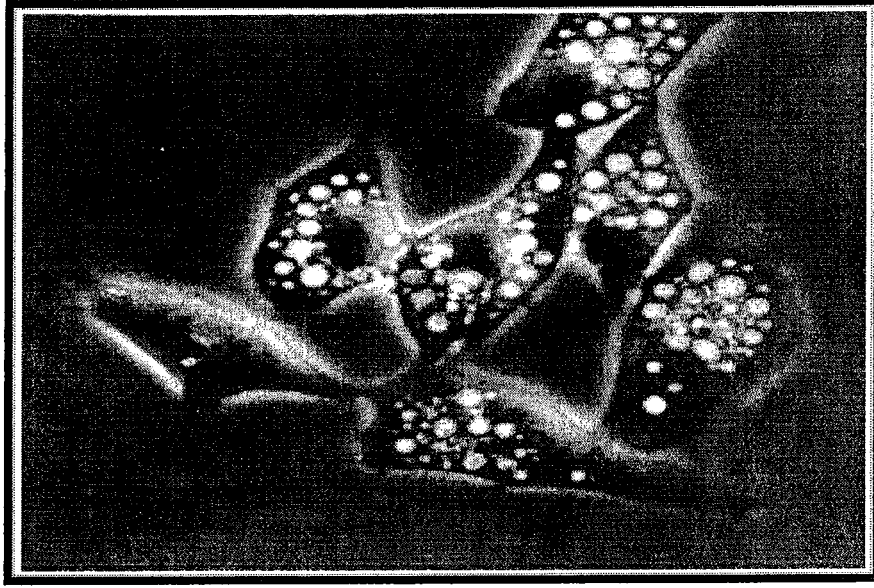
proteinleri ile aynı şifreyi içeren yeni bir *H. pylori* geni klonlanmış ve dizilimi çözülmüştür. Bu proteinler, prokaryot ve ökaryotlarda bulunan yüksek düzeyde korunmuş ATP'ya bağımlı proteaz ailesini oluşturmaktadırlar (8). ClpB'nin *H. pylori*'de oynadığı rol halen araştırılmaktadır.

Epitele temasla indüklenen gen (iceA): Peek ve arkadaşları (38) peptik ülserli hastalardan izole edilen suşlarda, insan gastrik hücrelerine adhere olduklarında indüklenen bir genin varlığını göstermişlerdir. Bu gen epitele temasla indüklendiği için iceA (induced by contact to epithelium) olarak adlandırılmıştır. IceA'nın iceA1 ve iceA2 olmak üzere iki varyantının olduğu bildirilmiştir. Bunlardan yalnızca iceA1'in epitele temasla indüklenmediği ve peptik ülser hastalığı ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. IceA1 sıklıkla peptik ülserli hastalarda gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar cagA, vacA S1/m1, iceA1 geni taşıyan *H. pylori* suşlarının daha virulan olduğu ve peptik ülserli hastaların sıklıkla bu suşlar ile enfekte olduğunu ortaya çıkarmıştır (36).

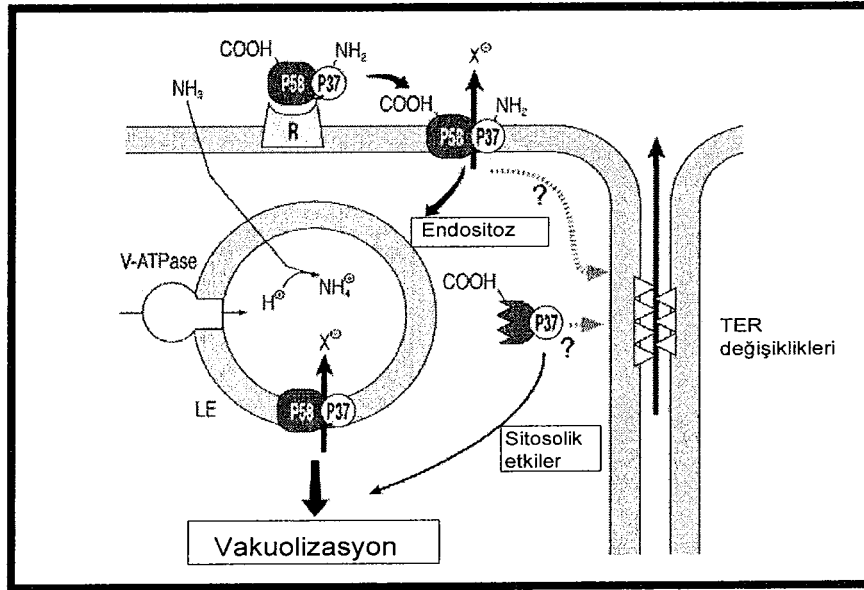
VacA (Vacuolating cytotoxin A): Gastrointestinal kanalda hastalık oluşturan bakterilerin çoğu, oluşturdıkları hastalıkların patogenezinde primer olarak rol oynayan çeşitli sitotoksinler salgılar. *H. pylori*'nin oluşturduğu mukozal hasarda da sitotoksinlerin önemli bir rolü vardır. *H. pylori*, in vitro olarak, epitel hücrelerinde çeşitli morfolojik değişiklikler oluşturabilmektedir. Leunk ve ark. tarafından *H. pylori*'nin, epitel hücrelerinde vakuollerin oluşmasına neden olan bir toksin salgıladığı saptanmış ve buna vacA adı verilmiştir. Epitelyal hücrelerin içinde elektron mikroskopisi ile görülebilen vakuoller oluşmasından sorumlu 90 kDa ağırlığındaki bu protein *H. pylori* türlerinin yaklaşık %60'ında sekrete edilir. *H. pylori* ile ilişkili düodenal ülserli'lerin hemen hemen tümünde rastlanmaktadır (Resim 5) (8,39).

Bu toksin, İn vitro koşullarda, vacA geç endozomik bölümdeki vakuoler tipteki ATPaz üzerinde uyarıcı ve hücre zarları düzeyinde Na akışını düzenleyen P tipi ATPaz üzerinde de inhibe edici bir etkide bulunmaktadır. Hücre membranlarındaki iyon geçişini etkiler ve hücrenin ölümüne neden olur. Bu toksinin in vivo olarak da vakuolizan etkisi gösterilmiştir (41) (Şekil 1).

Tüm *H. pylori* suşlarında vacA geni bulunur. Fakat, bu genin yapısındaki bazı farklılıklar nedeniyle, bazı suşlar vacA proteini salgılayamazlar ya da salgıladıkları protein toksik etki gösteremez (42).



Resim 5. Vac A'nın aktivasyonu ile HeLa hücrelerinde vakuolizasyon oluşumu (40)



Şekil 1. İn vivo vakuolizasyon oluşum mekanizması (41)

H. pylori'de bağımsız bir lokus olarak bulunan *vacA* geni, ülser ve gastrik adenokarsinom ile ilişkili olup, ökaryotik hücrelerde vakuol oluşumunu indükleyen salgısal bir proteini kodlar. Patojenik *H. pylori* suşları tarafından üretilen *vacA* gastroduodenal hastalıklarında önemli role sahip olduğu düşünülmektedir (43). *S. aureus* ve *E. coli* gibi por oluşturucu protein üreten ve bu yolla apoptozisi başlatan bakteriler bilinmektedir. *H. pylori* belirlenmiş olan çok çeşitli enzimleri ile gastrik

mukozal defansın mukus komponentine ve gastrik epitelin yüzeyine tahrip edici etkiye sahiptir. Ayrıca apoptozis üzerinde *H. pylori*'ninde benzer etkileri olmaktadır. Son zamanlarda *H. pylori*'nin mide epitelinde apoptozisi arttırdığı gösterilmiştir (44).

VacA'nın klinik tablolar üzerine vakuolizasyondan başka biyolojik etkileri de gösterilmiştir. Çok fonksiyonlu bir toksin olan vacA'nın, antijen sunumunu bozduğu, polarize tek tabaka epitelyal hücrelerde permeabilite artışına neden olduğu, CD95 reseptör ve ligand sistemini aktive ederek apoptozisi indüklediği ve hedef hücrenin intermediyer filamentleriyle etkileştiği bildirilmektedir (45). VacA pozitif *H. pylori* suşu ekstrelerinin invitro koşullarda epidermal büyüme faktörünün kültür hücreleri üzerindeki reseptörüne bağlanmasını engelleyerek mide hücresi proliferasyonunu önlediği bildirilmektedir. Buna göre invivo koşullarda sitotoksik organizmalar eroziv ve ülseratif lezyonlardaki iyileşme sürecini bozabilmektedir. Hayvan modellerinde saf toksinin gastrik epitelyal hasar ve mukozal ülserasyona neden olduğu saptanmıştır. Toksinin düşük pH değerlerine maruz kalmasının in vitro koşullarda hücre vakuolizasyonunu arttırdığı ve vacA bir kez etkinleştikten sonra pepsin saldırısına karşı direnç kazandığı yönündeki gözlem, *H. pylori*'nin mide koşullarına uyum sağlamak için özelleştiğini gösteren bir kanıttır. *H. pylori* enfeksiyonu tedavisinde asit salgısını azaltan ilaçların oynadığı rolün açıklanması da bu olabilir. Asit salgısının azalmasının, toksin etkileşmesi düzeyini düşürerek toksine bağlı mukoza zedelenmesini hafifletmesi, böylece de *H. pylori* lehindeki koşulların değişmesini sağlaması olasıdır. VacA, reseptör benzeri enzim ailesinin üyesi olan protein tirozin fosfataz reseptörüne (PTPδ) bağlanır. VacA-PTPδ ilişkisinin gastrik inflamasyon, hemoraji ve ülserogenez üzerine etkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (46).

VacA geninin işaret dizisi (s) ve orta dizi (m) bölgelerinin mozaik bir yapısı vardır. VacA geninin mozaik yapısı 3 işaret dizisinden (s1a,s1b,s2) birisi ile 2 orta bölge alelinden (m1, m2) birisini içermektedir. VacA, 90000 Mr'lık monomerler olarak salgılanmaktadır. Bunlar in vitro koşullarda yaklaşık 700000 Mr'lık polimerler olarak bulunmaktadırlar ve 90000 Mr'lık monomerler; 35000 Mr'lık ve 55000 Mr'lık iki parçaya ayrılabilir. Bu iki parçada kültürdeki hücrelere penetre olabilmekle birlikte, yalnızca 55000 Mr'lık altbirimin biyolojik etkinliği vardır (8,36,42). Bu farklılığın işlevle bağlantılı olduğu, s1/m1 geotiplerinin in vitro koşullarda daha fazla sitotoksin

etkinliği ekspresyonu yaptığı ve peptik ülserle daha fazla ilişkili olduğu, s2/m2 genotiplerinin sitotoksik olmadığı bildirilmiştir (36).

VacA proteini, asit pH ortamında biyolojik olarak daha aktiftir (47). VacA genotiplerinin *H. pylori*'nin oluşturduğu klinik tablolar ile ilişkisi, çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır. Yamaoka ve ark. (48) Japon hastalardan elde edilen *H. pylori* suşlarının %95'inden fazlasının s1/m1 genotipinde olduğunu ve genotipin, hastalığın oluşturduğu klinik (gastrit, ülser veya mide kanseri) ile ilişkisinin olmadığını saptamışlardır.

Saf vacA toksininin verilmesiyle, deney hayvanlarının midesinde mukozal lezyonların oluştuğu gösterilmiştir. Ancak, kronik *H. pylori* enfeksiyonu olan insanlarda, bu tür direkt hasar ve yaygın vakuolizasyon gösterilememiştir. Lokal olarak salgılanan IgA yapısındaki antikorların, toksinin aktivitesini nötralize ederek, mukozal hasarın oluşumunu önleyebildiği sanılmaktadır (49). Çin ve Tayvan'da vacA'nın s1/m2 allelik tipinin daha yaygın olduğu saptanmış ve vacA allelik tiplerinin hiçbirinde peptik ülser riskinde artma görülmemiştir (50). Buna karşılık, Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde peptik ülserli hastalarda vacA s1/m1 genotipindeki *H. pylori* suşlarının daha fazla bulunduğu saptanmış olup, bu suşların daha fazla ülserojenik oldukları kabul edilmiştir (51).

Sadece vacA pozitifliğinin, *H. pylori* enfeksiyonunun klinik seyri ile yakın ilişkisinin olduğunu söylemek oldukça zordur. Bu nedenle, vacA genotipinin belirlenmesinin klinik bir yararı olmadığı söylenebilir. Öte yandan, vacA ve sitotoksin ile ilişkili gen A'nın (cytotoxin-associated gene A) bir ürünü olan cagA'nın, sitotoksik *H. pylori* suşları tarafından genellikle birlikte eksprese edildiği gösterilmiştir. Vakuolize edici toksin etkisinin bir işaretleyicisi, 120-128 kDa ağırlığında bir diğerk proteini sentezleyen cagA geni, sadece vacA sitotoksik etki varlığında gözlenmektedir. Peptik ülserli hastalardan izole edilen *H. pylori* suşları, sadece kronik gastriti olanlara oranla çok daha fazla oranda vacA ve cagA'yi birlikte eksprese etmektedir (52).

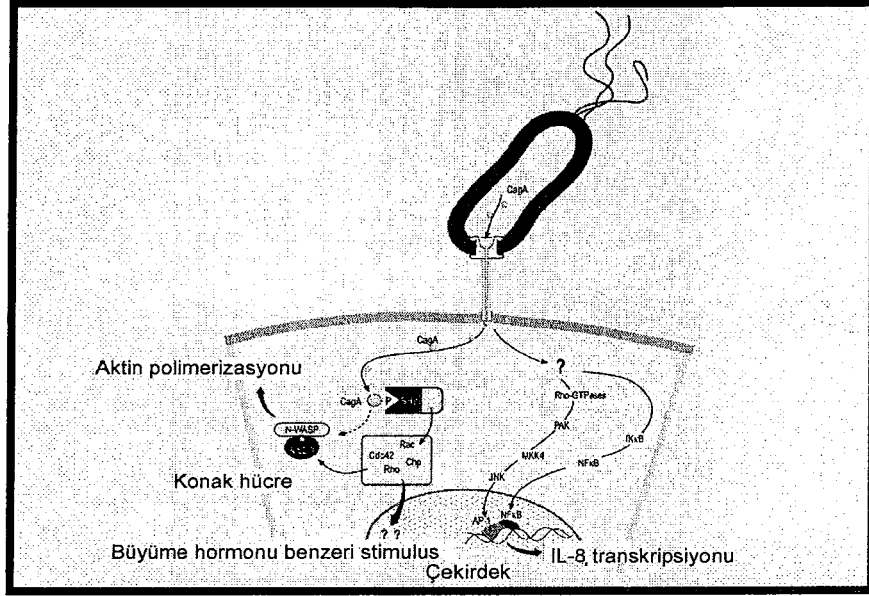
Bu nedenle, Xiang ve ark. (53) *H. pylori* izolatlarının tip I (vacA ve cagA pozitif) ve tip II (vacA ve cagA negatif) olarak iki gruba ayrılmasını önermiştir.

Sitotoksinle ilişkili gen patojenite adası (cagPAI): Sitotoksinle ilişkili gen patojenite adasının 3' ucuna yakın konumdaki gen tarafından kodlanan cagA, *H. pylori*'de virülans faktörlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar sırasında bulunmuş, immünodominant bir proteindir. VacA ile birlikte eksprese edildiği için "cytotoxin

associated gene A" (cagA) olarak adlandırılmıştır (8). Sitotoksinle ilişkili gen A protein, sitotoksik suşların çoğu cagA denen ve çok immunolojik olan bir protein üretirler. NCTC 11637 suş tipinin cagA proteini 128000 Mr'lık olmakla birlikte, değişik *H. pylori* suşlarında cagA proteini, 120000-140000 Mr arasında değişmektedir. CagA bulunan *H. pylori* izolatlarının %10'u sitotoksik değildir ve sitotoksik suşların %10 oranı da cagA taşımamaktadır (53).

Daha öncede bahsedildiği gibi *H. pylori* izolatları, cagA ve vacA ekspresyon durumlarına göre tip I ve tip II gruplarına ayrılmaktadır. Daha virulan özellikteki tip I izolatlar cagA ve vacA eksprese etmekte ve hücrelerde vakuolizasyona yol açmaktadır. Bu *H. pylori* suşlarının, şiddetli gastroduodenal hastalığı olan kişilerden izole edildiği bildirilmektedir. Tip II izolatların ise cagA genine sahip olmadıkları, kromozomlarında vacA homologu diziler bulunsalar da, hücrelerde vakuolizasyona yol açmadıkları belirtilmektedir (54). Bazı araştırmacılar, cagA ekspresyonunun, antijenik farklılık oluşturma ve immun sistemden kaçışı sağlama gibi fonksiyonlarına ek olarak, mukozada neoplastik değişikliklerin meydana gelmesinde de rolünün olduğunu öne sürmüşlerdir (55). Peptik ülser, mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfomaları ve mide adenokarsinomları ile ilişkili *H. pylori* suşlarının, tip IV sekresyon sisteminin bileşenlerini kodlayan bir patojenite adası içerdiği belirtilmektedir. Cag patojenite adası (cagPAI) olarak adlandırılan yaklaşık 40 kb büyüklüğündeki bu bölgede, 31 olası genin bulunduğu ve *H. pylori* kromozomal DNA'sından farklı bir kompozisyona sahip olduğu bildirilmektedir (54).

Cag patojenite adası adı verilen geni taşıyan *H. pylori* suşları ile oluşan enfeksiyonda, gastrik mukozadaki IL 8 düzeyinin ve nötrofilik infiltrasyonun belirgin derecede fazla olduğu gösterilmiştir (54). Ancak, bunun hastalığın klinik seyri ile ilişkisi net olarak ortaya konulamamıştır. *H. pylori*'nin bir dış membran proteini olan babA, bakterinin, mide epitel hücresi üzerindeki Lewis B kan grubu antijenlerine adezyonunda rol oynar. Fonksiyonel babA proteini, babA2 geni tarafından kodlanır. Az sayıda olgu üzerinde yapılan bir çalışmada, cagA, vacAs1 ve babA2'nin üçünün birlikte pozitifliğinin, duodenum ülseri ile %100 oranında korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (56). CagPAI bölgesi bulunan *H. pylori* suşlarının da konak hücrede sinyal aktarım yollarını aktive ettiği düşünülmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. *H. pylori*'nin konak hücreye sinyal aktarımı (56).

Yapılan in vitro çalışmalarda, cagA'nın hücre içine girmek için, tip IV sekresyon mekanizmasına gereksinim duyduğu belirtilmektedir. CagPAI tarafından kodlanan bu sistem tarafından hücre içerisine "enjekte" edilen cagA proteini tirozin fosforilasyon motifleri sayesinde büyük olasılıkla Src homoloğu bir protein kinaz ile bağlanarak fosforile olmaktadır. Bu kompleksin ökaryotik hücrede bir dizi sinyal iletim yolunu aktive edebileceği bildirilmektedir. CagPAI pozitif *H. pylori* suşlarıyla infekte olan kişilerde artmış sıklıkta mide adenokarsinomu ve MALT lenfoması görülmesi, patogeneizde nükleer sinyal iletim mekanizmalarının da rolü olduğunu düşündürmektedir (60). Konak epitelyal hücrelerine transloke olan cagA, ökaryotik fosfatazı aktive ederek konak hücre proteinlerinin defosforilasyonuna ve hücre morfolojik değişikliklere yol açar. Doğu Asya suşlarında predominant olarak bulunan cagA sekansları, çoğu Batı *H. pylori* izolatlarından farklıdır. CagA pozitif suşlarda, picA ve picB olarak adlandırılan ve organizmaların artmış inflamatuvar potansiyelinden sorumlu gibi görülen genomik bölgelerde bulunmaktadır. Aktif gastrit, peptik ülser ve preneoplastik yada neoplastik mukoza lezyonları bulunan hastaların çoğu, vacA ve cagA için pozitif suşlarla infektidir (8).

Midede *H. pylori* bulunması, mide mukozasında inflamasyon ile yerel ve sistemik antikor yanıtlarına yol açar. Duodenal ülserli hastaların ve aktif gastritli hastaların bir

çoğunda *cagA*'ya karşı mukozal IgA yanıtı saptanmış, ancak klinik önemi henüz gösterilememiştir (39).

H. pylori patogeneğinde bir çok nokta karanlıktır. *H. pylori* ile infekte olan insanların yalnızca küçük bir azınlığında ciddi gastroduodenal lezyonlar geliştirebilmesi, söz konusu hastaların virulan *H. pylori* suşları ile, basit kronik gastrit bulunup ülser yada kanser gelişmeyenlerin ise patojenik potansiyeli düşük organizmalarla infekte olmalarıdır. Bir süre önce suşların *vacA* ve *cagA* ürünü ekspresyonu yapabilmesine yada hiçbirinin ekspresyonunu yapamamasına dayanarak, izolatları güçlü ve zayıf patojen olarak ayıran bir sınıflandırma ortaya atılmıştır (53). Batılı ülkelerde fonksiyonel dispepsili hastaların %60-70'inde, peptik ülserli hastaların ise tamamında *cagA* pozitif *H. pylori*'nin kolonize olduğu gösterilmiştir. *VacA* ile *cagA* genlerinin ekspresyonu arasında henüz kesin bir bağlantı bulunamamıştır (53).

Dış inflamatuvar protein A (oipA): Dış inflamatuvar protein A'nın (oipA) fonksiyonel durumu peptik ülser hastalığının indikatörü olabilir. OipA fonksiyonel durumunun gastrit (nonfonksiyonel oipA) ve duodenal ülser (fonksiyonel oipA) ayırımını yapabildiği gösterilmiştir (58).

Diğer patojenik virulans faktörleri: Son zamanlardaki araştırma alanı, virulans genlerindeki genomik çeşitliliğin ayrıntıları ile açıklanması ve bunun gen ekspresyonu ve hastalık durumu ile olan ilişkisidir. Birçok *vacA* geni çeşidi bulunması, infeksiyonun klinik sonlanımı ile ilişkili bulunmuş ve hemoliz ile üreaz genlerinde de böyle bir durum olabileceği ileri sürülmüştür (8). *H. pylori* hemolitik geninin klonlanması ve özelliklerinin belirlenmesi, hücre hasarında ve infeksiyon sırasındaki inflamatuvar süreçte hemolizinlerin önem taşıyabileceği iddiasına olanak tanımıştır (59). Söz konusu antijenler, mide epitel hücrelerinde ekspresyonu yapılan insan kan grubu antijenlerine benzer yapıdadır. Lex yapısı, *H. pylori*'nin özel alanlarda uygun kan grubu antijenleri ile birlikte mide epitel hücrelerine tutunmasını düzenlemektedir. Bu da *H. pylori* tarafından uyarılarak ortaya çıkarılan ve infekte hastalarda insan mide mukozası ile çapraz reaksiyon gösteren otoantikor prevalansının yüksekliğinin açıklaması olabilir. Bu otoimmün mekanizma, hücre zedelenmesine ve gastrit gelişmesine yol açabilir (60). *H. pylori*'deki diğer enzimlerden, nöraminidaz ve fukosidaz üretilmesinin patojenlikle ilişkili olabileceği sonucuna varılmış çalışmalar vardır. Nöraminidaza maruz kalan nötrofiller endotele daha fazla yapışma eğilimi göstermektedir (61). Ayrıca bakteriler

tarafından konaktan demir alınması virulansa büyük katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte *H. pylori*'de uyarı ile ortaya çıkarılabilen dış zar proteinleri bulunmuş, bunların organizma tarafından tutulmasına katkıda bulunabileceği düşünülmüştür. Sonuçta *H. pylori*'ye ait bir proteini tanıyan mukozal T hücreleri ve *H. pylori* ile gastrik hücreler arasındaki immünolojik çapraz reaksiyon *H. pylori* patogeneğinde immun mekanizmaların önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir (62).

2.4 Plazmid

H. pylori suşlarının yaklaşık %50'si, büyüklükleri 1.5-40 kb arasında değişen plazmidler içerirler. Ancak bu plazmidlerin herhangi bir virulans faktörü taşıyıp taşımadıkları henüz belirlenememiştir (8).

Bu plazmidler yapılan pasajlarla kaybolabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, antibiyotiklere dirençli suşların plazmid profillerinin diğer suşlardan farklı olmadığı saptanmıştır. *H. pylori* de antibiyotik direnç genleri kromozomlarda lokalizedir. Gen haritasında çoklu genlerin değişken lokalizasyonları *H. pylori* genomunda etkin bir yeniden düzenlemenin gerekli olduğunu göstermektedir.

2.5 *H. pylori*'ye İmmunolojik Yanıt

H. pylori enfeksiyonu konakta sistemik, spesifik ve nonspesifik bir dizi yanıt oluşmasına neden olur.

2.5.1 Humoral İmmun Yanıt

Bakteriye karşı nonspesifik savunma mekanizmaları; mukus, sindirim enzimleri, lizozim, laktoferrin ve oral kavite ile midedeki diğer antimikrobial komponentlerdir. *H. pylori* midenin mukus bariyerini, spiral yapısı ve flagellası ile geçerek mide mukozasına ulaşmayı başarır. *H. pylori* mide mukozasına ulaştınca, epitel hücrelerinin birbirlerine temas ettikleri yerlere yapışır. Serbest kalan bakteriyel antijenler, kemotaksinler ve diğer komponentler özellikle PMNL ve makrofajları aktive eder. Daha sonra IL₁, IL₆, IL₈ ve TNF beta salgılanır. *H. pylori* antijenleri olgunlaşmamış B lenfositlerine sunulur. İlk antikor yanıtı IgM şeklindedir. Daha sonra IgA ve IgG antikorları salgılanır. IgM birkaç ay içinde kaybolur, IgA ise mide mukozasındaki lokal yanıtın bir parçasıdır ve daha uzun süreli kalır. Histamin midenin asit salgısını stimüle eder. Sistemik antikor

yanıtının en önemli komponenti IgG özellikle de IgG₁'dir. IgA'nın ise alt sınıfı IgA₁'dir. Bunlardan IgA antikorları *H. pylori*'nin mide epiteline yapışmasını engellerken IgG, kompleman fiksasyon ve aktivasyonda rol oynar. Kısa ömürlü olan IgG₂ ve IgG₄ yanıtları yeni bir infeksiyon lehine değerli bir bulgudur (11). *H. pylori*'ye karşı antibiyotik tedavisi sonucu eradikasyon sağlanırsa hem IgG hem de IgA düzeylerinde, eradikasyon sağlanmasa bile antijen yükü ile alakalı olarak IgA düzeylerinde düşüş gözlenir (22).

2.5.2 Hücresel İmmün Yanıt

Lipopolisakkarit (LPS) normal koşullarda immün yanıt oluşturmaktan sorumludur. LPS bakteriyi, konağın kendisi gibi algılamasına neden olarak bakterinin konağın immün yanıtlarından kaçmasını sağlar. Daha öncede bahsedildiği üzere bazı *H. pylori* suşlarındaki LPS O zincirindeki Lewis x ve y antijenleri insanlardaki mide epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan Lewis a ve Lewis b antijenlerine benzerlik gösterirler. Bu immün benzerlik konağın *H. pylori*'ye efektif immün yanıt vermesini engeller (63). Lamina propria'da dağınık T lenfositler ve epitelde birkaç intraepitelyal T lenfosit bulunur. *H. pylori* infeksiyonunda T lenfositler artar. Aktive edilen T lenfositleri kronik inflamasyonun genişlemesine neden olur. İnflamasyon kontrol altına alınamazsa devamlı epitel hasarı ile atrofik gastrit gelişir. Atrofik gastrit baskılayıcı mekanizmaların yetersiz çalıştığının göstergesidir.

T lenfositler ve sitokinler: VacA'nın T lenfosit fonksiyonlarını etkilediği gösterilmiştir. *H. pylori*'nin hücre iç membran ve vezikül trafiği üzerine büyüme ve IL-8 üretimini yavaşlatıcı etkisi vardır. Ayrıca IL-6'nın *H. pylori* infeksiyonu patofizyolojisi üzerine önemli etkileri vardır. Yapılan çalışmalar, aktif lökositlerdeki nükleer transkripsiyon faktörleri (NF-κB) aktivasyon sinyal yolu ile IL-6 üretim indüksiyonu için Hsp60'ın da önemli rolü olduğunu göstermektedir (64).

Toll-like reseptörler (TLR): Patojenle ilişkili immün moleküllerin doğal immün tanınmasında yer alan hücre yüzey molekülleri Toll-like reseptörlerdir. *H. pylori*'nin TLR2 ve TLR5'e bağlanarak, aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörleri aktivasyonunu indüklediğini gösteren çalışmaların yanı sıra, TLR4'ün *H. pylori*'ye inflamatuvar yanıtta yer aldığını gösteren çalışmalar vardır (64).

Epitelyal etkiler: *H. pylori* ile indüklenen epitel hücre sinyalizasyonu ve gastrik karsinogenez mekanizmaları bilinmektedir. Bu mekanizmalarda oluşan matriks metalloproteinaz-7 (MMP-7) patolojik epitel-matriks ilişkilerinde önemlidir ve gastrik kanserde artar. *H. pylori* MMP-7 ekspresyonunu artırır. Bu da cag PA1'na bağlıdır (64).

Apoptozis ve proliferasyon arasındaki denge: Apoptozis ve hücre proliferasyonu arasındaki kronik dengesizlik gastrik karsinogenezin ilk basamağıdır. VacA'nın da mitokondriyal hasar yoluyla hücre ölümüne neden olduğu bilinmektedir. CagA'nın ise p53 bağımlı apoptozisi bozma yoluyla MALT lenfoma gelişmesinde rolü olabileceği üzerinde durulmaktadır (65).

Nitrik oksit (NO) ve oksiradikaller: Bir çok in vitro çalışma epitelyal hücrelerdeki *H. pylori*'ye yanıt olarak indüklenebilen nitrik oksit sentaz (INOS) ekspresyon yolu ile NO üretim indüksiyonunu ve NF- κ B aktivasyonu ile yönlendirilen epitelyal hücre apoptozisi ile korelasyonu göstermiştir. Ancak in vivo olarak *H. pylori* ile infekte gastrik mukozada INOS'un bol miktarda ekspresyonuna karşın NO'nin *H. pylori* üzerine beklenen antimikrobiyal etkisi gözlenmemektedir. Yapılan çalışmalarda *H. pylori*'nin rocF geni ile kodlanan arginaz taşıdığı bunun da konak hücrelerde NO'ü üretimini inhibe edebildiği gösterilmiştir. *H. pylori* arginaz ökaryotik nitrik oksit üretimini azaltarak, bakterinin immün yanıtı kaçışına neden olur. Üreaz defektif mutantlarla yapılan çalışmalarda, INOS mRNA, protein ve nitrik oksit üretiminin önemli düzeyde azaldığı gösterilmiştir ki; bu bulgular *H. pylori*'nin önemli yaşam faktörlerinden üreazın nitrik oksit bağımlı mukozal hasar ve karsinogenezdeki yeni bir etkisini ortaya koymaktadır (63).

2.6 *H. pylori*'de Mukozal Hasar

H. pylori, mide epitelinin ve duodenal bulbustaki metaplazik gastrik epitelin yüzeyine kolonize olur ve burada kronik inflamasyona yol açar. *H. pylori*'nin daha önce belirtilen virulans faktörleri, kolonizasyonun sağlanması ve idame ettirilmesinde, inflamasyonun modülasyonunda ve gastrik mukozal hasarın oluşturulmasında direkt ya da indirekt olarak rol oynar.

Lipopolisakkaridler aracılığı ile oluşan mukozal hasar; *H. pylori*'nin lipopolisakkarid (LPS) yapısının da, enfeksiyonun patogeneğinde rolü vardır. *H. pylori*'nin LPS yapısı, diğer bakterilere oranla daha düşük bir immunolojik aktiviteye sahiptir. Bu

nedenle, oluşan sitokin, prostaglandin E2 ve nitrik oksit cevabı daha düşüktür. İn vitro çalışmalarda, *H. pylori*'nin LPS yapısının, mukus glikoproteinlerinin sülfatlanmasını etkilediği ve pepsinojen sekresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (66). Ortaya çıkan bu değişiklikler, mukozal hasarın oluşumuna katkıda bulunabilir.

İmmunolojik yolla oluşan mukozal hasar; *H. pylori*'nin oluşturduğu yangısal cevap, belirgin nötrofilik infiltrasyon, T lenfositlerin, plazma hücrelerinin, makrofajların varlığı ve sitokin üretiminin artışı ile karakterize olup, bakterinin eradike edilmesi için yeterli değildir. Hatta, oluşan yangısal reaksiyon, mukozal hasarın meydana gelmesinden de bizzat sorumludur. *H. pylori* enfeksiyonuna karşı oluşan ilk cevap, nötrofil infiltrasyonudur. Nötrofillerden salınan proteolitik enzimler ve reaktif oksijen metabolitleri, doku hasarının oluşmasında önemli rol oynarlar. *H. pylori*, nötrofil kemotaksisine ve aktivasyonuna yol açar. Daha öncede bahsedildiği gibi mide epitelinde oluşan inflamasyonun direkt etkisiyle, güçlü bir nötrofil kemotaktik ajan olan IL-8 gibi kemokinler salgılanır. Bu kemokin cevabı, cagA pozitif *H. pylori* suşları tarafından oluşturulmaktadır (52).

H. pylori enfeksiyonunda, nötrofil infiltrasyonu ve makroskopik mukoza hasarı ile direkt olarak ilişkili olan reaktif oksijen metabolitlerinin de arttığı gösterilmiştir (70). Mukozal hasarda potansiyel rolü olan diğer bir mediyatör, nitrik oksidin superoksit ile interaksiyonu sonucu ortaya çıkan ve güçlü bir oksidan özelliği olan peroksinitrit'tir. Duodenal ülserli hastaların antrum mukozasında, sadece kronik gastriti olanlara oranla nitrik oksid sentaz aktivitesinin artmış olduğu gösterilmiştir (68). Nitrik oksid, karsinojenik etkiye sahip nitrozaminlerin meydana gelmesine yol açabilir. Ayrıca, epitel hücrelerinde apoptozis oluşturur (69). *H. pylori*'nin mide mukozasında antijen spesifik T ve B hücre cevabını arttırdığını gösteren bulgular da vardır (70). Kronik gastritli hastalardan izole edilen mukozal T hücrelerinin interferon gama sekrete etmesine karşılık IL-4 salgılamaması, *H. pylori*'nin Th1 cevabını stimule ettiğini göstermektedir (71). Kronik gastritte, plazma hücreleri artar ve gastroduodenal mukozada *H. pylori*'ye spesifik IgG yapısında antikorlar meydana gelir. Oluşan IgG cevabı, kompleman aktivasyonunun ardından, immün kompleks aracılığıyla, mukozal hasar oluşumuna katkıda bulunabilir (72).

Daha önce de bahsedildiği gibi *H. pylori* ile mide mukozası arasında çapraz reaksiyon veren epitoplara varlığı, *H. pylori* enfeksiyonunda, immün mekanizmalarla oluşan

mukozal hasar yaptığı düşünülmektedir. *H. pylori* infeksiyonunda gastrik otoantikorların varlığı ile atrofi gelişimi arasında da ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Lewis Y antijeni, özellikle cagA pozitif *H. pylori* suşlarında bulunmuştur. Ayrıca bir çalışmada *H. pylori*'nin hsp60 proteininin de insan hsp60 proteini ile oldukça benzer yapıda olduğu ve otoimmün cevap oluşturabileceği düşünülmüş, ancak kanıtlanamamıştır (73).

2.7 *H. pylori*'nin Üst GİS'de Yaptığı Hastalıklar

2.7.1 Gastroözefajial Reflü Hastalığı (GÖRH)

Son zamanlarda *Helicobacter pylori* infeksiyonu ve gastroözefajial reflü hastalığı (GÖRH) arasındaki ilişkiyi inceleyen çok sayıda araştırma yayınlanmıştır. Bu çalışmaların bir kısmında *H. pylori* infeksiyonunun GÖRH'e karşı koruyucu bir rolü olmadığı gösterilirken (74), bazılarında da bu organizmaya bağlı infeksiyonun reflü hastalığını ortaya çıkarabileceği veya daha önce var olan reflü hastalığını alevlendirebileceği vurgulanmıştır (75). Bundan önceki bazı yayınlarda *H. pylori* infeksiyonu varlığında GÖRH oluşumunu kolaylaştırabilecek patofizyolojik mekanizmalar tanımlanmış olmakla birlikte, günümüzdeki epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar *H. pylori*'nin GÖRH'e karşı daha ziyade koruyucu bir rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Batı toplumunda *H. pylori* infeksiyonu sıklığındaki azalmayla birlikte GÖRH insidansının artması, *H. pylori* infeksiyonunu GÖRH gelişimine karşı koruyucu rol oynayabileceği şeklinde bir düşüncenin ortaya çıkmasına yol açmıştır. Epidemiyolojik çalışmalarda CagA pozitif *H. pylori* infeksiyonun sık olarak görüldüğü Çin' de (>%80) özofajit insidansının düşük olduğu (%5) bilinmektedir (76). Ayrıca Asya ırkında *H. pylori* infeksiyonunun daha sık olmasına rağmen, özofagusda Barrett epitel ve adenokarsinom gelişimi gibi komplikasyonların beyazlarda Asya ırkına nazaran daha sık görüldüğü saptanmıştır (77). Bu epidemiyolojik bulgular daha sonra yapılan bazı klinik çalışmalarda *H. pylori* eradikasyonu yapılan her dört duodenum ülserli hastanın birinde reflüözofajiti geliştiğinin gösterilmesi ile daha da güç kazanmıştır (74).

Sonuç olarak bugün için GÖRH'ün şiddeti ile *H. pylori* varlığı arasında tersine bir ilişki olduğu genelde kabul gören bir görüştür. *H. pylori*'nin GÖRH üzerindeki etkisinde muhtemelen bakterinin oluşturduğu gastritin lokalizasyonu önemli bir rol oynamaktadır.

H. Pylori eradikasyonundan sonra GÖRH gelişmesi önemli bir problem gibi görünmektedir. *H. pylori* eradikasyonu GÖRH tedavisinde antisekretuar tedaviye cevabı azaltırken *H. pylori* infeksiyonu varlığında yapılacak uzun süreli antisekretuar tedavide gastrik atrofi gelişimini hızlandırabilmektedir. Eğer bu organizmanın belirli tiplerinin GÖRH'e karşı koruyucu olduğu fikri kesinlik kazanırsa gelecekte bu bakterinin eradikasyonuna yönelik tedavi stratejilerinde değişiklik olabileceği söylenebilir (78).

2.7.2 Gastrit

Gastrik mukozada görülen inflamatuvar patolojileri içine alan gastrit için, bugüne kadar bir çok sınıflandırmalar kullanılmıştır. Bunlar arasında eroziv, noneroziv ve spesifik histopatolojik değişikliklerin olduğu sınıflandırma (yüzeyel, diffüz yada panmukozal, atrofik), morfolojik, topografik (tip A, tip B), patogeneze ve/veya klinikle ilgili sınıflandırmalar gibi değişik klasifikasyonlardan sonra en son olarak da Sydney sistemine göre sınıflandırma yapılmıştır. 1990'da Sydney Klasifikasyon Sistemi ile gastrit etyopatogenezinde artık *H. pylori*'nin varlığı da dikkate alınmış ve gastrik patolojiler, histopatolojik ve endoskopik olarak iki grupta toplanmıştır. Bu sistemde gastritler, akut, kronik ve spesifik olarak klasifiye edilmiştir. *H. pylori*'nin gastrik dokuda yaptığı hasara ilişkin immunolojik ve patolojik deliller mevcuttur. Bu nedenle *H. pylori*; direkt ve indirekt yollarla gastrik mukozal hasara yol açmaktadır (8).

H. pylori, genellikle yamalı tarzda dağılım gösterir. Biyopsi örneklerinde mukozal hücrelerde normal yapının kaybolması, hücrelerin düzensiz olarak dizildiği ve mukus içeriğinin azaldığı, bununla birlikte Lamina propria'nın kronik inflamasyon hücreleri ile infiltre olduğu gözlenir (8).

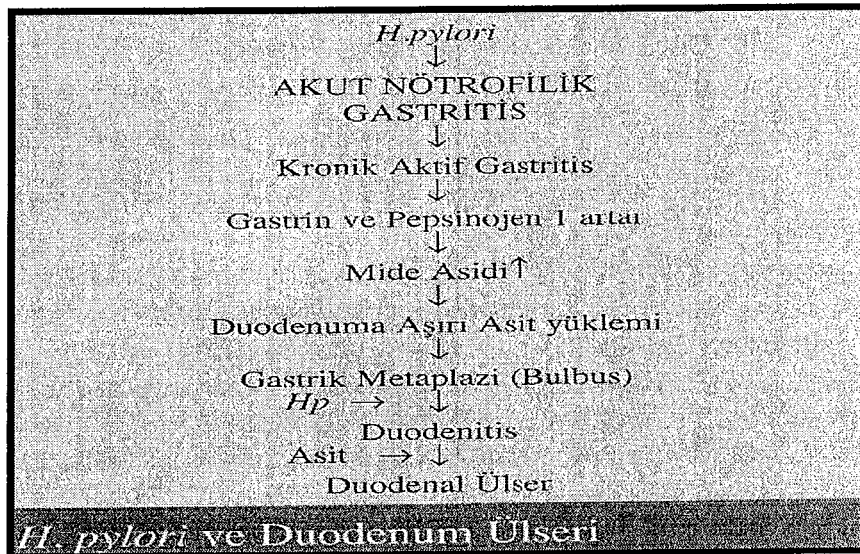
2.7.3 Mide Ülseri (MÜ)

H. pylori ile mide ülseri arasındaki ilişki duodenal ülserde olduğu kadar açıkça ortaya konulamamıştır. MÜ'li hastaların %70'inde *H. pylori* pozitif bulunmuştur. Geri kalan %25 vakada nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç kullanımı, %3 vakada Zollinger-Ellison sendromu, %2 vakada diğer faktörler suçlanmıştır. İnfeksiyonun kaldırıldığı olgularda ülser nüksü oranında belirgin bir azalma görülmüştür (8).

2.7.4 Duodenal Ülser (DÜ)

Mukozadan başlayarak muskularis mukozayı da içine alan lokalize bir doku kaybı olan ülser, kronik gidişli ve tekrarlayıcı bir hastalıktır. Agresif faktörlerle doğal savunma mekanizmaları arasındaki dengenin bozulması sonucu gelişir. DÜ, etyopatogenezinde çok sayıda etmenler belirtilmiştir; parietal hücre kitlesinde artış, bazal asit sekresyonunda artış, postprandiyal asit ve gastrin sekresyonunda artış, asit ve gastrin sekresyonunun inhibisyonundaki azalma, mide boşalmasında hızlilik, duodenal asit yüklemede artış, mukozal direncin azalması, genetik ve çevresel faktörler (*H. pylori*, sigara, NSAİİ, stres), endojen faktörler (safra, lisesitin), birlikte bulunan kronik hastalıklar, ilaç kullanımıdır (Tablo 3). Yani mukoza hasarına yol açabilecek agresif faktörler ile mukoza bütünlüğünü sağlayan defansif faktörler arasındaki dengenin agresif faktörler lehine bozulması sorumludur. Kısaca ülser oluşmasına katkıda bulunan etmenler arasında gastrin-somatostatin-asit sekresyon aksı, duodenumda gastrik metaplazi, mukozal barier, epitelyal aderans ve inflamatuvar cevap, ülserojenik suşların spesifik virulansı, NSAİİ ile *H. pylori* etkileşimi sayılabilir. DÜ'li hastaların %95'inde antrumda inflamasyon ve *H. pylori*'nin bulunması, *H. pylori*'nin DÜ etyopatogenezindeki önemini göstermektedir (8). Ülser oluşumunda *H. pylori*'nin rolü son derece komplekstir. *H. pylori* infeksiyonu ve ülser arasındaki ilişki kabul edilmekte, ancak patogenetik mekanizmalar hakkında kesin bir bilgi henüz bulunmamaktadır.

Tablo 3. *H. pylori* ve duodenum ülseri arasındaki ilişki (8)



Gastrin homeostazindeki değişikliklerin *H. pylori* eradikasyonu ile normale döndüğü bilinmektedir. *H. pylori* eradikasyonundan sonra, antral somatostatin konsantrasyonu ve antral D hücre yoğunluğu anlamlı ölçüde artar, antral gastrin seviyeleri azalır. Fakat asit hipersekresyonu daha yavaş azalır. *H. pylori* negatif hastalarda DÜ hastalığı son derece nadirdir (8).

2.7.5 Nonülser Dispepsi (NÜD)

NÜD'de organik sebepler yoktur. *H. pylori* prevalansı yüksektir. Hastalarda irritabl kolon semptomları da görülür. Semptomların nedeni ve mekanizması açık değildir. Araştırmacılar, psikososyal faktörle, gastrointestinal hipersensitife, gastrik asit hipersekresyonu, *H. pylori* infeksiyonu, gastroduodenal motilite, barsak uyarılarının algılanması sonucu geliştiiğine inanırlar. *H. pylori* gastriti ile gastroduodenal motilite anormallikleri arasındaki ilişkiyi gösteren bazı kanıtlar olsa da, önemli boyuttaki motor bozukluklarla ilgili bir bulgu yoktur. Nonülser dispepsi (NÜD) ile kronik aktif gastritin birlikteliği değişkendir ve hastaların %43-87'inde görülür (8). NÜD'de;

- 1) Reflü benzeri semptomlar (yanma, regürjitasyon),
- 2) Ülser benzeri (epigastrik ağrı),
- 3) Motilite benzeri (bulantı, kusma, erken tokluk hissi, anoreksi, şişkinlik, geğirme, üst abdominal rahatsızlık gibi) semptomlar görölmektedir.

Bu hastalara kesin bir tedavi tarif edilmemiştir. *H. pylori* tedavisi, NÜD'de halen tartışmalıdır. NÜD'nin sıklığı ve coğrafi dağılımı hakkında veriler yetersizdir. NÜD ile *H. pylori* ilişkisini gösteren çalışmalar azdır. Buna rağmen düşük *H. pylori* prevalanslı gelişmiş ölkelerdeki NÜD'li hastalar ve çocuklarda *H. pylori* prevalansı kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur (8) .

NÜD ile *H. pylori* arasındaki ilişkiler hakkında bilgiler çelişkilidir. NÜD'nin tedavisinde *H. pylori* eradikasyonu halen tartışılmakla birlikte, diğer tedavilerden sonra yapılacak alternatif bir tedavi olarak kabul görölebileceği bildirilmektedir (8).

2.7.6 Mide Kanseri

Mide kanserleri, dünyada kanserle ilgili ölüm nedenlerinin arasında önemli bir yeri vardır. En yüksek insidans Japonya'dadır. Eğer *H. pylori* başlangıç mekanizmalarında tetik çeken bir faktörse, eradikasyonla yada aşı ile kanser insidansının azalıp

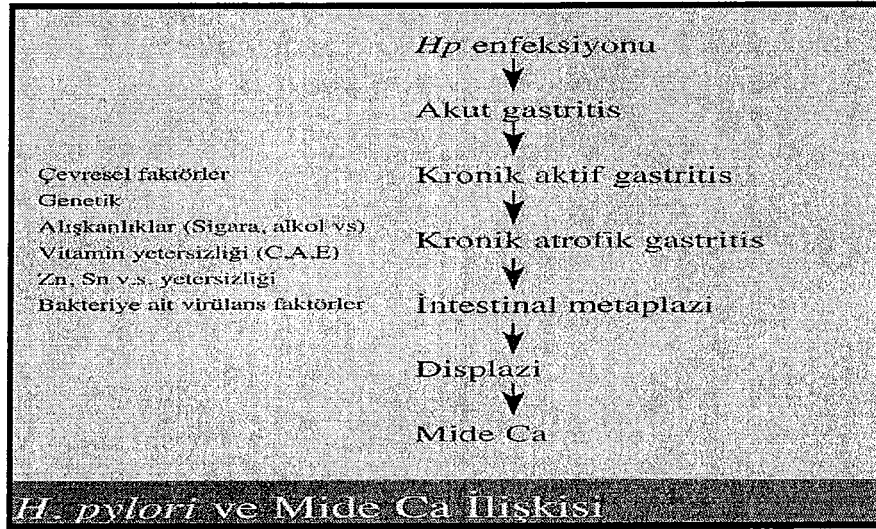
azalmayacağını zaman gösterecektir. *H. pylori*, kronik gastrit, peptik ülser, gastrik adenokanser ve Mucosa Associated Lymphoid Tissue (MALT) lenfoma gelişiminde birinci derece sorumlu olduğu kanıtlanmış bir bakteridir. Mide kanseri ile arasındaki ilişki bir dekadı aşkın süredir bilinmektedir (79).

H. pylori, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı tarafından 1994 yılında epidemiyolojik verilere dayanarak grup 1 karsinojen (kesin karsinojen) olarak tanımlanmıştır (80). Ancak *H. pylori* mide kanserlerinin %75'inden sorumlu tutulmakla beraber, infekte kişilerin yalnızca küçük bir bölümünde (%1-3) mide kanseri geliştiğinden, gastrik karsinogeneizde oynadığı rol tam anlaşılmış değildir.

Epidemiyolojik veriler, *H. pylori* infeksiyonunun yüksek insidans gösterdiği toplumlarda mide kanseri insidansının da yüksek oranda bulunduğunu göstermiştir. Serolojik çalışmalar *H. pylori* infeksiyonu varlığında mide kanseri gelişme riskinin ortalama 3-6 kat arttığını göstermiştir (81). Serolojik, histolojik ve mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak yapılan değişik çalışmalarda, gastrik kanserli hastalarda *H. pylori* infeksiyonu prevalansının %21-100 oranında bulunduğu gösterilmiştir (82,83).

Genellikle hijyen şartlarının kötü olduğu ve *H. pylori* infeksiyonunun erken yaşlarda edinildiği durumlarda gelişen antral gastrit zaman içinde gastrik atrofiye yol açmakta, bunun sonucunda oluşan intestinal metaplazi ve hipoklorhidri ileri yaşlarda mide kanseri gelişmesi için risk oluşturmaktadır. *H. pylori* ile meydana gelen kronik inflamasyon sonucu, midede intestinal tip epitelyum normal mide mukozasının yerini alması ile asit sekresyonu azalmakta ve diğer bakterilerin kolonize olması için uygun ortamı sağlamaktadır. Bu bakteriler nitratları nitrite dönüştürmekte ve karsinojenik olarak kabul edilen nitrozaminlerin oluşumuna yol açmaktadır (84).

H. pylori infeksiyonunun bu gibi etkilerinden başka diğer bazı faktörlerinde (diyet ve çevresel etkenler) karsinogeneizde etkilerinin olabileceği ve yine *H. pylori* infeksiyonunda mide suyunda vitamin C seviyelerinin düştüğü, böylece vitamin C'nin antioksidan ve nitrazamin oluşumunu azaltıcı etkisinin zayıfladığı bildirilmiştir (85) (Tablo 4). Ayrıca *H. pylori*'nin cagA genini eksprese eden suşları daha ağır inflamasyona yol açabilir ve mide kanserli hastalarda daha yaygın olabilir. Seroepidemiyolojik bir çalışmada cagA pozitif suşlarla infekte hastalarda mide kanseri gelişme riskinin, infekte olmayanlara göre 5.8 kat yüksek olduğu bulunmuştur (79). Bu ilişkiyi doğrulamayan çalışmalar da vardır (86).

Tablo 4. *H. pylori* ve Mide karsinomu arasındaki ilişki (8)

Mide kanseri dünya üzerinde yaygın bir ölüm nedeni olarak kalmaya devam etmektedir. *H. pylori*'nin mide kanserinin önde gelen nedeni olduğunun ortaya çıkarılması, etkili eradikasyon stratejilerinin oluşturulması ile sonuçlanmıştır. Etkili eradikasyon ve yaşam koşullarının düzelmesi ile enfeksiyon oranının azalması, batı ülkelerinde mide kanseri oranlarının azalması ile sonuçlanmıştır, fakat bu hastalık dünyanın başka bölgelerinde önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir (87).

2.7.7 Mucosa Associated Lenfoid Tissue (MALT) Lenfoma

Primer gastrointestinal Hodgkin hastalığı son derece nadirdir. B ve T lenfosit kökenli olabilir. Düşük dereceli B hücreli gastrointestinal lenfomaların çoğu MALT tipindedir (92). 1980'de Isaacson ve Wright düşük dereceli B hücreli gastrointestinal lenfomaların, diğer düşük dereceli nodal lenfomalardan farklı histolojik özellikleri olduğunu ve bunların MALT dokusuna benzediğini belirtmiştir. Batı ülkelerinde MALT lenfomalar en sık midede görülür. İntestinal MALT lenfomalar daha azdır. Normalde organize lenfoid doku içermeyen mide, MALT lenfomanın sık görüldüğü organdır (8).

Düşük dereceli gastrik MALT lenfomalar, yaşlılarda siktir, fakat gençlerde de bildirilmektedir. Klinik özellikleri neoplazmdan çok gastrit yada ülseri düşündürmektedir. Düşük dereceli gastrik MALT lenfomalarla yapılan çalışmalarda, neoplastik lenfositlerin *H. pylori* antijenlerine cevap olarak oluştuğu gözlenmiştir. Bu

yanıt intratümöral T hücreleri yoluyla olur. Düşük dereceli B hücreli gastrik MALT lenfoma ile *H. pylori* ilişkisi de infeksiyon olmayanlardan 6 kat fazla bir risk taşıdığı bildirilmiştir. İn vitro çalışmalarda, infeksiyon T hücrelerini aktive eder oda B hücrelerinin proliferasyonuna yol açtığı tespit edilmiştir (70). MALT lenfoma vakalarının %72-98'inde *H. pylori* pozitif olarak bulunmuştur (8).

Medikal tedavi ile *H. pylori* eradikasyonunun, MALT lenfoma vakalarında klinik, morfolojik ve endoskopik olarak sağladığı olumlu yanıt *H. pylori*'nin T hücreleri üzerine olan etkisini ortadan kaldırarak, dolaylı olarak B lenfositlerin monoklonal proliferasyonunu durdurması ile açıklanmaktadır. Bu verilere dayanılarak düşük dereceli MALT lenfoma vakalarında *H. pylori* eradikasyonunun yapılması görüşü ortaya çıkmıştır (88).

2.8 Tanı

H. pylori infeksiyonlarında tedaviye yönelik tanı, *H. pylori* Avrupa çalışma grubunun Maastricht toplantılarında karara bağladığı ve 2000 yılında modifiye edilen tanı tedavi rehberinde belirlenmiştir. Doğru ve erken tanı; tedaviye erken başlanması kadar, hastanın takibi ve dirençli suşların tespiti ile tedavi başarısızlıklarının en aza indirilmesi yönünden gereklidir. Avrupa *H. pylori* çalışma grubunun Maastricht konsensus kriterlerinde *H. pylori* infeksiyonlarının sıklığı dikkate alınarak gelişmekte olan ülkelerde, hastanın klinik yakınmaları, fizik muayene ve ancak gerekli görülürse yaşlı, kanamalı, ağır kilo kaybı gözlenenler gibi risk gruplarındaki endoskopik bulgular, tanı ve tedaviye karar vermek için yeterli görülmüştür. Ancak geçen 10 yıl içerisinde standart tedavi içerisinde yer alan metranidazol ve klaritromisin gibi antibiyotiklere karşı özellikle gelişmekte olan ülkelerde artan oranlarda direnç gelişmesi, Maastricht konsensusunun bu ülkeler için çok da gerçekçi olmadığını, akılcı yaklaşımın, mikrobiyolojik tanı ve ve direncin takip edilerek tedavi protokollerinin ihtiyaca göre derhal modifiye edilmesine bağlı olduğunu göstermiştir (89).

Mikrobiyolojik tanıda altın standart olarak kabul edilen mikroorganizmanın in vitro şartlarda üretilerek tanımlanması, gerek zenginleştirilmiş besiyerlerinde mikroaerofilik şartlarda bile geç ve güç üreyen mikroorganizma, gerekse uygun örneğe ulaşamama ve taşıma esnasında yaşanan olumsuzluklar gibi sebeplerden dolayı kullanım alanı bulamamıştır. Bütün iyileştirme çabalarına rağmen, modifiye

zenginleştirilmiş besiyerleri ile personelin tecrübesine de bağlı olarak duyarlılıkları %77-92'lere çıkarılan kültür yöntemleri, izole edilen suşların antibiyotik direncinin tespiti için hala standardize edilememiştir. Agar dilüsyon, disk diffüzyon ve E-testi gibi testlerin kendi aralarında ve klinik cevabla uyuşmayan sonuçları, daha duyarlı ve güvenilir alternatif tanı yöntemlerine olan ihtiyacı artırmıştır (90). Bu nedenle serolojik yöntemler, bakteri metabolizmasına ait son ürünleri araştıran yöntemler, histokimyasal veya immuno-histokimyasal boya yöntemleri ve bakteriye ait spesifik, virulans ve antibiyotik direncini ortaya koyan nükleik asit dizilerini ve muhtemel mutasyonları gösteren moleküler yöntemler geliştirilmiştir.

Non-invaziv ve invaziv testler olarak iki başlık altında toplanan bu yöntemlerin seçiminde; yöntemin sensitivite ve spesifitesi, hızı, uygulama kolaylığı, maliyeti gibi parametrelerin yanı sıra tanı konulacak hastanın yaşı, klinik yakınmaları ve herhangi bir antibiyotik veya antiasit kullanıp kullanmadığı dikkate alınmaktadır. Maastricht 2.2000 konsensus kararlarında tanı yöntemlerinde sağlanan gelişmelerin yanı sıra antibiyotiklere karşı direnç gelişimi de dikkate alınmıştır. Bu yeni düzenlemeye göre, enfeksiyonun sık görüldüğü bölgelerde 45 yaş altındaki hastalarda kanama, kusma, istahsızlık, anemi ve kilo kaybı gibi semptomlar yoksa, tanı değeri çok önemli olmakla beraber pahalı ve zaman alıcı olması sebebi ile üst endoskopi bazlı invaziv testler yerine, gaitada *H. pylori* antijenlerinin araştırıldığı veya nefeste işaretli CO₂ moleküllerinin ölçüldüğü üre nefes testleri (ÜNT) gibi non-invaziv testler önerilmektedir. Ancak endemik bölgelerde veya alarm semptomların görülmesi halinde üst endoskopik girişim ve biyopsi bazlı invaziv testler önerilmektedir.

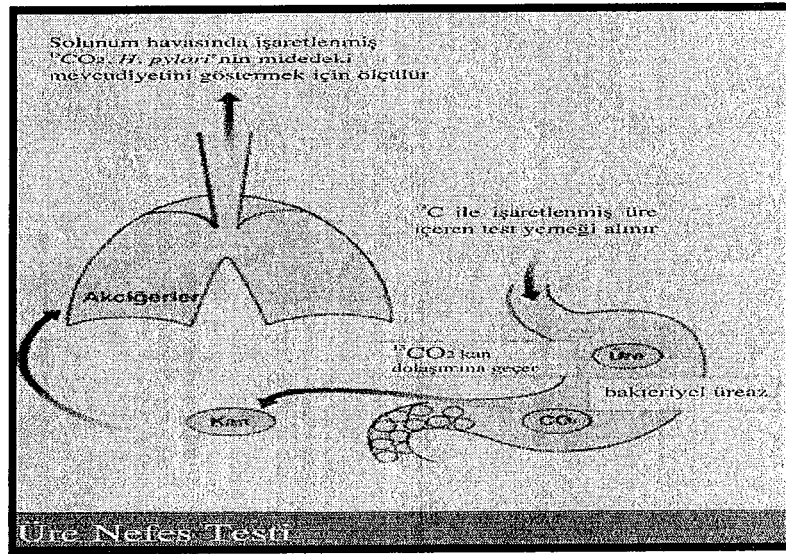
Bununla birlikte *H. pylori* ve ilişkili gastroduodenal hastalıkların %80'lere varan yüksek insidanslarda seyrettiği, tedavi maliyetlerinin pahalı olması sebebi ile uygulanmadığı gelişmekte olan ülkelerde bu tür uygulamalar tedavide başarısızlık ve reaktivasyonları artıracaktır (90).

2.8.1 Non İnvaziv Testler

Bu grup içerisinde üre nefes testi (ÜNT) gibi metabolik, hasta serumunda antikor tespitine yönelik serolojik, dışkıda *H. pylori* antijenlerini tespit eden immunolojik testler ile dışkı ve diş taşlarında nükleik asit dizilerini arayan nükleik asit çoğaltma yöntemleri yer almaktadır (9).

Üre Nefes Testi (ÜNT): *H. pylori* infeksiyonunun tanısında ve eradikasyon tedavisinin takibi amacıyla kullanılır. Tedaviye cevap vermeyen veya tekrarlayan gastroduodenal yakınması olan hastalarda tanı amacı ile önerilir (8).

H. pylori'de bulunan üreaz enziminden yararlanılır. Üreaz enzimi ile açığa çıkan ürenin saptanması prensibine dayanır. Hastaya ağız yoluyla radyoaktif işaretli üre verildikten sonra bakterinin üreaz enzimi ile parçalanan üreden amonyak ve işaretli karbondioksit gazı oluşur ve solukla atılır (Resim 6).



Resim 6. Üre nefes testi aşamaları (8)

Dolaşıma geçen karbondioksit gazı solunum yoluyla atıldığı sırada ölçülür. ^{14}C solunum testinde sintilasyon sayıcısı, ^{13}C solunum testinde ise kütle spektrometrisi kullanılmaktadır. ^{14}C daha ucuz fakat radyoaktifdir. ^{13}C ise non-radyoaktif ve tamamen zararsızdır, fakat daha pahalıdır. Üre nefes testleri %90-95'den fazla duyarlılık ve özgüllükle özellikle taramada ve takip için mükemmeldir (8). Çocuklar ve gebeler-de bile güvenle kullanılan ^{13}C işaretli üre soluk testleri non-invaziv testleri için altın standarttır (Tablo 5). Bu test, yüksek özgüllükte ve duyarlılıktadır. Biyopsiye dayalı yöntemlerin tersine, üre nefes testi, bakterilerin midedeki dağılımı dağınık yamalar biçimindeyken bile *H. pylori* varlığını değerlendirebilir. Üre nefes testi, tedaviyi takiben en az 4 hafta sonra takip amacı ile de kullanılabilir. Bakteriyel eradikasyon olsun olmasın, üreaz enziminin oluşumunu baskılayan antibiyotikler, bizmut tuzları ve

omeprazol kullanımı yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Gastrik rezeksiyon geçirenlerde substrat ile bakteri kontakt zamanı kısa olduğu için testin sensitivitesi azalır (8).

Tablo 5. ^{13}C - ve ^{14}C üre nefes testleri arasındaki farklar (8).

	^{13}C -ÜNT	^{14}C -ÜNT
Sensitivite	% 90-100	% 90-100
Spesifite	% 90-100	% 90-100
Radioaktif madde kullanımı	Yok	Var

Epidemiyolojik çalışmalar için serolojik testler daha uygundur. Asit salgısını baskılama tedavisi sırasında nefes testleri güvenilir sonuçlar verebilir. En önemli yetersizliği ileri incelemeler (antimikrobial duyarlılık testi, tipleme) için *H. pylori* üretilmemesidir. İzotop oranı kütle spektroskopisi maliyetinin yüksek olması kullanımını kısıtlamaktadır.

Serolojik Testler: Serolojik yöntemler ucuz, uygulanması kolay, hızlı ve noninvazifdir. Seroloji, başlıca toplum ve aile taramalarında kullanılır (8). Test doğruluğundaki farklılıklar, çeşitli antijenlerin kullanımıyla açıklanabilmekle birlikte farklı suşların değişik bağışıklık yanıtlarına neden olması ile de açıklanabilir.

Gastrik *H. pylori* infeksiyonlarında hastanın serum, tükürük, idrar ve gastrik sekresyonlarında serolojik testlerle tespit edilebilir düzeylerde spesifik antikorlar açığa çıkar. Antikorlar spontan eradikasyonu sağlamaz, ancak tanıda önemli bir kriter olarak önem taşırlar. Son derece ucuz olan serolojik testlerle serumda IgG ve IgA, sekresyonlarda ise IgA ve IgM türü antikorların tespiti tanıya yardımcı olabilir (91). Ancak, antibiyotik ve/veya bizmut tuzları veya proton pompa inhibitörlerinin kullanımına bağlı olarak infekte şahısların %20-30'unda yalancı negatiflik görülebilir. Serolojik testlerle yalancı pozitiflik, serolojik testler kadar tanıda referans olarak kullanılan invaziv testlerin tartışılmasını gerektirir. Mukozada yamalı bohça benzeri dağılım gösteren *H. pylori* kolonizasyonu, örneğin doğru yerden alınamaması halinde biyopsi bazlı testlerle kaçınılmaz olarak negatif sonuç verecektir. Böyle bir hastada serum veya sekresyonlarda gösterilen antikor cevabının yalancı pozitiflik olarak değerlendirilmesi gerçekten zordur. Serumda, IgG türü cevabın IgA cevabına göre daha

duyarlı olması sebebi ile, rutin tanıya yönelik tarama testlerinde IgG tespitine yönelik testler önerilmektedir (92).

Serolojik testlerde antijen olarak, *H. pylori* tüm hücre veya tüm hücre ekstraktları, glisin veya ısı stabil antijen, üreaz, cagA gibi fraksiyon antijenler kullanılmaktadır. Ticari olarak geliştirilen serolojik testler genellikle ELISA bazlı olup, ya laboratuvar için veya hasta başı testler olmak üzere iki şekilde dizayn edilmişlerdir. Ticari olarak kullanıma sunulan hasta başı testlerde serum veya parmaktan alınan kan ile çalışılmaktadır. Flexsure *H. pylori* ve Quickview One Step bu amaçla dizayn edilmiş testlerdir. On dakika gibi kısa sürede sonuç vermelerine karşılık pahalı oluşları ve gıda ve ilaç yönetmeliğinden (FDA) onay almış olmalarına rağmen henüz spesifikite ve sensitivite hakkında yeteri kadar bilgi ve tecrübe oluşmayan bu testlerin yaygın kullanımı önerilmemelidir. Kullanılan antijene göre duyarlılık ve özgüllük %80-100 arasında değişmektedir. Erken antijen preparatları ile *C. jejuni* ve *E. coli* ile yaygın çapraz reaksiyon nedeni ile kötü sonuçlar alınır (8). Laboratuvar şartlarında immunoglobulinlerin düzeyini kantitatif olarak ölçmek için enzimle bağlanmış immünosorbant assay (ELISA) veya kalitatif değerlendirme olanağı sunan yöntemler bulunmaktadır. Kalitatif testler tedavi sonrasında da pozitif kaldıkları için, bakteri eradikasyonunu değerlendirmede kullanılamazlar. Ancak kantitatif ölçme imkanı veren ELISA testleri, tedaviden 4-6 ay sonra antikor düzeylerinde azalmayı göstererek, eradikasyonun tanısında kullanılabilir. Fakat kitler arasındaki değişkenlikten kaynaklanan farkların önlenmesi ve başarı ile tedavi edilen hastaların %65'inde tedaviden 24-48 ay sonra bile gözlenen seropozitiflik nedeni ile tedavi öncesi ve sonrası alınan serum örnekleri aynı anda değerlendirilmelidir (8). Değişik ELISA kitleri üretilmiş olup bunlar arasında duyarlılık ve özgüllük yönünden farklılıklar görülmektedir. Genel olarak *H. pylori* eradikasyon tedavisinden sonra antikor cevabının birden düşmemesi eradikasyon takibinde serolojik testlerin kullanımını sınırlandırmaktadır. Çeşitli çalışmalarda eradikasyon tedavisinin sonlandırılmasından sonraki 6. haftada vakaların %20-30'unda 6. ayında ise %97'sinde antikor cevabı %50 oranında düşmektedir. Yalancı pozitiflik başarılı bir eradikasyon tedavisinden sonra 1 yıl kadar görülebilir. Bu fenomen çeşitli sebeblere bağlı olabilir; mesela serum antikor cevabını ölçmek için kullanılan antijenler içerisinde son derece güçlü immunojen olan cagA proteini yer almaktadır. *H. pylori* antijenlerine karşı antikor üretme yeteneği

kişiden kişiye değişiklik gösterebilir. *H. pylori*'ye karşı oluşan antikorların yarılanma ömrü yaklaşık olarak 6 aydır. Bu da eradikasyona rağmen pozitif cevabın sürekliliğine yol açar.

Daha önce de anlatıldığı gibi, *H. pylori* ile infekte hastalarda başlangıçta IgM sınıfı antikorlar oluşur. Sonraları hem sistemik olarak hem de mide mukozasında lokal olarak IgG ve IgA antikorları oluşur (93). IgG pozitifliğinde uygun antibiyotik kullanılsa bile, IgG'nin pozitifliği 3 yıl boyunca devam edebilir (94).

Dışkıda antijen arayan testler: Gaitada *H. pylori* antijenlerini tespiti yönelik testler non-invaziv testler arasında yeralan üre nefes testine en iyi alternatif olarak görülmektedir. Bu test, pahalı cihazlar ve uzman bir ekip gerektirmediğinden laboratuvarı kolayca uygulanabilir. Ayrıca hem güvenilir hem de hastalar tarafından daha çok tercih edilmektedir. Hamilelerde ve çocuklarda kolaylıkla uygulanabilir bir testtir (8).

Gaitadaki epitelle birlikte atılan *H. pylori* ilk olarak 1997 yılında poliklonal anti-*H. pylori* antikorların kullanıldığı immuncapture yöntemi ile gösterilmiştir. Daha sonra gaitada *H. pylori* antijenlerini tespit amacı ile ticari tanı kitleri geliştirilmiş, bunlardan ilki 1998 yılında; aktif infeksiyonun tespiti, tedavi süresince antibiyotiğin etkinliğinin izlenmesi ve antibiyotik eradikasyonunun başarısını takip amacı ile FDA'dan klinik kullanım onayı almıştır.

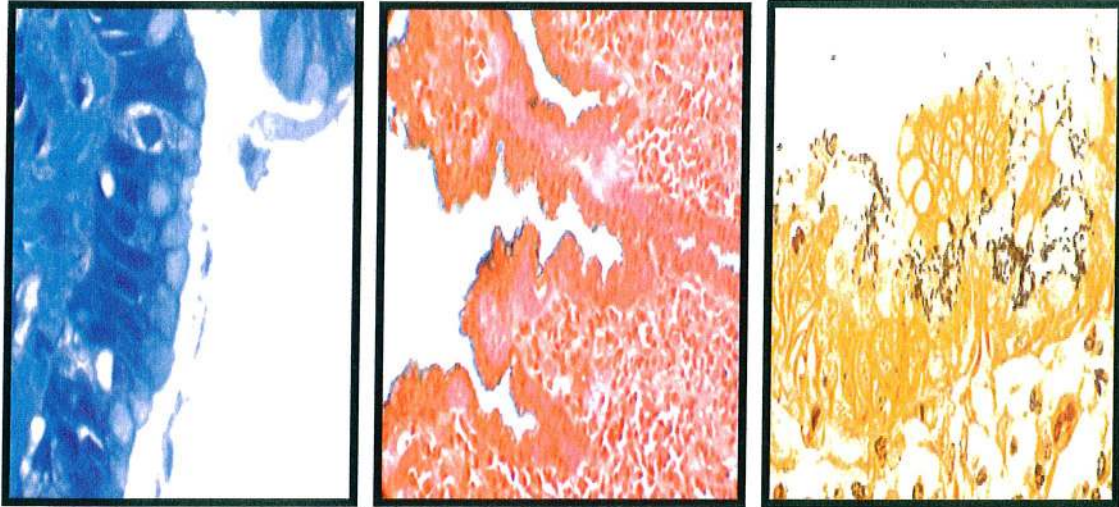
Dışkıda diğer testler: *H. pylori*, PCR ve kültür yöntemi ile infekte kişilerin dışkı örneklerinden izole edilmiştir (95).

2.8.2 İnvaziv Testler

Gastrointestinal endoskopi girişimi ve lezyondan alınan biyopsi materyalinin incelenmesi esasına dayalı testlerdir. Endoskopik muayene yapılabilmesi halinde lezyonun yeri, büyüklüğü ve histopatolojik değişimlerin derecesini tespit açısından son derece önemli bilgiler sağlamaktadır. Endoskopi esnasında görünür lezyonun kenarından alınacak biyopsi örneklerinde *H. pylori* varlığı ve lezyonun histopatolojik değerlendirilmesi, boyalı preparasyonların histolojik incelemesi, hızlı üreaz testi ile örnekteki üreaz aktivitesinin gösterilmesi, uygun besiyerlerinde bakterinin üretilmesi veya PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu), RLFP-PCR (Restriction fragment length polymorphism), AFLP-PCR (Amplified fragment length polymorphism) gibi moleküler

bazlı testlerle örneklerdeki *H. pylori* spesifik gen bölgeleri ve allellerinin özgül primerler yardımı ile amplifikasyonu mümkün olmaktadır.

Histolojik muayene: *H. pylori* infeksiyonlarında histolojik tanı, dokudaki inflamasyonun ve varsa prekarsinojen değişimlerin şiddetini belirlemek amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu testlerin sensitivite ve spesifitesini; patoloğun tecrübesi, görme özellikleri, *H. pylori* infeksiyonlarına ilgisi, kullanılan boya metodu, kullanılan mikroskobun özellikleri, alınan biyopsi sayısı, yeri, lezyondaki bakteri yoğunluğu ve incelenen preparat sayısı gibi çeşitli faktörler etkilemektedir. Duyarlılığı artırmak amacı ile midenin antrumu ve korpusundan ikişer örneğin alınması önerilmiş, daha sonra hastayı fazla travmatize etmemek için sadece antrumda 2 örneğin yeterli olduğu gösterilmiştir. İnfekte midede *H. pylori*'nin küçük kurvaturundan alınan örneklerde pozitif bulma şansı %90'ın üzerine çıkmaktadır. Kullanılan boyama yöntemleride sonuçları etkiler. Sıklıkla Modifiye Giemsa, Warthin-Starry, Silver Strain, Modifiye McMullen ve Gimenez gibi histokimyasal boyalar kullanılmaktadır (Resim7).

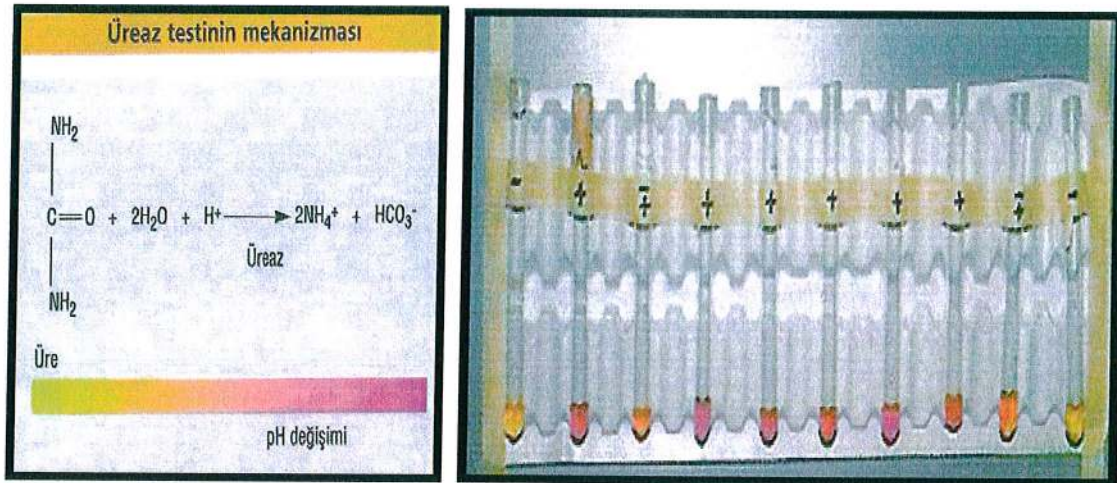


Resim 7. Sırasıyla Giemsa, Genta ve Warthin-Starry gibi özel boya teknikleri ile *H. pylori*'nin tesbiti (96).

Kültürde izolasyon : Gastrik biyopsi örneklerinden *H. pylori*'nin seçici veya seçici olmayan besiyerlerinde üretilmesi tanıda altın standarttır. Ancak bu yöntem, örneğin sayısı veya büyüklüğü, örnekdeki bakteri miktarı, örneğin transport şekli ve süresi, kullanılan besiyerleri ve inkübasyon şartları ile çalışan personelin tecrübesine dayanarak değişken duyarlılık gösterir. Optimal şartlarda sensitivite ve spesifite sırası ile %60-95

ve 100 dür. *H. pylori* antibiyotikler veya PPI'leri gibi kimyasal ajanlarla temas sonucu veya dış ortam şartlarında besiyerlerinde üretilmeyen kokoid formlara dönüştüğü için örnek materyalin alınması ve taşınması esnasındaki seçicilik kültür ortamında izolasyon şansını artıracaktır. Hastadan kültür için alınacak örnekler kemoterapotiklerin kullanımına başlanmadan önce alınmalı ve alınan örnek ekime hazırlanarak hemen uygun besiyerlerine inoküle edilmelidir.

Hızlı üre testi (HUT): Endoskopik biyopsi gerektirir. Bakterinin üreaz aktivitesinden yararlanarak yapılır. Endoskopik biyopsi ile alınan doku örneği, içinde pH'yı gösteren bir belirteç (en sık fenol kırmızı) bulunan bir üre jeli veya sıvı besiyerine konulur. Üreaz enzimi ile üreden amonyak oluşur. Çevredeki hidrojen iyonlarının varlığı ile NH_4^+ 'e dönüşerek ortamın pH'sını yükseltir. Üre substratı ve pH duyarlı bir işaretliyi içeren kitler (CLO test, Pylori Tek, Hpfast) şeklinde kullanıma sunulmuştur (Resim 8) (8).



Resim 8. Üreaz testinin mekanizması (8).

Testin 2/3'ü 30 dakikada pozitifleşmektedir. Testin duyarlılığı %90-98, özgüllüğü %97-100 olarak bildirenler vardır (8).

Sensitivite örnekteki bakteri miktarından etkilenir. Yapılan kantitatif çalışmalarda örnekte en az 10^4 bakteri olması halinde pozitif sonuç alınmaktadır. Örneklerin çoğu sıklıkla bu sayının altında bakteri taşımaktadır. Bazı araştırmacılar birden fazla biyopsi örneğinin kullanılması halinde sensitivitenin artabileceğini bildirmişlerdir. Ancak fazla örnek reaksiyonun hızını artırmakta duyarlılığı artırmamaktadır. Doku örneğinde

bakteri sayısının azlığına bağlı olarak yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir. Üreaz testleri genellikle hızlı incelemeler arasında sınıflandırılır. Ancak sonuçların erken okunması durumunda duyarlılık zayıf olmaktadır (8).

CLO test, ilk kullanıma çıkan üreaz testidir. Alınan mide biyopsileri agar kuyularına konulur, 24 saat içinde okunur. *H. pylori* Tek kiti, oluşan amonyum iyonlarının difüzyonla geçebileceği yarı geçirgen bir membran içerir; 2 saat içinde sonuç alınabilen bu testin ilk saat içinde yanlış pozitif sonuçlar verdiği saptanmıştır. Son zamanlarda 1 saatte sonuç verecek türleri geliştirilme aşamasındadır. Orofarenkste yerleşen ve üreaz üreten bazı kommensal bakteriler tükürükle gastrik biyopsi örneğini kontamine edebilir. Ancak böyle zayıf enzimler midenin asidik lümeninde (pH<2) kolayca denatüre edileceklerinden testin özgüllüğünü etkilemezler (8).

Moleküler Tanı Yöntemleri: Besiyerlerinde çoğalan bakterilerin koloni morfolojileri ve biyokimyasal özellikleri gibi fenotipik karakterleri incelenerek, belirli bir tür veya cins düzeyinde tanısı yapılabilir. Fenotipik tanı yöntemleri klinik yönden önemli çok sayıda mikroorganizma için kullanılmakla birlikte, uygulamada bazı problemler bulunmaktadır (97).

Bunların başındaki bazı önemli patojen bakterilerin kültür ortamında üretilmemesi veya zor üretilmesi gelir (98). Ayrıca kültüre dayalı yöntemler uzun zaman almaktadır. Bu durum kesin tanı ve etkin tedaviyi geciktirmekte ve prognoz olumsuz yönde ilerlemesine neden olmaktadır. Bir organizmaya ait bazı fenotipik karakterler, laboratuvar koşullarına bağlı olarak değişime uğrayabilmektedir (99). Belirli bir fenotipik karakter birçok değişken gen tarafından oluşturulabilmektedir. Bu durumda genetik olarak farklı organizmalar, fenotipik olarak tek bir mikroorganizma gibi tanımlanabilmektedir (97).

Son yıllarda moleküler biyolojik tanı yöntemleri *H. pylori* biyolojisi, infeksiyonlarının tanısı, spesifik virulans faktörlerinin tayini, konakta ortaya çıkan cevabın genetik temeli, antibiyotik direncinin belirlenmesi, eradikasyon tedavisinden sonraki tekrarlayan infeksiyonlarının nedeninin tespit edilmesi ve kültürde üretilmeyen kokoid formların tanımlanması gibi amaçlarla yoğun olarak kullanılmıştır. Ancak nükleik asit amplifikasyon bazlı teknikler canlı ve ölü bakteri ayırımını yapamadıkları için eradikasyon tedavisinin takibinde yalancı pozitif sonuçlar vereceklerinden kullanılmamalıdır. *H. pylori* izolatlarında moleküler tanı yöntemleri kullanılarak

belirlenen gen mutasyonları, suşların coğrafik ve etnik dağılımlarının yanı sıra kolonize toplulukların etnik geçmişlerini tayinde de önemli bilgiler üretmiştir. Moleküler yöntemlerle kültür ortamlarında üretilen bakterilerin yanı sıra tükürük ve diş plakları, mide sıvısı ve epitel doku biyopsi örnekleri ile gaita gibi örneklerde *H. pylori* suşlarına ait spesifik nükleik asit dizileri direkt olarak da araştırılır. *H. pylori* çalışmalarında, suşları spesifik gen bölgelerinin PCR, reverse transcription (RT) PCR, Nested-Heminested-PCR, Gerçek Zamanlı PCR, multipleks PCR, Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD) PCR, AFLP PCR ve RFLP PCR gibi amplifikasyon ve/veya restriksiyon endonükleaz duyarlılığı bazlı moleküler epidemiyolojik yöntemlerin yanı sıra DNA dizi analizi, mikroarray yöntemi, ve multilokus enzim elektroforezi gibi modifiye moleküler teknikleri kullanılmıştır (100).

Mukoza biyopsi örneklerinin PCR ile incelenmesi maliyetinin yüksek olması ve koşulların zorluğu yüzünden daha çok araştırmaya yönelik çalışmalarda kullanılmaktadır. Dışkıda, mide sıvısında ve biyopsi örneklerinde PCR ile *H. pylori* tespit edilebilir. Duyarlılığı ve özgüllüğü %95'in üzerindedir (8).

a- Amplifikasyon bazlı yöntemler: Amplifikasyon yöntemleri ile *H. pylori*'nin 16S rRNA geni, *cagA* geni, *vacA* geni ve allelleri *cagE* geni ve allelli, *iceA* geni ve allelleri, *babA* ve *babB* geni *ureA*, *ureB* ve *ureC* geni, RNA polimerase subünitlerini kodlayan *rpoB* ve *rpoO*, *H. pylori* 0638 gibi spesifik ve virulansla ilgili olduğu düşünülen genlerin varlığı araştırılmıştır. Çeşitli PCR modifikasyonları bu amaç için denenmiştir. Bu tekniklerin tamamı kültür ve histolojik inceleme başta olmak üzere kıyaslandıkları diğer yöntemlere göre son derece spesifik (%98- 100) ve sensitif, yüksek pozitif ve negatif kabul edilebilirlik değerlerine sahip hızlı ve güvenilir testler olarak yorumlanmıştır (101). Ancak bu yöntemler sonuçları etkileyecek olan; örnek seçimi, transport şekli, DNA ekstraksiyonunda kullanılan yöntem, amplifikasyon için seçilen gen bölgeleri ve amplifikasyon için seçilen primer dizilerinin tam olarak standardize edilememiş olmaları sebebi ile rutin tanıdan çok araştırma amaçlı olarak kullanılmıştır. Amplifikasyon bazlı yöntemler antibiyotik direncinin moleküler takibinde de klasik yöntemlere karşı daha duyarlı sonuçlar üretmiş olmakla birlikte, tanıdakine benzer standardizasyon eksikliği ve yorum farklılıkları gibi sebeplerle rutin kullanım alanı henüz bulamamıştır (102).

H. pylori araştırmalarında kullanılan amplifikasyon bazlı yöntemlerde iki önemli sorun bulunmaktadır. Bunlar örnekleme ve nükleik asit ekstraksiyonu ile hedef diziler ve seçilen primerlerdir.

Örnekler: Örnek sıklıkla mide biyopsi dokusudur. *H. pylori*, mide mukozasında yamalı bohça benzeri dağılım gösterdiği için, alınan her örnek kolonizasyonu temsil etmeyebilir. Antrum ve korpusdan alınan biyopsi örneklerinde farklı suşlarla kolonizasyon farklı sonuçlar yaratabilir. Hastanın yaşı veya hastalığın süresi de mide biyopsisi bazlı yöntemlerde sensitiviteyi düşürür. Çünkü uzun süren enfeksiyona bağı olarak gelişen atrofik gastrit veya intestinal tip hücre artışı *H. pylori* için duyarlı epitelyal alanı azaltır. Bu nedenle yaşlı veya kronik enfeksiyonu olan hastalarda örnek iyi seçilmeli ve birden çok alınmalı veya biyopsi yerine gastrik sıvı örnekleri amplifikasyon amacı ile kullanılmalıdır. Biyopsi örneklerinden *H. pylori* nükleik asitlerini elde etmek için genellikle 3 yöntem kullanılmaktadır. Bunlar; DNA ekstraksiyon kitlerinin kullanımı, proteinaz-K / fenol-kloroform ekstraksiyonu ve kaynatmadır. Çeşitli çalışmalarda bu üç yöntem için farklı değerlendirmeler yapılmıştır. Proteinaz-K, fenol-kloroform yönteminin çok kaliteli DNA eldesine imkan veren en iyi yöntem olduğu bir çok yayında ileri sürülürken, işlemlerin artması halinde kontaminasyon riskinin artacağı, proteinaz-K ve fenol'ün tam olarak uzaklaştırılamayacağı için duyarlılığın düşeceği, işlemin ne kadar basit olursa sonuçta elde edilen DNA'nın o derecede saf olacağını bildiren yayınlarda vardır (103).

Doku biyopsi örnekleri çalışılıyorsa inhibitörleri engellemek ve saf DNA elde etmek için; dokunun mekanik olarak parçalanması, daha sonra ya olduğu gibi veya Chelex-100 gibi bir zayıf katyonik ajan ilave edilerek kaynatılması istenmektedir. Klinik örneklerde moleküler yöntemlerin sensitivitesini düşürecek muhtemel inhibitörler çok sayı ve miktarda bulunabilir. Bundan korunmak için; PCR reaksiyon karışımına %0.5 sığır serum albumin ilave edilmesi ve ekstraksiyonda mümkün olduğu kadar az kimyasal kullanılması ve/veya örneklerin dilüe edilerek çalışılmaları önerilmektedir. Dışkı gibi bakteri yoğunluğunun düşük, inhibitör maddelerin yoğun olduğu örneklerde DNA ekstraksiyonu esnasında %0.5 sığır serum albumini kullanımı veya standardize edilmiş ekstraksiyon kitlerinin kullanımı önerilmektedir (104).

Ayrıca örnekteki bakteriyi yoğunlaştırmak için *H. pylori* kaplanmış magnetik partiküllerin kullanılmasının sensitiviteyi artırdığı bildirilmiştir.

Hedef bölge ve primerlerin seçimi: Hedef bölgeler çalışma amacına göre belirlenmelidir. Mesela 16S rRNA diğer *Helicobakter*'ler ve bazı Gram negatif bakterilerde ortak dizlere sahip olduğu için bu bölgeleri hedef alan primerlerle yüksek sensitivitede ancak düşük spesifitede sonuçlar üretilmektedir (105). Gastrik biyopsi örneklerinde özellikle mutasyonların sık görüldüğü *vacA* ve *cagA* gibi genlerin aynı allellerin amplifikasyonu için kullanılan farklı primerlerin farklı sensitivitede sonuçlar ürettiği gösterilmiştir (106).

Gaitada *H. pylori* tanısında PCR kullanılacaksa hedef gende mümkün olan en kısa fragmenti tanıyan primerlerin seçilmesi önerilmiştir. Diş taşlarında *H. pylori* tespiti için dizayn edilmiş PCR çalışmalarında %0-97 arasında prevalans bildirilmiştir. Bu büyük fark toplumsal hijyen veya kültür farkından çok PCR protokollerindeki farklılıktan kaynaklanmaktadır (107).

H. pylori PCR tekniklerinde, amplifikasyon tekniklerindeki genel problemlere karşı duyarlı olunmalı, yalancı negatiflik veya pozitifliğe karşı üniversal tedbirler alınmalıdır. Yalancı negatif sonuçların belirlenmesi için mutlaka internal kontroller kullanılmalıdır (108). Özellikle ekstraksiyon aşaması birden fazla olan protokollerde taşıma ve kontaminasyonlar her zaman risk olarak kabul edilmeli ve bunun için dTTP yerine dUTP kullanılmalıdır. Ayrıca primer-dimer oluşumunu engellemek içinde hot-start yöntemi kullanılmalı ve reaksiyon karışımı içerisine Dimethyl sulfoxide (DMSO) ilave edilmelidir.

b- Restriksiyon bazlı yöntemler: Bu yöntemlerde ya total genomik DNA veya genomda amplifiye edilmiş spesifik bir bölgenin restriksiyon enzimleri ile parçalanması sonucu ortaya çıkan fragmentlerin sayı ve büyüklükleri dikkate alınarak *Helicobakter*'lerde tür, suş ve aile bağlamında tanıya gitmek mümkündür (108).

H. pylori tanısında testin seçimi; Hastanın klinik durumuyla ilişkilidir. Örneğin gastrointestinal sistem semptomları nedeniyle gastroskopi planlanmış bir hastada *H. pylori* durumunun da belirlenmesi isteniyorsa hızlı üreaz testi için biopsi alınabilir, böylece *H. pylori* varlığı konusunda bilgi edinilebilir, endoskopi sırasında alınan biopsilerde histopatolojik inceleme de yapılabilir. *H. pylori* histolojik yöntemle aranabilir, bunun yanında gastrik inflamasyon, intestinal metaplazi, dizplazi, ya da gastrik atrofi konusunda bilgi edinilebilir. Klinisyen daha önce eradikasyonun denendiği ancak başarılı olunmamış bir hastada *H. pylori* suşunun direnç paternini

öğrenmek istiyor olabilir bu durumda alınan materyel kültüre gönderilebilir. *H. pylori* eradikasyonu yapılmış bir hastada tedavinin başarısı araştırılırken üre nefes testi kullanılabilir, ancak örneğin mide ülseri olan bir hastada tedavi sonrası endoskopik kontrol yapılacaksa invazif bir tanı yöntemi ile *H. pylori*'nin varlığı araştırılabilir.

Hangi testin seçileceğine karar verirken yaşadığımız ülke ve ekonomik koşullar da göz önüne alınmalıdır. *H. pylori* infeksiyonu ülkemizde çok sıktır, *H. pylori* varlığının gösterilmesi ile klinik yaklaşım değişmeyecekse test uygulanmasının anlamı olmayacağı gibi hastaya ve sağlık güvencesi sağlayan kurumlara finansal yük getirecektir. Belirli koşullarda *H. pylori* eradikasyonu zorunludur ve bu durumlarda genellikle *H. pylori* varlığının eradikasyon sonrasında yeniden değerlendirilmesi gerekir, bu durumda endoskopi yapılmayacak ise non-invazif testlerden aktif infeksiyonu gösterenleri yani üre nefes testi ya da fekal antijen testi seçilmelidir. Hangi testin seçileceğini etkileyen başka bir faktör de testin sensitifliği ve spesifiktir (109).

Genellikle invazif testlerden ikisinin pozitif olması infeksiyon varlığının kanıtı olarak kabul edilir (109). Ancak alınan biopsi örneği yamalı tutulumu olan ya da bakteri yükü az olan bir kişide infeksiyonu kanıtlamamızı engelleyebilir ayrıca günlük pratikte özel çalışmalarda alınan biopsi sayısından daha az sayıda biopsi alınması da olasıdır.

2.9 Tedavi

Dünyanın en yaygın infeksiyonlarından biri olarak kabul edilen *H. pylori*'nin eradikasyonu, başlangıçtan itibaren sorun olarak karşımıza çıkmıştır. İlk invitro çalışmalarda bakteri hemen tüm antibiyotiklere hassas bulunmasına rağmen, tek antibiyotikli tedaviler veya iki antibiyotikli kombinasyonlar başarısız olmuştur. Bunun üzerine Bizmut eklenerek üçlü kombinasyonlara geçilmiştir. Bu kombinasyonlarda ikinci ilaç metronidazol (M), üçüncü ilaç amoksisilin (A) veya tetrasiklin (T) olmuştur. Ancak ilaç sayısının fazla olması uyum güçlüğü yaratmıştır. Yan etkileri daha fazla olmasına rağmen, o devrede yapılan yayınlarda en yüksek eradikasyon oranları BI+M+T kombinasyonu ile alınmıştır. Daha sonra proton pompa inhibitörleri (PPI) ve Klaritromisin (K) tedaviye girmiş önce PPI+A veya PPI+K kombinasyonları denenmiş ardından da PPI+K+A veya PPI+K+M içeren 3'lü kombinasyonlara geçilmiştir. Aynı yıllarda Ranitidine bismuth citrate (RBC) ile A veya K'li ikili kombinasyonlar denenmiş, pek çok çalışmada başarılı bulunmuş ama daha sonra K ve A veya M'li üçlü

kombinasyonların uygulaması başlamıştır. Maastricht 2-2000 konsensus raporuna göre *H. pylori* eradikasyonu uygulanacak hastalıklar aşağıda sıralanmıştır (10).

- Peptik ülser ve komplikasyonu,
- Düşük grade'li mukosa-associated lymphoid tissue (MALT) lenfoma,
- Atrofik gastrit,
- Gastrik kanser rezeksiyonu sonrası,
- Mide kanserli hastaların birinci derecede yakınları,

Raporda eradikasyonun, fonksiyonel dispepsili olguların bir bölümünde uzun süreli tedavi sağlayabileceği için yapılabileceği önerilmektedir. Ayrıca tedaviyi isteyen hastalara da uygulanabileceği belirtilmektedir (10). PPI'lerin invitro antimikrobiyal etkileri göstermeleri, bakteri üreazını inhibe etmelerine veya bakterilerin transmembran iyon transportunu regüle eden ATP'azları üzerine olan etkilerine bağlanmaktadır. Ayrıca ortamın pH'sını yükseltip ilaçların biyoyararlılığını artırmaktadırlar. Çalışmalar da farklı PPI'ler farklı bakteriyostatik ve bakterisid etki göstermelerine rağmen, karşılaştırmalı klinik çalışmalar farklı eradikasyon oranları vermemişlerdir (110).

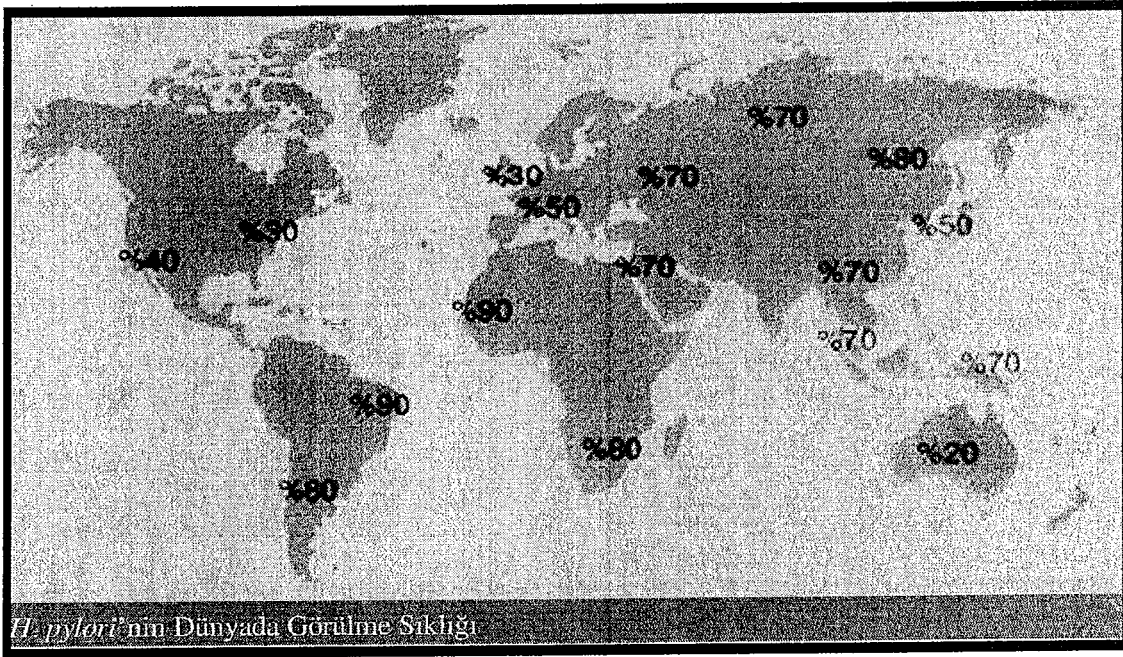
Günümüzde DÜ ve MÜ'de *H. pylori* eradikasyonunun mutlak gerekliliği konusunda fikir birliği oluşmuştur (111). Gastrit ve NÜD olgularında *H. pylori* tedavisi yapıp yapılmayacağı tartışmalıdır. Yapılan çalışmaların bir kısmında *H. pylori*'nin tamamen ortadan kaldırıldığı olgularda gastritin tümüyle düzeldiği belirtilmesine karşın tedavinin yararı henüz kanıtlanmamıştır. Bu grup hastalara araştırma amacı dışında tedavi önerilmemektedir (112). Son yıllarda kısa süreli üçlü tedaviler yoğunlaşmıştır. Omeprazolün iki antibiyotikle kombinasyonunda, oldukça başarılı sonuçlar bildirilmiştir. Son çalışmalarda, *H. pylori* için şimdiye kadarki en iyi tedavi 1 haftalık PPI ile iki antibiyotik kombinasyonudur. (O+K+M) yada (O+K+A) ile en yüksek oranlar elde edilmiştir (8). Dünyada genellikle 7 günlük uygulama vardır. Ancak ilaçların kullanım süresi ile ilgili bir metaanalizde 14 günlük tedavi uygulamasının, 7 günlük tedavi uygulamasına nazaran eradikasyon oranlarında %7 ile %9 arasında değişen ama istatistiksel anlamlı bulunan bir artış bulunmuştur (113).

2.10 Epidemiyoloji

Helicobacter pylori enfeksiyonu, dünyada yaygın olan enfeksiyonların başında gelmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, *H. pylori* prevalansının, ülke ve toplumların

gelişmişlik düzeyleri ile büyük paralellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Gelişmekte olan ülkelerde çocukların tamamına yakını *H. pylori* ile infekte iken, gelişmiş ülkelerde çocukluk çağında *H. pylori* prevalansı oldukça düşük olup, genellikle sosyoekonomik düzeyi zayıf olan ailelerin çocukları infekte durumdadır. Resim 9'da *H. pylori*'nin dünyada görülme sıklığı izlenmektedir (8).

Gelişmiş Batı ülkelerinde, ileri yaşlarda görülen yüksek prevalansın, dünya savaşları döneminde doğmuş olan şimdiki erişkinlerin çocukluk dönemlerindeki, nispeten daha sağlıklı olan yaşam koşullarına bağlı olduğu düşünülmektedir (kohort fenomeni). Önceleri ev dışında bulunan ve lağım çukuru açık olan tuvaletler, sosyoekonomik koşulların gelişmesiyle birlikte, zaman içinde, evlerin içine alınmış ve kapalı lağım sistemine geçilmiştir. Ayrıca, buzdolabının günlük hayatta yaygın olarak kullanılmadığı dönemlerde, gıdaların açıkta depolanması nedeniyle bakterilerin üremesi ve sinekler tarafından kontamine edilmesi önemli bir sorun oluşturmaktaydı (114).



Resim 9. *H. pylori*'nin dünyada görülme sıklığı (8)

Sosyoekonomik gelişmelere paralel olarak, yaşam koşullarında da önemli iyileşmeler sağlanmıştır. Sineklerle mücadele, eğitim düzeyinin yükselmesi, su ve lağım tesisatlarının modernleştirilmesi gibi olumlu gelişmeler sonucunda, sinekler tarafından kontaminasyon önemli ölçüde kontrol altına alınmıştır. Ayrıca, tuvaletlerde suyun

bulunması ve temizlik kültürünün yerleşmesi ile, olası fekal-oral yolla bulaşma da önemli oranda engellenmiştir. Hatta, taşımacılıkta atların yerine otomobillerin kullanılması sonucunda sineklerin önemli bir beslenme kaynağı olan hayvan dışkılarının azalmış olmasının bile, sineklerin azalmasına neden olarak, diğer bir çok infeksiyon hastalığında olduğu gibi, *H. pylori* infeksiyonunun da azalmasına katkıda bulunduğu sanılmaktadır.

Ülkemizde *H. pylori* prevalansı oldukça yüksektir. 1993 yılında Ege bölgesinde yapılan bir çalışmada, erişkinlerde genel olarak *H. pylori* seropozitifliği %73.8 olarak bulunmuştur (115). Yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde, 20-29 yaşlar arasında %62.5 olan prevalansın, 30-39 yaş grubunda %76.3, 40-49 yaş grubunda %67.5, 50-59 yaş grubunda %78, 60-69 yaş grubunda %72.8, 70-79 yaşlar arasında %77.7, 80 yaş ve üzerinde %61.9 olduğu saptanmıştır. Türkiye'nin değişik merkezlerinde aynı yıllarda yapılmış olan diğer çalışmalarda daha da yüksek prevalans değerleri bildirilmiştir. Ülkemizdeki sosyoekonomik ve hijyen koşullarındaki olumlu değişikliklere paralel olarak *H. pylori* prevalansının da zaman içinde kısmen de olsa azalmakta olduğu izlenmektedir. *H. pylori* DÜ'li hastaların %95'inde, MÜ'li hastaların % 70-80'inde ve nonülser dispepsili (NÜD) hastalarda ise yaklaşık %50'sinde görülmektedir. Prospektif ve retrospektif çalışmalarda gastrik kanser ve gastrik lenfomada %90 *H. pylori* bulunmuştur (3,4).

H. pylori infeksiyonunun bulaşma yolları kesin olarak bilinmemektedir. Fekal-oral ve oral-oral geçiş yolları üzerinde durulmaktadır. İnfeksiyonun ortaya çıkması için alınması gereken minimum bakteri sayısı ve konakçının infekte olmasını kolaylaştırıcı faktörler konusundaki bilgiler de yeterli değildir (116).

H. pylori'nin 1992 yılında ilk kez feçesten izole edilmesiyle, infeksiyonun fekal-oral yolla geçişi daha da önem kazanmıştır. *H. pylori* normal dışkıda nadiren bulunabilirken, ishalli dışkıda sıklıkla bulunmaktadır. Ayrıca, infekte kişilerin kusmuğunda ve mide suyunda da *H. pylori*'nin bulunabildiği gösterilmiştir (117). Ancak infeksiyonun bulaşmasında gastro-oral yolun rolü, yeterince açık değildir. Kusma veya gastroözofajial reflü yoluyla direkt olarak, ya da *H. pylori*'nin oral kavitede (dental plakta) kolonize olmasıyla, infeksiyonun kişiden kişiye geçebileceği düşünülmektedir. *H. pylori*'nin dental plakta kültür ve PCR yöntemleri ile gösterilmiş olması, dental plağın rezervuar olabileceğini düşündürmektedir (118). Kişiden kişiye bulaşmada,

öpüşme ve damlacık enfeksiyonu olarak bilinen bulaş yolların önemli olduğu sanılmaktadır. Hayvan çalışmalarında, koprofaj (dışkı yiyen) ratların *H. pylori* enfeksiyonunu birbirlerine bulaştırmadığını, buna karşılık koprofaj olmayan fakat devamlı ağız ağıza teması olan hayvanların enfeksiyonu birbirlerine geçirdiği gösterilmiştir (119). Bu gözlem, *H. pylori*'nin oral-oral yolla geçişini desteklemektedir. Epidemiyolojik veriler de, kişiden kişiye geçiş olasılığını kuvvetle desteklemektedir. Özellikle erken çocukluk döneminde, kalabalık ve fakir ailelerde bu olasılık daha geçerlidir. Aile içinde ve aynı ortamda yaşayan gruplarda enfeksiyonun kümeleştiği saptanmıştır. Bu durum, hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan ülkelerde gösterilmiştir. Erken çocukluk çağında kardeşlerle aynı yatağın paylaşılması, enfeksiyonun bulaşmasında önemli bir risk faktörüdür. Ebeveynlerinde özellikle annelerinde *H. pylori* enfeksiyonunu olan çocuklarda *H. pylori* prevalansının oldukça yüksek olduğu saptanmıştır (120).

H. pylori enfeksiyonunun eşler arasında geçişinin de mümkün olabileceğine dair veriler bulunmaktadır. Bir çalışmada, *H. pylori* pozitif olan kişilerin eşlerinde %68, *H. pylori* negatif olanların eşlerinde ise %9 *H. pylori* pozitifliği bildirilmiştir (121). Daha öncede bahsettiğimiz gibi *H. pylori* enfeksiyonunun tükürük, mide içeriği veya dışkı ile kontamine su ve gıdaların ağız yoluyla alınmasıyla da bulaşabileceği düşünülmektedir. Gelişmekte olan bazı ülkelerde içme suyunun kontaminasyonunun, enfeksiyonun bulaşmasında önemli bir rolü olduğu sanılmaktadır. Peru'da yapılan çalışmalarda, bu görüşü destekleyen veriler elde edilmiştir. Ancak Kore ve Bangladeş'te yapılan çalışmalarda ise, su yoluyla *H. pylori* enfeksiyonunun geçişini destekleyen bulgular saptanamamıştır (122). İnfekte olmuş su, gıda ya da çeşitli nesneler (oyuncak, yatak, emzik, endoskopi malzemeleri, vb.) aracılığıyla da geçiş olabilir. Tükürük ve mide içeriği ile temasın fazla olması nedeniyle, özellikle endoskopi ile yoğun olarak ilgilenen gastroenterologlar, mesleksel olarak *H. pylori* enfeksiyonunun bulaşması açısından yüksek risk taşırlar. İnfeksiyonun bulaşmasında çeşitli vektörlerin de rolü üzerinde durulmaktadır. Vektörler aracılığıyla enfeksiyonun geçişi, mekanik ya da biyolojik olabilir. İnfekte materyel ile temas sonrasında sineklerin kontamine ve infekte olan sineklerin, rezervuar ve vektör olarak *H. pylori*'nin bulaştırılmasında rolünün olabileceği düşünülmektedir (123).

H. pylori infeksiyonunun seroprevalansı, yaşla birlikte artma göstermektedir. İlk veriler, hem erişkinlerde hem de çocuklarda infeksiyonun yatay olarak geçebildiğini düşündürmektedir. *H. pylori* infeksiyonunun fizyopatolojisi ve virülansının belirleyicileri üzerine bilgilerimiz artmakla birlikte, infeksiyonun ne zaman ve nasıl edinildiği hala tam olarak bilinmemektedir. Enine kesitsel seroprevalans çalışmalarından elde edilen yeni veriler, *H. pylori* seropozitifliğinin yaş ilerledikçe arttığını doğrulamıştır. Yaşa özgü seroprevalans ayrıca aynı ülkedeki değişik topluluklar arasında da farklılık göstermektedir. *H. pylori* rastlanma oranı, sosyo-ekonomik düzeyi düşük toplumlarda daha fazla bulunmuştur (124)

Batılı ülkelerde 40 yaşın altındaki kişilerin %20'si, 60 yaşın üzerindekilerde %50'si *H. pylori* ile infektidir. 20 yaşın altında prevalans %20'nin altındadır. Gelişmekte olan ülkelerde ise prevalans %80'e ulaşmaktadır (8,124). Gelişmekte olan ülkelerde çocukların yaklaşık %50'si 5 yaşına kadar %70-90'ı 10 yaşına kadar; 50 yaş civarı erişkinlerin %90-100 *H. pylori* ile kolonize olurlar, bunların çoğunda daha sonra gastrit oluştuğu tesbit edilmiştir. Gelişmiş ülkelerde 20 yaşına gelmiş insanların %10'unda ve 50 yaş civarı erişkinlerin %40-50'de tesbit edilmiştir (125).

Sosyoekonomik durumlar (özellikle çocukluk çağı), genetik özellikler, hijyen seviyeleri, aile içi yaşam alışkanlıkları, *H. pylori*'nin farklı popülasyonlardaki dağılımını etkilemektedir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda da *H. pylori* prevalansının azalmakta olduğu ileri sürülmüştür. Bu azalmanın nedeni bilinmemekle birlikte, sağlık, hijyen, sosyoekonomik koşulların iyileşmesi ve antibiyotik kullanımının buna neden olabileceği düşünülmektedir (125).

2.11 Korunma ve Kontrol

H. pylori'ye karşı aşılamanın koruyucu olabileceği hayvan modelleriyle gösterilebilmiştir. *H. pylori*'nin bağışıklık yanıtına gösterdiği direncin, *H. pylori* antijenleri ile orogastrik bağışıklamanın yanı sıra, *V. cholerae*'nin toksini yada *E. coli*'nin ısıya labil toksini gibi mukozal adjuvanlar kullanılarak aşılabileceği gösterilmiştir. Şimdiye kadar başarı ile denenen *H. pylori* immunojenleri arasında bütün hücre ekstreleri, üreaz, vacA ve ısı şoku proteinleri vardır. Bağışıklama yalnızca infeksiyonu önlemede değil, hastalığa karşı tam şifa sağlamada da etkili olduğundan *H. pylori* infeksiyonunu ortadan kaldırmada umut verici bir girişim gibi görünmektedir.

Günümüzde immunojen olarak Üreaz'ın kullanıldığı klinik denemeler sürmekte, bu çalışmaların sonuçları beklenmektedir. Fare çalışmaları, üreaz yada iki alt biriminden (üreA ve üreB) birisi ile birlikte uygun bir mukozal adjuvan kullanılarak yapılan bağışıklamanın *H. pylori* infeksiyonuna karşı korunma sağlayabileceğini göstermiştir. Bu korunma, hem enzimin doğal biçimde verildiği; hem de katalitik yolla inaktive edilen rekombinan biçiminde verildiği durumlar için geçerlidir. Teröpatik aşılama çalışmalarında, ÜreB bağışıklamasıyla ilişkili gastrit belirtisi yada belirgin yan etki gözlenmemiştir (8).

Rekombinan üreaz, hem üretimin kolay olması, hem de infeksiyona karşı korunmada ve hastalık durumunun şifasını sağlamadaki etkililiği nedeni ile insanlarda kullanılmak için umut verici bir adaydır. LT (ısıya labil) enterotoksin ile birlikte saflaştırılmış *H. pylori* vacA'sı ile orogastrik bağışıklanan fareleri, vacA pozitif *H. pylori* suşları ile infeksiyondan koruduğu gösterilmiştir. *E. coli*'de üretilen sitotoksinin doğal antijenitesini korumuş olmasına karşılık, rekombinan protein farelerde, *H. pylori*'ye karşı korumada etkili olamamıştır. Organizmalarda fizyolojik stres sırasında başka polipeptidleri koruyan hücrel proteinler vardır. *H. pylori* suşlarında, HspA ve HspB olarak bilinen ısı şoku proteinleri ailesiyle homologluluğu bulunan iki protein belirlenmiştir. Rekombinan *H. pylori* HspA ve HspB'nin *H. felis* modelinde koruyucu antijenler olduğu bulunmuştur (8).

H. pylori'nin yüzey proteinleri yada dışarı verdiği proteinlerde olasılıkla bu organizmanın virulansına katkıda bulunmaktadır ve mükemmel aşı adaylarıdır. Üreaz preparatlarının güvenlik ve etkinliğinin denenmesinde hayvan modelleri olarak tavşan, kedi ve maymunların yararlı oldukları gözlenmiştir (8).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Örneklerin Toplanması ve İdentifikasyonu

Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve uygulama Hastanesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı endoskopi ünitesine 10.05.2006 - 29.12. 2006 tarihleri arasında başvuran hastalara B.30.2.GZP.0.01.00.00.211/1075 sayılı etik kurul onayı ile üst endoskopi yapıldı. Üst endoskopiyle; non ülser dispepsi, gastrit, gastro özefajial reflü, mide ülseri, duodenal ülseri, gastrik karsinoma veya non ülser dispepsi ön tanısı konan 154 hastanın antrumundan iki biyopsi örneği alındı. Alınan biyopsiler steril şartlarda (içerisinde herhangi bir kimyasal olmayan) 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine konuldu. Biyopsiler -80 °C'de derin dondurucuda kullanılıncaya kadar muhafaza edildi.

Eş zamanlı periferik venöz damardan 7 cc kan alındı. Bu kan serumunu ayırmak için düz tüplere ve kan grubu tayini yapmak için ise sitratlı tüplere alındı. Sitratlı tüpe alınan kandan kan grubu tayinleri yapıldı. Düz tüpe alınan kan santrifüjle serumuna ayrıldı. Bu serumlar kullanılıncaya kadar -80 °C'de derin dondurucuya kaldırıldı.

Hastalardan biyopsi alınmasından hemen sonra üre nefes testini yaptırması sağlandı. Üre nefes testi pozitif olan 96 hasta çalışmaya alındı.

3.2 *H. pylori* İnfeksiyonun Tanısında Üre Nefes Testi (ÜNT)

ÜNT'de *H. pylori*'de bulunan üreaz enziminden yararlanılır. Üreaz enzimi ile açığa çıkan ürenin saptanması prensibine dayanır. Hastaya ağız yoluyla radyoaktif işaretli üre verildikten sonra bakterinin üreaz enzimi ile parçalanarak üreden amonyak ve işaretli karbondioksit gazı oluşur ve solukla atılır.

Bu test için hastalar ¹⁴C üre nefes testi için bir miliküri (37kBq) ¹⁴C ile işaretli üre tabletini, en az 4 saatlik açlık sonrası 50 mL su ile birlikte içtiler. Dolaşıma geçen karbondioksit gazının solunum yoluyla atılması için 10 dakika beklenildi (8).

On dakika sonra hastalardan nefes örneği vermeleri istendi. Bu amaçla hastalar, özel olarak hazırlanmış nefes kartını üfleyerek şişirdiler. Ekspirasyonun doğru olarak

yapıldığıının teyidi için, gösterge membranı üzerindeki turuncu rengin sarıya dönmesi kriter olarak alındı. Membranın sarıya dönmesiyle ekspirasyon sonlandırıldı. Sonuçlar Heliprobe Type cihazı (Noster System AB, İsveç) ile otomatik olarak hesaplandı ve DPM ("Disintegrations per Minute") cinsinden verildi. İnfekte olmayan hastalar için 0, sınırda sonucu olan hastalar için 1 ve infekte hastalar için 2 olmak üzere üç farklı şekilde ifade edildi.

3.3 Moleküler Tanı Yöntemleri

PCR, *H. pylori*'nin tanısında çok duyarlı ve özgül bir test olarak büyük ümitler sunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, gastrik biyopsi örneklerine 16S rRNA, ureA vacA ve cagA primerleri kullanılarak PCR yöntemi uygulanmış, 16S rRNA primerinin araştırılmasının daha duyarlı olduğu saptanmıştır (126,127). Bu nedenle çalışmamızda 16S rRNA primerleri kullanılmıştır.

3.3.1 *H. pylori* PCR'da Kullanılan Reaktifler

- **Tissue Digestion Buffer** (Tris-HCl(pH 8.3), EDTA, Tween 20)
(Metis Biyoteknoloji, Türkiye) Kullanıma hazır olarak alındı.
- **DNA Lyzis Binding solusyonu** (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)
Kullanıma hazır olarak alındı.
- **Proteinaz K** (Metis Biyoteknoloji, Türkiye) Kullanıma hazır alındı
- **DNA Precipitation solusyonu** (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)
Kullanıma hazır alındı.
- **Washing solusyonu** (Metis Biyoteknoloji, Türkiye) Kullanıma hazır alındı.
- **DNA Sample diluter** (Metis Biyoteknoloji, Türkiye) Kullanıma hazır alındı.
- **TBE tamponu** (Tris-broat-EDTA) (Sigma Chemical Co., St. Louis, ABD)
Kullanıma hazır alındı.
- **Ethidium bromide** (Sigma Chemical Co., St. Louis, ABD)
Kullanıma hazır alındı.
- **Gel loading solüsyon** (10 µl/load, 2 ml) (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)
Kullanıma hazır alındı.
- **Agaroz** (Sigma Chemical Co., St. Louis, ABD)
Kullanıma hazır alındı.

- **Taq DNA Polimeraz** (Taq DNA polimerase, 5u/μl) (Sigma Chemical Co., St. Louis, ABD) Kullanıma hazır alındı.
- **Moleküler ağırlık belirleyicisi** (DNA ladder 1 kb) (Sigma Chemical Co., St. Louis, ABD) Kullanıma hazır alındı.
- **Primerler**
H. pylori (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)
 Çalışmamızda *H.pylori*'nin 16S rRNA'sına özgü primer seti kullanıldı.

Amp mix Hpy1 (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)

Hp1. 5' CTGGAGAGACTAAGCCCTCC 3' (pozisyon 407–853)

Hp3 . 5' AGGATGAAGGTT TAAGGA TT 3'

Amp mix Hpy2 (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)

Hp1. 5' CTGGAGAGACTAAGCCCTCC 3' (pozisyon 635–744)

Hp2. 5' ATTACTGACGCTGATTGTGC 3'

Amp mix Vac A (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)

VACA-F- 5' ATGGAAATACAACAAACACAC 3' (pozisyon 797–1055)

VACA-R- 5' CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'

Amp mix Cag A (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)

VACA-F- 5' ATGGAAATACAACAAACACAC 3' (pozisyon 1228–1576)

VACA-R- 5' CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'

***H. pylori* standart suşu** (Metis Biyoteknoloji, Türkiye)

ATCC 43504 (*vacA* s1a-m1, *cagA* positive),

3.3.2 DNA Ekstraksiyonu

Çalışmamızda, üre nefes testi pozitif olan biyopsiler kullanılmış, moleküler yöntemle *H. pylori* 16S rRNA'sı aranmıştır. Öncelikle biyopsi örnekleri, onarlı gruplar halinde çalışıldı. Biyopsi örnekleri steril petri içerisinde steril bisturi ile parçalandı. Parçalanmış biyopsi örneklerinin üzerine 100 μl Tissue Digestion Buffer aktarılıp

pipetaj ile homojenize edildi. 65 °C'de 2-3 saat sıcak su banyosuna alındı. Takiben 95 °C'de 10 dakika bekletildi. Tüpler 1 dakika 10.000 x rpm'de santrifüj edilerek üstteki sıvı ekstraksiyonda kullanılmak üzere alındı.

Örneklerin kapakları açılmadan önce spin santrifüj edildi. 1.5 ml steril bir eppendorf tüpü içerisine 400 µl DNA Lyzis Binding solusyonu, 20 µl proteinaz K ve 100 µl biyopsi örneklerinden hazırlanmış olan sıvı konularak vortekslendi. Karışım 65 °C'de 10 dk, +4°C'de 2 dk bekletildi. Spin santrifüj edildikten sonra üzerine 500 µl DNA Precipitation solusyonu eklendi. Tüpler tekrar vortekslendi. 15 dakika 13.00xrpm'de santrifüj edildi. Üst kısım çökeleğe dokunmadan pipetle tamamen alındı. Üzerine 500 µl DNA Washing solusyonu eklendi. 5 dakika 13.000 x rpm'de santrifüj edildi. Üst kısım pipetle tamamen alındı. 10 dakika oda sıcaklığında kurutuldu. Üzerine 40 µl Sample diluter eklendi. Bu ekstraksiyon işleminden sonra örnekler hemen amplifikasyona alındı.

3.3.3 *H. pylori*'ye Ait PCR Ürünlerinin Araştırılması

H. pylori'nin 16S rRNA'sındaki 110 bp lik DNA bölgesi nested PCR yöntemiyle çoğaltıldı. Bunun için Amplifikasyon iki aşamada yapıldı.

1. aşamada Hp1 ve Hp3 primerleri,
2. aşamada Hp1 ve Hp2 primerleri kullanıldı.

Amp mix Hpy1 Hp1 CTGGAGAGACTAAGCCCTCC (pozisyon 407–853)

Hp3 AGGATGAAGGTT TAAGGA TT

Amp mix Hpy2 Hp1 CTGGAGAGACTAAGCCCTCC (pozisyon 635–744)

Hp2. ATTA CTGACGCTGATTGTGC

Temiz PCR odasında buz aküsü üzerinde steril 1.5 ml'lik Eppendorf tüpü içerisinde master mix (dNTP) hazırlandı. Bunun için; 1. aşamada tüp içerisine örnek başına ;

Amp mix Hpy1	20 µl
Taq DNA Polimeraz	0.2 µl

konarak birinci reaktif hazırlandı. Her örnek için 20 µl olacak şekilde 0.5 ml'lik Eppendorf tüplerine dağıtıldı. Üzerine 1 damla mineral yağı damlatılarak kaplandı.

Tüm reaktifler temiz odadan alınarak ekstraksiyon odasına getirildi. Mix master konmuş tüplere ekstraksiyon odasında daha önce hazırladığımız DNA örneklerinden 5 µl ilave edildi. Negatif kontrol tüpüne steril serum fizyolojiktan 5 µl ilave edilirken, pozitif kontrol tüpüne ise *H. pylori* ATCC 43504 standart suşundan elde edilmiş DNA'dan 5 µl ilave edildi. Daha sonra tüpler termal cyclers cihazına (Personal Cycler 20, Biometra, Almanya) yerleştirildi.

Termal cycler cihazında amplifikasyonun birinci aşaması; ilk erime olarak 94 °C'de 10 dakika, daha sonra denatürasyon-bağlanma-uzama aşmaları için sırasıyla 94 °C'de 20 saniye, 55 °C'de 40 saniye, 72 °C'de 60 saniye olmak üzere toplam 30 döngü şeklinde tekrarlandı. Son uzama fazı 72 °C'de 5 dakika olarak tamamlandıktan sonra amplifikasyonda ikinci aşamaya geçildi. 2. aşamada tüp içerisine örnek başına;

Amp mix Hpy2	48 µl
Taq DNA Polimeraz	0.2 µl

konarak ikinci reaktif hazırlandı. Her örnek için 48 µl olacak şekilde 0.5 ml'lik Eppendorf tüplerine dağıtıldı. Üzerine 1 damla mineral yağı damlatılarak kaplandı. Tüm reaktifler temiz odadan alınarak ekstraksiyon odasına getirildi. Mix master konmuş tüplere 1. aşamada elde edilmiş amplifikasyon ürününden 2 µl ilave edildi. Daha sonra tüpler termal cycler cihazına (Personal Cycler 20, Biometra, Almanya) yerleştirildi.

Amplifikasyonun ikinci aşamasında; ilk erime olarak 94 °C'de 2 dakika, daha sonra denatürasyon-bağlanma-uzama aşmaları için sırasıyla 94 °C'de 20 saniye, 60 °C'de 30 saniye, 72 °C'de 40 saniye olmak üzere toplam 30 döngü şeklinde tekrarlandı. Son uzama fazı 72 °C'de 5 dakika olarak tamamlandıktan sonra PCR ürünleri hemen elektroforez aşamasına alındı.

3.3.4 *H. pylori*'ye Ait PCR Ürünlerinin İncelenmesi

Amplifikasyon sonrası elde edilen PCR ürünleri agaroz jele yüklendi. Bu işlem için %2'lik agaroz jel hazırlandı. Agaroz jelin hazırlanması; 0.8 mg agaroz 40 ml TBE tamponu (Tris-Borate-EDTA buffer) alev üzerinde eritildi. Homojen olan karışım yaklaşık 55-60 °C'ye gelince üzerine 0.1 µl ethidium bromide ilave edildi. Bu karışımın homojenizasyonu için hafifçe elde hareket ettirildi. İçerisinde tarakların olduğu jel

tankına döküldü ve donması için bir süre beklendi. Taraklar çıkarıldıktan sonra jel agarozu kullanıma hazır hale geldi.

Parafilm üzerinde 10 µl PCR ürünü ile 3 µl yükleme tamponu karıştırıldıktan sonra jelde açılmış olan kuyucuklara aktarıldı. Ayrıca jele aktarılmış ürünleri değerlendirebilmek için moleküler ağırlık belirleyicisi (DNA ladder) ilave edildi.

Elektroforez tankı TBE tamponu ile doldurulduktan sonra içerisine PCR ürünleri yüklenmiş olan jel yerleştirildi. Elektroforez işlemi 120 V akım verilerek 20-30 dakikada tamamlandı. Orange ile boyanan bantların kuyucuklardan başlayarak negatif kutuptan pozitif kutuba yaklaşık 5 cm ilerlemesi elektroforezi durdurmak için yeterli sayıldı. Oluşan bantlar, jel görüntüleme sisteminde (Vilber Lourmat, Torcy, Fransa) ultraviyole ışık altında jelin izlenmesiyle ortaya çıkarıldı. Her elektroforezde örnekler, negatif ve pozitif kontrollerle incelendi. Görüntüler, kamera (Video Graphic Printer, Sony, Almanya) ile alındı. PCR sonucunda elde edilen DNA dizisinin boyu 110 bp büyüklüğünde olup moleküler ağırlık belirleyicisiyle karşılaştırılıp karar verildi.

3.3.5 *H. pylori* VacA Gen Bölgesinin PCR Yöntemiyle Araştırılması

Üre nefes testi ve *H. pylori* PCR ile pozitif olan örneklerden vacA gen bölgesi araştırıldı. Bunun için

VACA-F- 5' ATGGAAATACAACAAACACAC 3' (pozisyon 797-1055)

VACA-R- 5' CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'

259 bp'lik Primerler kullanıldı.

Temiz PCR odasında buz üzerinde çoğaltma karışımı (master mix) hazırlandı. Bunun için örnek başına;

Amp mix VacA	45µl
Taq DNA Polimeraz	0.2 µl

konarak bir reaktif hazırlandı. Her örnek için 45 µl olacak şekilde 0.5 ml'lik Eppendorf tüplerine dağıtıldı. Üzerine 1 damla mineral yağı damlatılarak kaplandı. Tüm reaktifler temiz odadan alınarak ekstraksiyon odasına getirildi. Mix master konmuş tüplere ekstraksiyon odasında daha önce hazırladığımız DNA örneklerinden 5 µl ilave edildi. Negatif kontrol tüpüne serum fizyolojiktan 5 µl ilave edilirken, pozitif kontrol tüpüne ise *H. pylori* ATCC 43504 standart suşundan elde edilmiş DNA'dan 5 µl ilave edildi.

Daha sonra tüpler termal cycler cihazına (Personal Cycler 20, Biometra, Almanya) yerleştirdi.

Termal cycler cihazında amplifikasyonun birinci aşaması; ilk erime olarak 94 °C’de 5 dakika, daha sonra denatürasyon-bağlanma-uzama aşmaları için sırasıyla 94 °C’de 20 saniye, 55 °C’de 45 saniye, 72 °C’de 60 saniye olmak üzere toplam 30 döngü tekrarlandı. Son uzama fazı 72 °C’de 5 dakika olarak tamamlandıktan sonra PCR ürünleri hemen elektroforez aşamasına alındı.

3.3.6 *H. pylori* VacA Gen Bölgesinin PCR Yöntemiyle İncelenmesi

Amplifikasyon sonrası elde edilen PCR ürünleri agaroz jele yüklendi. Bu işlem için %2’lik agaroz jel kullanıldı. Agaroz jelin hazırlanması; 0.8 mg agaroz 40 ml TBE tamponu (Tris-Borate-EDTA buffer) ile daha önce anlatıldığı şekilde hazırlandı. Parafilm üzerinde, PCR ürününün 1/10 PCR Grade Water ile sulandırılmış 10 µl’si ile 3 µl yükleme tamponu karıştırıldıktan sonra jelde açılmış olan kuyucuklara aktarıldı. Ayrıca jele aktarılmış ürünleri boylarına göre değerlendirebilmek için moleküler ağırlık belirleyicisi (DNA ladder) ilave edildi.

Elektroforez tankı TBE tamponu ile doldurulduktan sonra içerisine PCR ürünleri yüklenmiş olan jel yerleştirildi. Elektroforez işlemi 120 V akım verilerek 20-30 dakikada tamamlandı. Orange ile boyanan bantların kuyucuklardan başlayarak negatif kutuptan pozitif kutuba yaklaşık 5 cm ilerlemesi elektroforezi durdurmak için yeterli sayıldı. Oluşan bantlar, jel görüntüleme sisteminde (Vilber Lourmat, Torcy, Fransa) ultraviyole ışık altında jelin izlenmesiyle ortaya çıkarıldı. Her elektroforezde örnekler, negatif ve pozitif kontrollerle incelendi. Görüntüler, kamera (Video Graphic Printer, Sony, Almanya) ile alındı. PCR sonucunda elde edilen DNA dizisinin boyu 259 bp büyüklüğünde olup moleküler ağırlık belirleyicisiyle karşılaştırılıp karar verildi.

3.3.7 *H. pylori* CagA Gen Bölgesinin PCR Yöntemiyle Araştırılması

CagA (Citotoxin associated gen A); *H. pylori* inflamasyonunda bakterinin mide mukozasına yapışmasında katkısı olan bir proteindir (23).

CagA pozitif *H. pylori* ile enfeksiyonda, mide distalinde adenokanser ve duodenum ülseri gelişim riski artmaktadır. Bu nedenle, cagA pozitif suşla enfeksiyonun spesifik

olarak saptanması büyük önem taşımaktadır. CagA pozitif suşların saptanmasında serolojik testler ve PCR kullanılabilir (126).

Üre nefes testi ve *H. pylori* PCR ile pozitif olan örneklerden *cagA* gen bölgesi araştırıldı. Bunun için;

CAGA-F- 5' GATAACAAGCTTTTGAGG 3' (pozisyon 1228–1576)

CAGA-R- 5'CTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA 3'

349 bp'lik Primerleri kullanıldı.

Temiz PCR odasında buz üzerinde çoğaltma karışımı (master mix) hazırlandı. Bunun için örnek başına;

Amp mix CagA	45µl
Taq DNA Polimeraz	0.2 µl

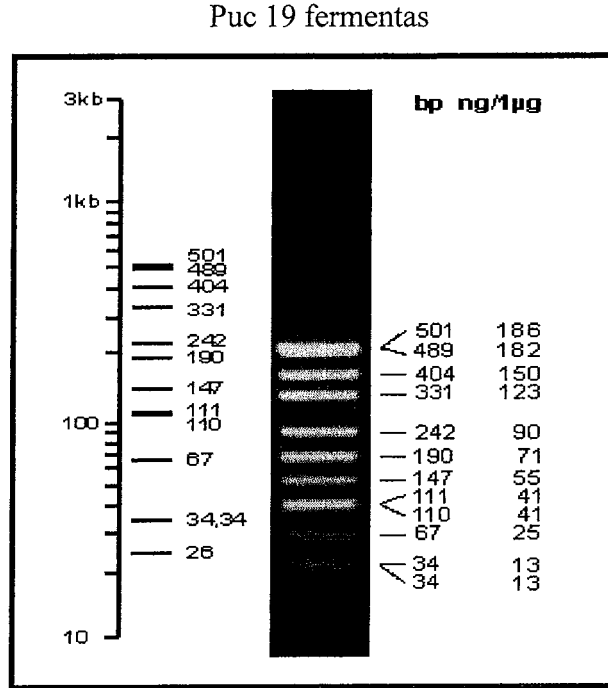
konarak bir reaktif hazırlandı. Her örnek için 45 µl olacak şekilde 0.5 ml'lik Eppendorf tüplerine dağıtıldı. Üzerine 1 damla mineral yağı damlatılarak kaplandı. Tüm reaktifler temiz odadan alınarak ekstraksiyon odasına getirildi. Mix master konmuş tüplere ekstraksiyon odasında daha önce hazırladığımız DNA örneklerinden 5 µl ilave edildi. Negatif kontrol tüpüne serum fizyolojiktan 5 µl ilave edilirken, pozitif kontrol tüpüne ise *H. pylori* ATCC 43504 standart suşundan elde edilmiş DNA'dan 5 µl ilave edildi. Daha sonra tüpler termal cycler cihazına (Personal Cycler 20, Biometra, Almanya) yerleştirdi. Termal cycler cihazında amplifikasyonun birinci aşaması; ilk erime olarak 94 °C'de 5 dakika, daha sonra denatürasyon-bağlanma-uzama aşmaları için sırasıyla 94 °C'de 20 saniye, 55 °C'de 45 saniye, 72 °C'de 60 saniye olmak üzere toplam 30 döngü tekrarlandı. Son uzama fazı 72 °C'de 5 dakika olarak tamamlandıktan sonra PCR ürünleri hemen elektroforez aşamasına alındı.

3.3.8 *H. pylori* CagA gen bölgesinin PCR Yöntemiyle İncelenmesi

Amplifikasyon sonrası elde edilen PCR ürünleri agaroz jele yüklendi. Bu işlem için %2'lik agaroz jel kullanıldı. Agaroz jelin hazırlanması; 0.8 mg agaroz 40 ml TBE tamponu (Tris-Borate-EDTA buffer) ile daha önce anlatıldığı şekilde hazırlandı.

Parafilm üzerinde, PCR ürünün 1/10 PCR Grade Water ile sulandırılmış 10 µl'si ile 3 µl yükleme tamponu karıştırıldıktan sonra jelde açılmış olan kuyucuklara aktarıldı.

Ayrıca jele aktarılmış ürünleri boylarına göre değerlendirebilmek için moleküler ağırlık belirleyicisi (DNA ladder) ilave edildi (Resim11)



Resim 11. Moleküler ağırlık belirleyicisinin agaroz jeldeki görüntüsü

Elektroforez tankı TBE tamponu ile doldurulduktan sonra içerisine PCR ürünleri yüklenmiş olan jel yerleştirildi. Elektroforez işlemi 120 V akım verilerek 20-30 dakikada tamamlandı. Orange ile boyanan bantların kuyucuklardan başlayarak negatif kutuptan pozitif kutuba yaklaşık 5 cm ilerlemesi elektroforezi durdurmak için yeterli sayıldı.

Oluşan bantlar, jel görüntüleme sisteminde (Vilber Lourmat, Torcy, Fransa) ultraviyole ışığı altında jelin izlenmesiyle ortaya çıkarıldı. Her elektroforezde örnekler, negatif ve pozitif kontrollerle incelendi. Görüntüler, kamera (Video Graphic Printer, Sony, Almanya) ile alındı. PCR sonucunda elde edilen DNA dizisinin boyu 349 bp büyüklüğünde olup moleküler ağırlık belirleyicisiyle karşılaştırılıp karar verildi.

3.4 *H. pylori*'de Serolojik Tanı

Bireyin geçmişte *H. pylori* enfeksiyonu ile ilişkisinin araştırılmasında kanda anti *H. pylori* IgG, M ya da IgA antikorlarının aranması yararlı, ucuz ve hızlı testlerdendir.

Piyasadaki son dönem ELISA testlerinin çoğunun duyarlılığı %100'e, özgüllüğü ise %95'e ulaşmaktadır (126,128).

Gastrik *H. pylori* infeksiyonlarında hastanın serum, tükürük, idrar ve gastrik sekresyonlarında serolojik testlerle tespit edilebilir düzeylerde spesifik antikorlar açığa çıkmaktadır (91).

3.4.1 Mikroelisa Yönteminde Kullanılan Reaktifler

- ***H. pylori* antijeni ile kaplanmış kuyucuklar** (Trinity Biotech USA 1x8 stripli)
Kullanıma hazır alındı.
- **Serum diluent type I** (Trinity Biotech USA 30 mL şişede) Kullanıma hazır alındı.
- **Calibrator** (Trinity Biotech USA 0.4 mL tüpte) Kullanıma hazır alındı.
- **High positive control** (Trinity Biotech USA 0.4 mL tüpte) Kullanıma hazır alındı.
- **Low positive control** (Trinity Biotech USA 0.4 mL tüpte) Kullanıma hazır alındı.
- **Negative control** (Trinity Biotech USA 0.4 mL tüpte) Kullanıma hazır alındı.
- **Horseradish-peroxidase Conjugate** (Trinity Biotech USA 16 mL şişede)
Kullanıma hazır alındı.
- **Chromogen/Substrate solution Type I** (Trinity Biotech USA 15 mL şişede)
Kullanıma hazır alındı.
- **Wash Buffer Type I (20xconcentrate)** (Trinity Biotech USA 60 mL şişede)
Kullanıma hazır alındı.
- **Stop Solution** (Trinity Biotech USA 15 mL şişede) Kullanıma hazır alındı.

3.4.2 *H. pylori* Spesifik IgA'nın Mikroelisa Yöntemiyle Araştırılması

Üre nefes testi pozitif olan 96 hastada, mikro eliza yöntemiyle *H. pylori* spesifik IgA'nın varlığı araştırılmıştır. Üre nefes testiyle eş zamanda periferik venden alınan kanlardan elde edilen serumlar; -80 °C'den alınarak oda ısısında çözünmesi sağlandı. Serumlar vortekslendi ve spin santrifüj yapıldı. Önce steril tüplerde kontrollerin, kalibratörlerin ve hasta serumlarının 1/21 dilasyonları yapıldı. 60 mL 20 x Wash Buffer ve 1140 mL distile su karışımından oluşan yıkama solusyonu hazırlandı. Kuyucuklar

içerisindeki karışımların pipetajla homojenizasyonu sağlandı. Hazırlanan karışım 100 μ L olacak şekilde kuyucuklara eklendi. Oda ısısında 25 dakika inkübasyona bırakıldı. Otomatik yıkıma LP35 Plate Washer (Diagnostics Pasteur France) cihazıyla yıkandı. Kuyucuklar ters çevrilerek içindeki sıvılar boşaltıldı. Her bir kuyucuğa 100 μ L konjugat eklendi. Oda ısısında 25 dakika inkübasyona bırakıldı ve tekrar yıkandı. Kuyucuklar ters çevrilerek içindeki sıvılar boşaltıldı. Her bir kuyucuğa 100 μ L Kromogen/Substrat solusyonu eklendi. Oda ısısında karanlıkta 10-15 dakika inkübasyona bırakıldı. Her bir kuyucuğa 100 μ L stop solusyonu eklenerek reaksiyon durduruldu.

3.4.3 Sonucun Okutulması

Kuyucuklar LP400 Optik okuyucuda (Diagnostics Pasteur Austria) 450 nm'de ve 620 nm referans aralığında okutuldu. ELİSA kitini üreten firmanın önerisi doğrultusunda üç kalibratörün ortalaması ile kite ait olan correction faktörün çarpımı cutoff calibrator değeri verdi. Cutoff calibrator değerini hasta Optic Dansite değerlerine oranladığımızda elde edilen sonuçlar şu şekilde değerlendirildi;

≤ 0.90 değeri negatif,

0.91-1.09 değeri şüpheli,

≥ 1.10 değeri ise pozitif kabul edildi.

İstatistiksel Değerlendirme: Veriler örnek sayısı , yüzde olarak (n (%)) gösterildi. İstatistiksel araştırmalar Windows tabanlı SPSS 10.0 programında McNemar'ın Bağımlı grublarda X^2 testi kullanılarak yapıldı. İstatistiksel olarak 0.05'den küçük değerler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

H. pylori tanısında üre nefes testi (ÜNT) bulguları önemlidir. Üst endoskopiyle; non ülser dispepsi, eroziv gastrit, gastrit, gastro özefajial reflü, gastrik ülser, duodenal ülser ya da gastrik karsinoma ön tanısı konulan 154 hastaya *H. pylori* tanısı için üre nefes testi yapıldı. ÜNT ile 154 olgunun 96'sında (%62) *H. pylori* pozitif bulundu.

Yüzellidört hastanın 81'i (%53) kadın, 73'ü (%47) erkekti (Tablo 6). Üre nefes testi sonuçlarıyla cinsiyet arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.618$).

Tablo 6. Üre nefes testi sonuçlarıyla cinsiyetin karşılaştırılması

Cinsiyet	ÜNT pozitif		ÜNT negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Kadın	49	60	32	40	81	100
Erkek	47	64	26	36	73	100
Toplam	96	62	58	38	154	100

ÜNT yapılan hastaların 71'i (%46) O kan grubu, 14'ü (%9) AB kan grubuydu (Tablo 7). Gastrointestinal sistem şikayetiyle başvuran hastalarda O kan grubunun diğer gruplara oranla fazla olmasına rağmen, *H. pylori* pozitifliği açısından değerlendirildiğinde üre nefes testi sonuçlarıyla kan grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.349$).

Çalışmaya alınan 154 hastanın 37'si (%24) 15-30 yaş grubunda, 63'ü (%40) 31-50 yaş grubunda, 43'ü (%28) 51-70 yaş grubunda ve 11'i (%8) 70 yaş üzeri gruptaydı (Tablo 8). *H. pylori* pozitifliği ile yaş grupları arasında sadece 31-50 yaş grubunda anlamlı farklılık saptandı ($p=0.008$).

Tablo 7. Üre nefes testi sonuçlarıyla kan gruplarının karşılaştırılması

Kan grubu	ÜNT pozitif		ÜNT negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
0	47	66	24	34	71	100
A	25	53	22	47	47	100
B	15	68	7	32	22	100
AB	9	64	5	36	14	100
Toplam	96	62	58	38	154	100

Tablo 8. *H. pylori* infeksiyonunda yaş gruplarının durumu

Yaş grupları	<i>H. pylori</i> pozitif		<i>H. pylori</i> negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
15-30	23	62	14	38	37	100
31-50	48	76	15	24	63	100
51-70	21	49	22	51	43	100
>70	4	36	7	64	11	100
Toplam	96	63	58	37	154	100

Çalışmaya alınan 154 hastanın 91'inin (%60) ailesinde hiçbir GİS şikayeti yoktu. Kalan 63 hastanın 25'nin (%16) annesinde, 19'nun (%12) babasında, 9'nun (%7) kardeşinde, 5'nin (%3) eşinde ve 5'nin (%3) tüm aile fertlerinde GİS şikayetleri vardı (Tablo 9). *H. pylori* pozitifliğinin aile bireyleri ile ilişkisi araştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.559$).

Çalışmaya alınan 154 hastanın 40'ı (%26) sigara kullanıyor, 114'ü (%74) sigara kullanmıyordu (Tablo 10). *H. pylori* pozitifliğinin sigara kullanımı ile ilişkisi incelendiğinde anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.245$).

Tablo 9. *H. pylori* infeksiyonunda aile bireylerinin durumu

Aile bireyleri	<i>H. pylori</i> pozitif		<i>H. pylori</i> negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Anne	17	68	8	32	25	100
Baba	13	68	6	32	19	100
Kardeş	7	78	2	22	9	100
Eş	2	40	3	60	5	100
Ailenin tüm bireylerinde	4	80	1	20	5	100
Ailesel özelliği olmayan	53	58	38	42	91	100
Toplam	96	62	58	38	154	100

Tablo 10. *H. pylori* sonuçlarıyla sigara kullanımının karşılaştırılması

Sigara kullanımı	<i>H. pylori</i> pozitif		<i>H. pylori</i> negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Sigara kullanan	28	70	12	30	40	100
Sigara kullanmayan	68	60	46	40	114	100
Toplam	96	62	58	38	154	100

Çalışmaya alınan 154 hastanın 36'ında (%23) Gastrointestinal sistem (GIS) dışı kronik hastalıklar vardı. Bu hastaların 14'ünde(%39) hipertansiyon, hiperkolestrolemi ve kronik kalp hastalıkları, 10'unda (%29) bronşial astım, 9'unda (%25) Diabetes Mellitus, 2'sinde (%6) migren ve 1'inde (%3) kronik böbrek yetmezliği bulunmaktaydı (Tablo11). *H. pylori* pozitifliği ile kronik hastalıklar arasında bronşial astım dışında anlamlı bir farklılık saptanmadı. İstatistiksel ileri analiz sonucunda bronşial astım hastalarında *H. pylori* anlamlı olarak negatif bulundu ($p= 0.018$).

Tablo 11. *H. pylori* pozitifliği ile kronik hastalıkların karşılaştırılması

Hastalıklar	<i>H. pylori</i> pozitif		<i>H. pylori</i> negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Hipertansiyon Hiperkolesterolemi Kr. Kalp Hastalığı	12	86	2	14	14	100
Astım Bronşiale	3	30	7	70	10	100
Diabetes Mellitus	7	78	2	22	9	100
Migren	2	100	0	0	2	100
Kr.Böbrek Yetmezliği	0	0	1	100	1	100
Toplam	24	66	12	34	36	100

Gastroenteroloji kliniğinde yapılan araştırmalar sonucunda, üst gastrointestinal sistem şikayetleriyle başvuran ve çalışmaya alınan 154 hastanın; 11'ine (%7) gastroözefajiyal reflü, 14'üne (%9) nonülser dispepsi, 103'üne (%66) gastrit, 8'ine (%6) mide ülseri, 13'üne (%9) düodenum ülseri, 3'üne (%2) adeno karsinoma ve 2'sine (%1) B hücreli lenfoma tanısı konuldu (Tablo12). *H. pylori* pozitifliği ile hastalık grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.0619$).

Tablo 12. ÜNT sonuçlarının hastalık türlerine göre dağılımı

Hastalık grubu	ÜNT Pozitif		ÜNT Negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Gastroözefajiyal reflü	3	27	8	63	11	100
Nonülser dispepsi	8	57	6	43	14	100
Gastrit	67	65	36	35	103	100
Mide ülseri	7	88	1	12	8	100
Düodenum ülseri	9	69	4	31	13	100
Adeno Ca	2	67	1	33	3	100
Lenfoma	0	0	2	100	2	100
Toplam	96	62	58	38	154	100

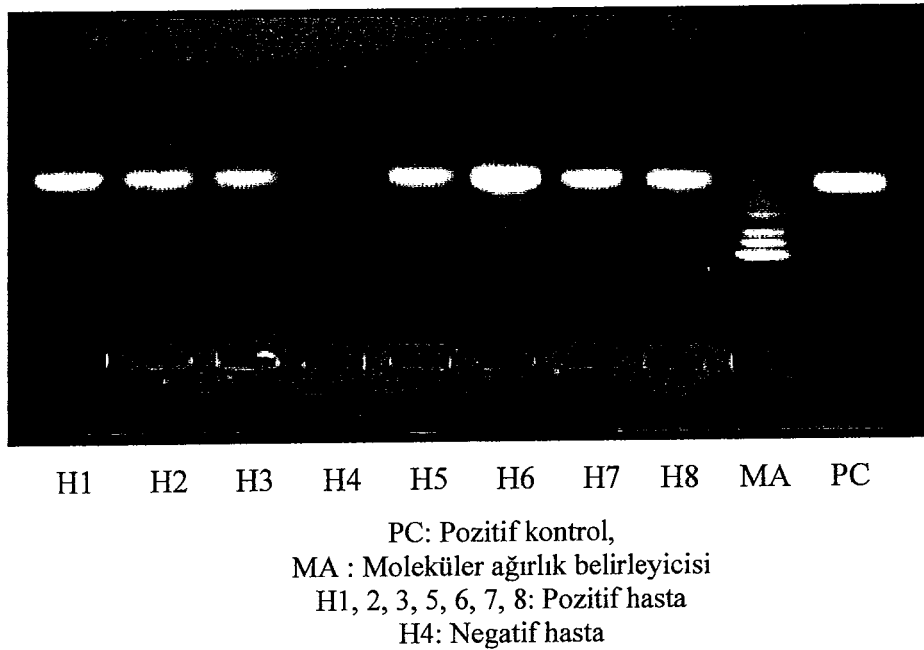
Hastaların 65'i (%42) proton pompa inhibitörü (PPI) kullanıyor, 89'u (%58) kullanmıyordu (Tablo 13). *H. pylori* pozitifliği ile PPI kullanımı arasındaki anlamlı bir

fark bulunamadı (p: 0,083). PPI kullananların 30'u (%19), PPI kullanmayanların ise 9'u antibiyotik kullanmaktaydı. PPI ve antibiyotiği birlikte kullananlarda *H. pylori* enfeksiyonu anlamlı olarak düşük saptandı (p= 0.0001).

Tablo 13. *H. pylori* enfeksiyonunda PPI ve Antibiyotik kullanımı

<i>H. pylori</i>	PPI pozitif				PPI negatif				Toplam	
	Antibiyotik kullanıyor		Antibiyotik kullanmıyor		Antibiyotik kullanıyor		Antibiyotik kullanmıyor			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>H. pylori</i> pozitif	9	9	26	27	9	9	52	55	96	100
<i>H. pylori</i> negatif	21	36	9	16	0	0	28	48	58	100
Toplam	30	19	35	23	9	6	80	52	154	100

ÜNT pozitif olan 96 hastanın antral biyopsi örneklerinden DNA'ları ekstrakte edilip, *H. pylori*'ye özgü primerlerle PCR'ları yapılarak agaroz jelde yürütüldüğünde 93 (%97) örnekte beklenen büyüklükte bant elde edilmiştir (Resim 11).



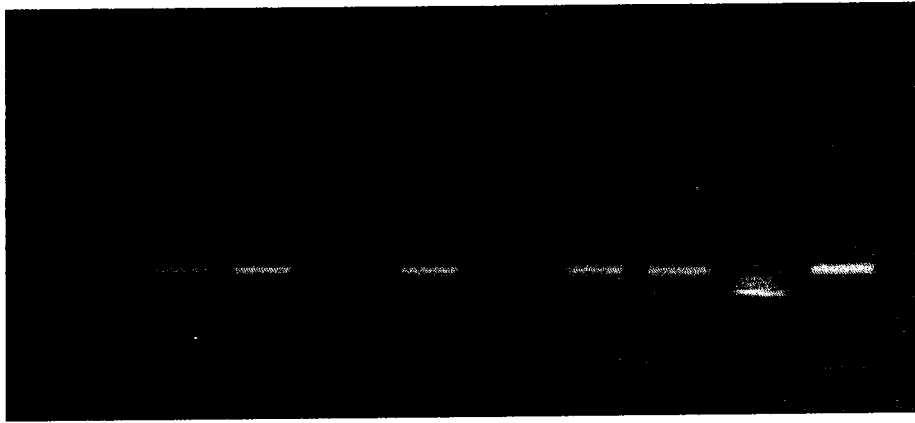
Resim 11. *H. pylori*'ye ait amplifikasyon ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

Hastalık grupları ile PCR pozitifliği karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p= 0.699$) (Tablo14).

Tablo 14. PCR sonuçlarının hastalık gruplarına göre dağılımı

Hastalık grupları	<i>H. pylori</i> PCR pozitif		<i>H. pylori</i> PCR negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Gastroözefajial reflü	3	100	0	0	3	100
Nonülser dispepsi	7	88	1	12	8	100
Gastrit	65	96	2	4	67	100
Mide ülseri	7	100	0	0	7	100
Düodenum ülseri	9	100	0	0	9	100
Adeno Ca	2	100	0	0	2	100
Toplam hasta	93	97	3	3	96	100

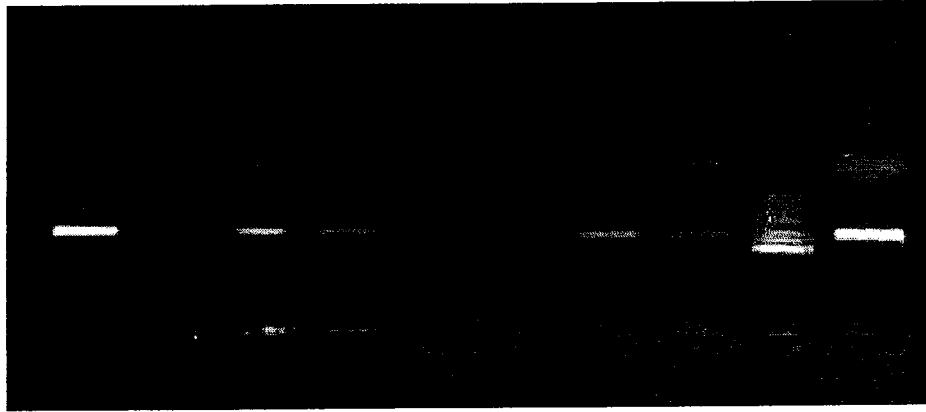
ÜNT ile pozitif saptanan hastaların antral biyopsi örneklerinden DNA ekstraksiyonu yapılarak PCR ile *vacA* ve *cagA* gen bölgeleri çalışıldı (Resim 12,13).



H1 H2 H3 H4 H5 H6 H7 H8 MA PC

PC: Pozitif kontrol
 MA : Moleküler ağırlık belirleyicisi
 H2, 3, 5, 7, 8: Pozitif hasta
 H1, 4, 6: Negatif hasta

Resim 12. *H. pylori vacA* genine ait amplifikasyon ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü



H1 H2 H3 H4 H5 H6 H7 H8 MA PC

PC: Pozitif kontrol
MA: Moleküler ağırlık belirleyicisi
H1, 2, 3, 4, 6, 7, 8: Pozitif hasta
H5: Negatif hasta

Resim 13. *H. pylori* CagA genine ait amplifikasyon ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

PCR pozitif 93 hastanın 80'inde (%86) vacA, 52'sinde (%55) cagA pozitif bulundu (Tablo 15). İstatistiksel analiz sonucunda PCR ile *H. pylori* saptanan hastalarda VacA anlamlı olarak pozitifdi ($p=0.000006$).

Tablo 15. PCR ile *H. pylori* pozitifliği saptanan hastalarda vacA ve cagA sonuçları

n:93	vacA				cagA			
	pozitif		negatif		pozitif		Negatif	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>H. pylori</i> PCR pozitif	80	86	13	14	52	55	41	45

ELISA yöntemi ile yapılan araştırmada 154 hastanın 116'sında (%75) Hp sIgA antikorları pozitif, 38'inde (%25) negatif bulundu (Tablo 16). UNT ile Hp sIgA pozitifliği arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0.00003$).

Tablo 16. ÜNT ile Hp sIgA antikorlarının karşılaştırılması

n=154	ÜNT					
	pozitif		negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Hp sIgA pozitif	83	72	33	28	116	100
Hp sIgA negatif	13	34	25	66	38	100
Toplam	96	62	58	38	154	100

VacA pozitif olan 80 hastanın 73'ü (%91) Hp sIgA pozitif , 7'i (%9) Hp sIgA negatif bulundu (Tablo 17). *H. pylori* sIgA seropozitifliği ile vacA arasında anlamlı bir fark bulundu ($p= 0.022$).

Tablo 17. *H. pylori* Hp sIgA seropozitifliği ile vacA ilişkisi

n=93	Hp sIgA					
	pozitif		negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
VacA pozitif	73	91	7	9	80	100
VacA negatif	9	69	4	31	13	100
Toplam	82	88	11	12	93	100

Cag A pozitif olan 52 hastanın 47'si (%90) Hp sIgA pozitif, 5'i (%10) negatif bulunmuştur (Tablo 18). *H. pylori* sIgA seropozitifliği ile cagA arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p= 0.171$).

Tablo 18. *H. pylori* Hp sIgA seropozitifliği ile cagA ilişkisi

n=93	Hp sIgA					
	Pozitif		Negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
CagA pozitif	47	90	5	10	52	100
CagA negatif	33	80	8	20	41	100
Toplam	80	86	13	14	93	100

VacA ve cagA pozitif 52 hastanın 47'sinde (% 90), vacA ve cagA negatif 13 hastanın 9'unda (% 69) Hp sIgA pozitif saptandı (Tablo 19). VacA ve cagA pozitifliği ile Hp sIgA miktarı arasında anlamlı bir ilişki vardı ($p= 0.0482$)

Tablo 19. VacA ve cagA birlikteliğinin Hp sIgA üzerine etkisi

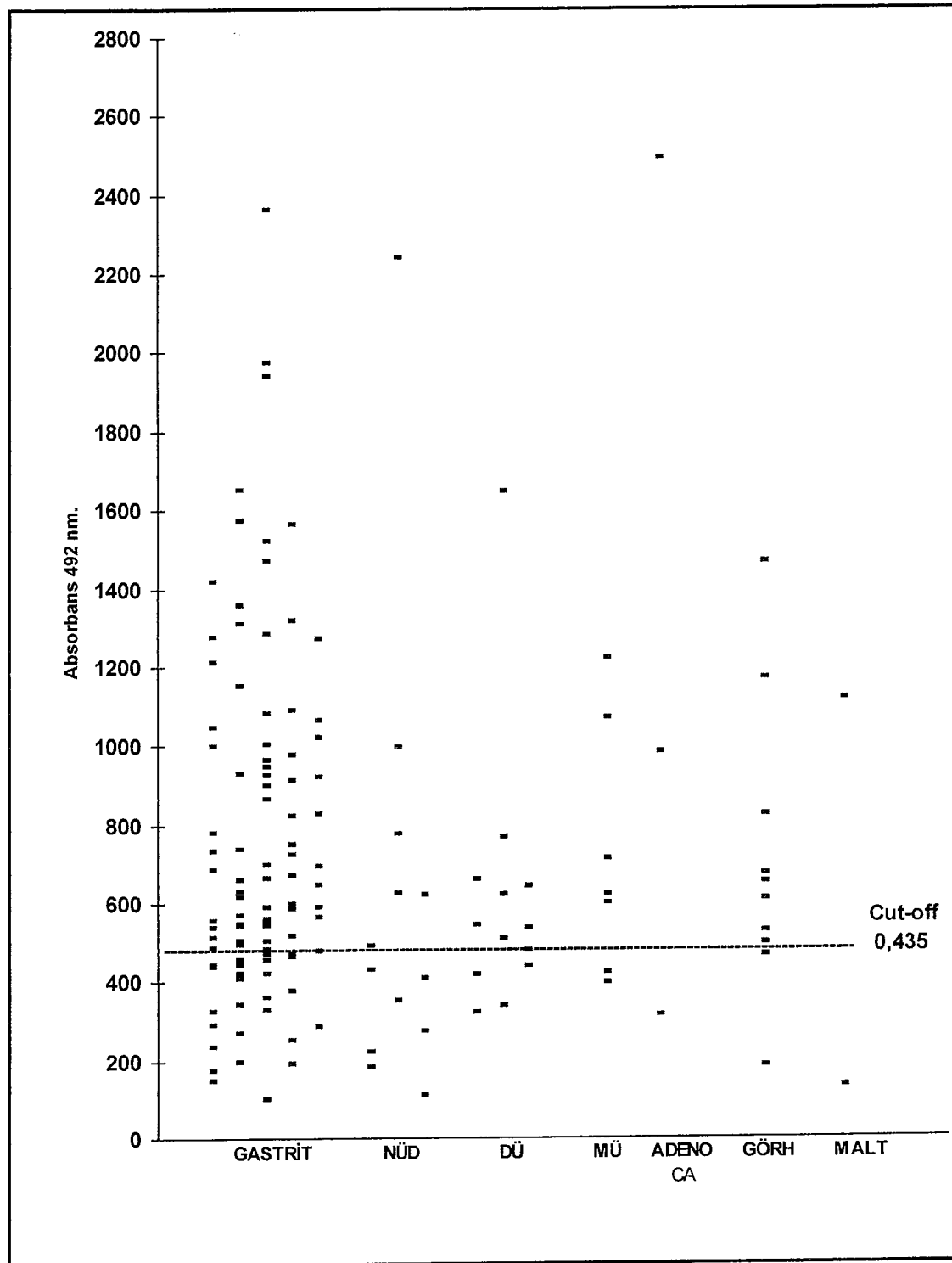
n=93	Hp sIgA					
	Pozitif		Negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
VacA ve cagA pozitif	47	90	5	10	52	100
Vac A ve cagA negatif	9	69	4	31	13	100
Toplam	56	86	9	14	65	100

Çalışmaya alınan 154 hastanın Hp sIgA ile hastalık grupları arasında ilişki incelendiğinde pozitiflik en yüksek Gastroözefajial reflü hastalarında (%82) saptandı. Hastalık grupları ile Hp sIgA oluşumu arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p= 0.463$) (Tablo 20, 21).

Tablo 20. Hp sIgA ile hastalık grupları arasında ilişki

Hastalık grubu	sIgA Pozitif		sIgA Negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Gastroözefajial reflü	9	82	2	12	11	100
Nonülser dispepsi	7	50	7	50	14	100
Gastrit	79	77	24	23	103	100
Mide ülseri	6	75	2	25	8	100
Düodenum ülseri	9	69	4	31	13	100
Adeno Ca	2	67	1	33	3	100
lenfoma	1	50	1	50	2	100
Toplam	113	73	41	27	154	100

Tablo 21. Hastalık grupları ile Hp sIgA OD değerleri arasındaki ilişki



NÜD: Non ülser dispepsi

DÜ: Düodenal ülser

MÜ: Mide ülseri

GÖRH: Gastroözefajial reflü

MALT: Mukozayla ilişkili lenfoid doku lenfoması

5. TARTIŞMA

Helicobacter pylori, dünyada en sık rastlanılan enfeksiyon ajanlarından biri olup, dünya nüfusunun yarısı bu organizma ile enfektedir (2).

Epidemiyolojik çalışmalar, *H. pylori* prevalansının, ülke ve toplumların gelişmişlik düzeyleri ile büyük paralellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Tüm dünya nüfusunda enfeksiyon riski yaşla ve sosyoekonomik düzeyin düşüklüğü ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Gelişmiş ülkelerde yıllık *H. pylori* enfeksiyonu insidansı %0.5-1 iken gelişmekte olan ülkelerde bu oran %10 civarındadır (129).

Gelişmekte olan ülkelerde çocukların tamamına yakını *H. pylori* ile enfekte iken, gelişmiş ülkelerde çocukluk çağında *H. pylori* prevalansı oldukça düşüktür. Bugün için enfeksiyonun kazanılmasında gelir ve eğitim düzeyindeki düşüklükle birlikte çocukluk çağında kalabalık ortamda yaşamak en önemli risk faktörü olarak kabul edilmektedir.

Ülkemizde *H. pylori* prevalansı oldukça yüksektir. Nüfusun %80'i 20 yaşına kadar enfekte olmaktadır. Değişik bölgelerde yapılan çeşitli seroprevalans çalışmalarında %60-80 arasında oranlar verilmektedir (115,130).

H. pylori tanısında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan noninvaziv ve güvenilir bir test olarak kullanılan üre nefes testidir ve aynı zamanda bu test altın standart bir testtir. Üre nefes testinin duyarlılığı %90-100 ve özgüllüğü %89-100 arasındadır (131-133). Bu nedenle çalışmamızda ÜNT referans yöntem olarak kullanılmış ve ÜNT pozitif hastalar *H. pylori* pozitif olarak kabul edilmiştir.

H. pylori enfeksiyonunda yapılan araştırmalara göre, kadın ve erkeklerde enfeksiyonun yaklaşık olarak aynı oranlarda görüldüğü belirtilmektedir (77). Ülkemizde Yılmaz ve arkadaşlarının (134) ELISA ile yapmış oldukları çalışmada kadınlarda % 85.4 ve erkeklerde de % 76.3 gibi bir seropozitiflik saptanmıştır. Yine Şeyda ve ark. (135) çalışmasında, kadın ve erkek cinsiyetleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Bununla birlikte *H. pylori* infeksiyonunun kadınlarda anlamlı olarak yüksek (%60.6) olduğunu belirten çalışmalar da vardır (136). Bu konuda yurtdışında yapılan diğer çalışmalarda da kadın ve erkek arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (137, 138). Çalışmamızda 154 hastanın UNT yapılmış, *H. pylori* pozitifliği ile cinsiyet arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır.

H. pylori infeksiyonunun kan grupları ile ilişkisi birçok araştırmacı tarafından incelenmiş, birçoğu O kan grubu ile infeksiyon arasında anlamlı ilişki saptamıştır. Aspholm-Hurtig M ve ark.'nın (139) çalışmasında Amerikan Kızılderililerinin %60'ında *H. pylori* infeksiyonu ile O kan grubu arasında anlamlı ilişki olduğunu gösterilmişlerdir. Brigiç ve ark.'nın (140) 68 hastada yaptıkları çalışmada A ve O kan gruplarında infeksiyonun diğer gruplara oranla anlamlı biçimde yüksek olduğu belirtmişlerdir. Alkout ve ark.'nın (141) yaptığı çalışmada ise peptik ülserli hastalarda O kan grubundakilerin yüksek riske sahip olduğu ve bu kan grubundakilerde *H. pylori* inflamatuvar yanıtının daha belirgin olduğu bildirilmektedir.

Ülkemizde Kanbay ve ark.'nın (136) yapmış olduğu bir çalışmada, A ve O kan gruplarında infeksiyonun yüksek olduğu belirtilmiştir. Yine, Şeyda ve ark.'nın (135) 1680 hasta üzerinde ÜNT ile yapmış oldukları çalışmada kan grupları arasında *H. pylori* pozitifliği açısından anlamlı bir farklılık saptanamamıştır.

Çalışmamızda *H. pylori* pozitif saptanan hastaların kan gruplarına göre dağılımında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Ancak üst gastrointestinal sistem şikayetleriyle çalışmaya alınan hastalarda O kan grubundakilerin diğer kan gruplarına nazaran daha fazla bir yüzdeye sahip olması (%46), O kan grubunun GIS şikayetleri açısından risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde kan grupları arasında anlamlı farklılık olmadığını destekleyen çok sayıda serolojik ve endoskopik çalışmalar vardır (140,142).

H. pylori infeksiyonunun erken yaşlarda kazanılmakta ve rekürrenslerle devam etmektedir. Afrika ve Hindistandaki çocukların %80'inden çoğunun 20 yaşına kadar enfekte oldukları, gelişmiş ülkelere ise bu oranın gelişmekte olan ülkelere göre daha düşük olduğu (İtalyada %29, Belçika da %4, Kanada, Fransa ve ABD'de %0.1 ve altında) belirtilmektedir (124).

Ülkemizde ise *H. pylori* infeksiyonu oldukça sık görülmektedir. Özden ve ark.'nın (143) yaptığı bir seroprevalans çalışmasında 7-12 yaş grubunda %79, 13-18 yaş

grubunda % 83, 19-24 yaş grubunda %75, 25-29 yaş grubunda 96, 30-34 yaş grubunda %91, 35-39 grubunda %83, 40-65 yaş grubunda ise %94 pozitiflik saptanmıştır. Öztürk ve ark.'nın (144) 1-17 yaş arası GİS semptomu olan ve olmayan çocuklarda yaptıkları çalışmada; semptomatiklerde %48 ve asemptomatiklerde %50 *H. pylori* infeksiyonu belirlemişler-dir. Özden ve ark.'nın (145) Ankara'daki ilkokul öğrencilerinde yapmış olduğu bir çalışmada, 1990 yılında %78.5 olan seroprevalansın, 2000 yılında %66.3'e düştüğü ortaya konmuştur. Güney Doğu Anadolu bölgesinde Özdal ve ark. (6) tarafından yapılan bir çalışmada da 1994 ve 2004 yılları arasında yaş gruplarına göre *H. pylori* seroprevalansı araştırılmış ve benzer şekilde, 10 yıllık süre içinde, prevalansın anlamlı derecede azalmış olduğu saptanmıştır. 1994 yılında 0-5 yaş grubunda %28.4, 6-10 yaş grubunda %44, 11-15 yaşlarında %69.4, 16-20 yaşları arasında %67.9 ve 21-30 yaş grubunda %71.1 olan prevalansın, 2004 yılında yaş grupları göre sırasıyla %22.6, %28.6, %40.8, %50 ve %60.4'e düştüğü belirlenmiştir.

Us ve Haşcelik (146) tarafından 657 serum örneği üzerinde ELISA ile yapılan başka bir seroprevalans çalışmasında ise 40-49 yaş periyodundaki insanlarda %81.3 ve 50 yaş ve üzeri insanlarda da %66.3 oranında *H. pylori* infeksiyonu tanımlamışlardır.

ÜNT ile yaptığımız çalışmada 15-30 yaş grubunda %62, 31-50 yaş grubunda %76, 51-70 yaş grubunda %49, 70 yaş üzeri grubunda ise %36 oranında *H. pylori* pozitifliği saptanmıştır. 31-50 yaş grubunda diğer gruplara oranla anlamlı bir fark bulunmuştur. Çalışmada *H. pylori* varlığı araştırılmak amacıyla ÜNT kullanıldığından infeksiyona maruz kalanların saptandığı seroprevalans (IgG) çalışmalarındaki kümülatif değerler elde edilmemiştir.

H. pylori infeksiyonunda aile içi bulaş önemlidir. Epidemiyolojik veriler, kişiden kişiye geçiş olasılığını kuvvetle desteklemektedir. Özellikle erken çocukluk döneminde, kalabalık ve fakir ailelerde bu olasılık daha geçerlidir. Aile içinde ve aynı ortamda yaşayan gruplarda infeksiyonun kümeleştiği saptanmıştır. Bu durum, hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan ülkelerde gösterilmiştir. Ebeveynlerinde özellikle annelerinde *H. pylori* enfeksiyonunu olan çocuklarda *H. pylori* prevalansının oldukça yüksek olduğu saptanmıştır (120).

Drumm ve arkadaşlarının (120) çalışmasında, çocuklarında *H. pylori* kolonizasyonu olan 34 ailenin 25'inde, çocuklarında *H. pylori* kolonizasyonu saptanmayan 33 ailenin ise 8'inde *H. pylori* pozitif bulunmuş ve özellikle annelerde farkın daha da anlamlı

olduğu ortaya konmuştur. Çocukları infekte olan 18 annenin 15'inde, çocukları infekte olmayan 17 annenin ise sadece 2'sinde *H. pylori* pozitif bulunmuşlardır. Bununla birlikte Bengaldeş'te yapılan başka bir çalışmada, *H. pylori* pozitif ve negatif olan çocukların ebeveynlerindeki *H. pylori* enfeksiyonu sıklığı arasında farklılık bulunmamıştır(147). Başka bir çalışmada yine farklılık bulunmamış, enfeksiyon kaynağının aile dışında olabileceği belirtilmiştir (123). Kişiden kişiye bulaşmada, öpüşme ve damlacık enfeksiyonu olarak bilinen bulaş yolların önemli olduğu düşünülmektedir. *H. pylori* enfeksiyonunun bu yolla eşler arasında geçişinin mümkün olabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Malaty ve ark. (122) yapmış oldukları çalışmada, *H. pylori* pozitif olan kişilerin eşlerinde %68, negatif bulunanların eşlerinde ise %9 oranında *H. pylori* pozitifliği bildirilmiştir.

Çalışmaya aldığımız 154 hastanın 91'inin (%60) ailesinde hiçbir GIS şikayeti saptanmadı. 154 hastanın 25'nin (%16) annesinde, 19'nun (%12) babasında, 9'nun (%7) kardeşinde, 5'nin (%3) eşinde ve 5'nin (%3) tüm aile fertlerinde GIS şikayetleri vardı. Ailesinde GIS şikayeti olanlarla olmayanlar arasında *H. pylori* pozitifliği açısından anlamlı bir farklılık bulunamadı. Çeşitli çalışmalarda enfeksiyonun aile içi bulaşı açısından değişik sonuçlar elde edilmiş olup bu konuda kesin bir yargıya varmak mümkün değildir. Dolayısıyla enfeksiyonun aile içi bulaşı açısından daha geniş kitlelerle çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Sigara içme alışkanlığı olanların mide mukozasında bazı olumsuz etkilere yol açtığı bildirilmiştir. Sigara mide mukozasında lökotrienleri, ksantin oksidaz enziminin etkinliğini, nitrik oksit sentezini ve nötrofil infiltrasyonunu artırarak inflamasyona yol açmaktadır (148). *H. pylori* ve sigara mide mukozası için ayrı ayrı olumsuz etmenlerdir. Bazı çalışmalarda bu ikilinin anlamlı olarak birlikteliği gösterilmiştir. *H. pylori* pozitifliği ile sigara içme alışkanlığı olanların arasında güçlü ve pozitif yönde bir ilişki olduğunu gösteren çalışmaların(149-151) aksine bazı çalışmalarda da sigara içiciliğinin *H. pylori* enfeksiyonu ile negatif yönde bir ilişki gösterdiği belirtilmektedir (152). Wildner ve ark.'nın (153) 10.007 kişide yaptığı çalışmada günde 20'nin üzerinde sigara kullanımının *H. pylori* enfeksiyonu için risk faktörü olabileceği belirtilmektedir.

Çalışmaya alınan 154 hastanın 40'ı (%26) sigara kullanıyor, 114'ü (%74) sigara kullanmıyordu. *H. pylori* pozitifliği ile sigara kullanımı arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

GIS infeksiyonları dışında *H. pylori*'nin şeker hastalığı, koroner damar hastalığı, baş ağrısı, Reynaud fenomeni, safra taşı ve boy kısalığına neden olduğuna dair yayınlar bulunmasına rağmen sonuçlar henüz doğrulanmamıştır (154).

Koroner kalp hastalıklarına toplumda sıklıkla rastlanmaktadır. Yine *H. pylori* infeksiyonu sık karşılaşılan hastalıklardandır. Bu iki hastalığın birbiriyle ilişkisi kurulmak istenmekle birlikte (155) ancak koroner kalp hastalığı etyolojisinde yaş, sosyo-ekonomik düzey, etnik grup gibi birçok faktörün rol oynaması nedeniyle ilişki tam anlamıyla kurulamamıştır (156,157). Bu nedenle koroner kalp hastalıklarında *H. pylori*'nin rolü giderek destek kaybetmektedir.

Mitz ve ark. (158) ilk defa 1993 yılında entübe hastaların trakeal sekresyonlarından *H. pylori*'nin izole edildiği bildirmişlerdir. Böylece ilk defa *H. pylori*'nin akciğer infeksiyonlarında rol oynayabileceği üzerine dikkatler çekilmiştir. Tsang ve ark. (159) serolojik verilere dayanarak yaptıkları seri çalışmalarda bronşektazili hastalarda *H. pylori* ilişkisi kurmuşlar, bu hastalarda, tüberkülozlu kişiler ve sağlıklı bireylere göre, anti- *H. pylori* IgG pozitifliğinin ve antikör konsantrasyonlarının anlamlı olarak yüksek bulunduğunu bildirmişler ve bronşektazi etyopatogenezinde *H. pylori* infeksiyonunun rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yine aynı araştırmacılar daha sonra anti- *H. pylori* cagA antikörlerinin bronşektazili hastalarda sağlıklı asemptomatik kişilere göre anlamlı şekilde yüksek olduğunu saptamışlar ve bronşektazi gelişiminde cagA'nın etkili olabileceğini belirtmişlerdir (160). Diyabetik otonom nöropatli hastalarda yapılan bazı çalışmalarda *H. pylori* infeksiyonu yüksek bulunmuştur. Bazı çalışmalarda ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (161). Harry Hua-Xiang Xia ve ark.'nın (162) yaptığı çalışmada *H. pylori* infeksiyonu prevalansında diyabetik hastalarla kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulmuşlardır.

Persico M ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *H. pylori* seroprevalansı, diyabetik otonom nöropatili hastalarda % 4, kontrol grubunda ise %26 oranında tespit edilmiştir (163). Bunun aksine Colombo C ve ark.'nın (164) 138 tip1 DM hastada yaptığı başka bir çalışmada *H. pylori* sıklığının (%29.7) kontrol grubu (%32.6) ile anlamlı farklılık oluşturmadığı saptanmıştır.

Çalışmaya aldığımız 154 hastanın 36'ında (%23) Gastrointestinal sistem (GIS) dışı hastalıkları vardı. Bunlarında 14'ünde (%39) hipertansiyon, hiperkolestrolemi ve kronik kalp hastalıkları, 10'unda (%29) astım bronşiale, 9'unda (%25) diabetes mellitus,

2'sinde (%6) migren ve 1'inde (%3) kronik böbrek yetmezliği bulunmaktaydı. Astım bronşiale dışında *H. pylori* pozitifliği ile kronik hastalıklar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Astım bronşiale hastalarındaki düşük düzeydeki pozitiflik bu hastaların steroid ve antibiyotik kullanımı ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

Olmos ve ark.'nın (165) kronik böbrek yetmezliği olan diyaliz hastalarında yaptıkları çalışmada, *H. pylori* seroprevalansını genel popülasyona oranla anlamlı biçimde düşük bulmuş, bunu immün sistemin zayıflığına ve antibiyotik kullanımına bağlamışlardır. Bizde çalışmamızda da kronik böbrek yetmezliği olan bir hastada *H. pylori* negatifliği saptanmıştır.

Çalışmaya alınan hastaların 103'ünde (%66) gastrit tanısı konuldu. Bunların 67'sinde (%65) *H. pylori* pozitifliği saptandı. Yapılan araştırmalarda bu enfeksiyonda sıklıkla görülen tablonun kronik aktif gastrit olduğu yönündedir (8).

Yaşar ve ark.'nın (166) yapmış oldukları bir çalışmada hızlı üreaz testi kullanarak *H. pylori* enfeksiyonu araştırmışlar. 243 vakanın 143'ünde (%58.8) gastrit tespit etmişlerdir. Bu oran bizim çalışmamızdaki oranlarla farklılık göstermektedir. Çalışmaya alınan 11 hastada gastroözefajial reflü hastalığı (GÖRH) tanısı konulmuş, bunların 3'ünde (%27) *H. pylori* pozitif saptanmıştır. Vicari ve ark.'nın (167) bu konuyla ilgili yaptıkları bir çalışmada GÖRH'de *H. pylori* insidansının (%34) düşük olmaya meyilli olduğu belirtmişlerdir.

H. pylori ile GÖRH arasında anlamlı bir ilişki olmadığı konusunda genellikle fikir birliği mevcuttur. GÖRH'deki *H. pylori* sıklığı normal popülasyondan farklı değildir(168-170).

Ayrıca Labenz ve Malfertheiner (74) araştırmalarında, *H. pylori*'nin GÖRH gelişimine karşı koruyucu etki yaratabilecek patofizyolojik mekanizmaları olduğunu tarif edilmiştir. Bu nedenle *H. pylori* varlığında GÖRH daha az görülmektedir. Çalışmamızda da bunu destekler nitelikte *H. pylori* negatif hastalarda (%63) GÖRH daha fazla saptanmıştır.

Çalışmaya alınan 154 hastanın; 8'i (%6) mide ülseri, 13'ü ise (%9) duodenum ülseri tanısı almıştı. Mide ülseri olgularında %88 (n:7), duodenum ülserinde ise %69 (n:9) oranında *H. pylori* pozitifliği saptandı. Yapılan çalışmalarda genel olarak *H. pylori*'nin, duodonal ülserde %95, gastrik ülserde %65-70 oranında pozitif olduğu kabul edilmektedir. Sandıkçı ve ark.'nın (171) 500 endoskopi hastasında yaptığı bir çalışmada

H. pylori pozitifliği genelde %86, duodenal ülserde %91, gastrik ülserde %65, mide malignitesinde %85 olarak bulunmuştur. Ancak hastalarda PPI ve antibiyotik kullanımı bu oranları etkilemektedir. Çalışmamızdaki duodenal ülser hastalarındaki düşüşün bu nedenden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çeşitli çalışmalar *H. pylori*'nin mide kanser riskini 8-9 kat artırdığını ve gelişmiş ülkelerdeki mide kanserlerinin %60-80'inin *H. pylori* ile ilişkili olduğunu göstermektedir (172). Yapılan araştırmalarda mide kanseri vakalarında *H. pylori* pozitifliğinin MALT lenfoma vakalarına oranla daha düşük ve değişken olduğu saptanmıştır (173,174). Retrospektif olarak 67 gastrik karsinomlu hastanın histolojik preparatlarının incelendiği bir çalışmada 20 (%30) olguda *H. pylori* saptanmıştır (175).

Çalışmaya alınan 154 hastanın 3'ü (%2) adeno karsinom ve 2'si (%1) B hücreli lenfoma (MALT) tanısı almıştı. Adeno karsinom hastalarının 2'sinde *H. pylori* pozitifliği (%67) saptanırken MALT hastalarda ÜNT ile pozitiflik bulunamadı. Bu durum, her iki hastanın da PPI ve antibiyotik kullanımına bağlandı.

Kuipers ve ark.'nın (176) yaptıkları çalışmada *H. pylori* enfeksiyonu varlığında uzun süreli PPI kullanımının (ortalama 5 yıl) mide mukozasındaki atrofik değişikliklerin oluşumunu hızlandırdığını ileri sürmüşler, mide mukozasında *H. pylori* yoğunluğunun artması ve buna bağlı olarak korpus ve fundusda inflamasyonun şiddetlenmesinin bundan sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

Çok merkezli başka bir İskandinav çalışmasında bu bulguların aksine 309 reflü hastasında farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada 3 yıl süre ile takip edilen hastalarda uzun süreli PPI kullanımının *H. pylori* ile enfekte hastalarda gastrik atrofi veya intestinal metaplazi gelişimine sebep olmadığı görülmüştür (177). Görüldüğü gibi *H. pylori* enfeksiyonunda kanser gelişimi çok çeşitli faktörlerin etkisi altında olabilmekte, farklı çalışmalarda çelişkili gibi görünebilen sonuçlarla karşılaşılabilir. Çalışmamızda *H. pylori* pozitifliği ile GİS hastalıkları arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

Çalışmaya alınan 154 hastanın 65'i (%42) proton pompa inhibitörü (PPI) kullanıyor, 89'u (%58) PPI kullanmıyordu. PPI kullanan hastalarda *H. pylori* pozitifliği %36 oranında saptanmıştır. Çalışmamızda *H. pylori* enfeksiyonu ile PPI kullanımı arasındaki anlamlı bir fark bulunamamıştır.

PPI 'lerin invitro şartlarda bakteri üreazını inhibe ederek veya bakterilerin trans-membran iyon transportunu regüle ederek antimikrobiyal etki gösterdikleri bilinmektedir. Ayrıca bu ilaçlar, ortamın pH'sını yükselterek biyoyararlılığı artırmaktadırlar (118). Bu nedenle özellikle canlı bakterinin varlığını saptayan testler, yalancı negatif sonuçlardan kaçınmak üzere antibiyotik veya omeprazol tedavisi sırasında uygulanmamalı, tedavi bitiminden en az bir ay sonra uygulanmalıdır (8).

H. pylori eradikasyonu ile gastrit bulgularında düzelme, *H. pylori* infeksiyonunun nüksü ile gastrit şiddetinde artış olduğu saptanmıştır. Robert M ve ark. (82) *H. pylori* eradikasyonu sağlanan hastaları 1 yıl izlemişler, tedaviye cevap veren hastalarda nötrofilik infiltrasyonun 6 haftada, mononükleer infiltrasyonun ise 6 ay içinde kaybolduğunu gözlemişlerdir. 1 yıl sonunda tedaviye cevap veren hastalardan alınan korpus biyopsilerinde normal bulunup antral biopsilerin %50'sinde gastritin kaybolduğu, kalan %50'sinde gastritin hafif derecede devam ettiği saptanmışlardır.

H. pylori eradikasyonunda birçok tedavi rejimleri uygulanmasına rağmen, eradikasyonun çok iyi olduğu uygun bir tedavi rejimi halen tartışmalıdır. Bunda; hastaların ilaç kullanımındaki zorlukları, ilaç sayısının fazlalığı, yan etkilerin sıklığı, maliyetin yüksekliği, ilaçlara direnç gelişmesi (metranidazol gibi) ve tedaviye uyumsuzluk etkili olabilir. Günümüzde DÜ ve MÜ'de *H. pylori* eradikasyonunun mutlak gerekliliği konusunda fikir birliği oluşmuştur (111).

Çalışmaya alınan 154 hastanın 30'u (%19) PPI ve antibiyotik kullanıyor, 80'i (%52) ise PPI ve antibiyotik kullanmıyordu. PPI ve Antibiyotiği birlikte kullananlarda *H. pylori* infeksiyonu anlamlı olarak düşük bulundu.

H. pylori eradikasyonunda başarısızlığın ana nedeni bakterinin kullanılan antibiyotiklere olan direncidir. Ülkemizde klaritromisin direnci giderek artmaktadır. 1996'da klaritromisin direnci bulunmazken, 1997'de %5, 2001'de %12, 2003'de %18 oranları verilmektedir. Ülkemiz de bakterinin dirençli olduğu diğer bir antibiyotikte aslında 1. basamak PPI'li tedavilerde kullanılabilen metranidazole'dür ve iki çalışmada %30'un üzerindedir (178,179). PPI'li kombinasyonlarda başarısızlık son zamanlarda batı kaynaklı yayınlarda da yer almaktadır. Fransa ve İtalya verilerinde %30 başarısızlık bildirilmektedir. Tedavide başarısızlığın nedenlerin başında ise antibiyotik direnci ve bakteri yoğunluğu kabul edilmektedir (180). Çalışmamızda 9 hastada PPI ve

antibiyotik kullanmasına rağmen *H. pylori* pozitifliği bize bakteriyel bir direnci olabileceğini düşündürmektedir

Fenotipik tanı yöntemleri klinik yönden önemli çok sayıda mikroorganizma için kullanılmakla birlikte, uygulamada bazı problemler bulunmaktadır (97). Birçok önemli patojen bakteri kültür ortamında üretilmemekte veya zor üremektedir. Yine kültüre dayalı yöntemler uzun zaman almaktadır. Bu durum kesin tanı ve etkin tedaviyi geciktirmekte ve prognozunu olumsuz yönde ilerlemesine neden olmaktadır (98). *H. pylori*'nin tanısında çok duyarlı ve özgül bir test olan PCR yöntemi büyük ümitler sunmaktadır. Bakteriye özgü 16S ribozomal RNA'nın amplifiye edilmesine dayanan polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi yaygın şekilde kullanılmaktadır (181).

Yapılan bir çalışmada, gastrik biyopsi örneklerine 16S rRNA, ureA ve cagA primerleri kullanılarak PCR yöntemi uygulanmış, 16S rRNA primerinin araştırılmasının daha duyarlı olduğu saptanmıştır (181).

He ve ark. nın (182) yaptığı çalışmada 85 klinik biopsi örneği kantitatif real-time PCR kültür ve histopatolojik incelemeye tabi tutulmuş, *H. pylori* tanısı için real-time PCR'ın diğer yöntemlerden çok daha duyarlı ve hızlı olduğu gösterilmiştir. Yine başka bir çalışmada gastrik mukozada *H. pylori* varlığı ve yoğunluğunun saptanması için histolojik inceleme, üre nefes testi, biopsi örneklerinden kültür, hızlı üreaz testi ve real-time PCR yöntemleri kullanılmış, real-time PCR sonuçları, Sydney sistemi ile yapılan histolojik grade ve UNT ile kıyaslanmıştır. Bu beş metot içinde real-time PCR'ın *H. pylori* enfeksiyonu tanısında %100 duyarlı ve özgül olduğu belirtilmiştir (183).

Lo ve ark.'nın (184) çalışmasında PCR yöntemi (%91), hızlı üreaz testi (%66), histopatolojik analiz (%43) ve kültür (%37) yöntemlerine oranla belirgin biçimde duyarlı bulunmuştur. Üre nefes testi (%94) ve serolojik tanı yöntemi (%94) benzer oranlarda saptanmış, PCR yöntemi serolojiye oranla daha özgül bulunmuştur (%100, $p<0.01$). Bununla birlikte PCR yönteminin diğer yöntemlerle benzer özgüllükte olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızda ÜNT pozitif olan 96 hastanın 93'ünde (%97) *H. pylori* PCR pozitif, 3'ünde ise (%3) negatif bulundu. Endoskopi yapılan hastalarda örnek mide biyopsi dokusu olduğu ve *H. pylori*, mide mukozasında yamalı bohça benzeri dağılım gösterdiği için, alınan her örnek kolonizasyonu temsil etmeyebilmektedir. Yapılan çalışmalar, hastanın yaşı veya hastalığın süresinin de mide biyopsisi bazlı yöntemlerde sensitiviteyi

düşürdüğünü göstermekte, uzun süren infeksiyona bağlı olarak gelişen atrofik gastrit veya intestinal tip hücre artışının *H. pylori* için duyarlı epitelyal alanı azalttığı belirtilmektedir. Çalışmada negatif bulunan örneklerin bu bölgelerden alınmış olabileceği düşünülmektedir.

Tüm *H. pylori* suşlarında *vacA* geni bulunmaktadır (42). *H. pylori*'de bağımsız bir lokus olarak bulunan *vacA* geni, ülser ve gastrik adenokarsinom patogeneğinde önemli role sahip olduğu düşünülen, 90 kDa büyüklüğünde oligomerik yapıda ve ökaryotik hücrelerde vakuol oluşumunu indükleyen salgısal bir proteini (protoksin) kodlamaktadır. Sitotoksin ilişkili toksin A (*cagA*) ise *vacA* üreten suşların çoğunda görülen ancak vakuol oluşumuna yol açmayan 128 kDa ağırlığında oldukça immunojen bir hidrofilik toksindir. *H. pylori* suşlarının %80'inde *cagA* geninin varlığı gösterilmiştir. *CagA* vakuolizasyon yapıcı toksin için bir belirteçtir (8,13,185).

Crabtree ve ark.'nın (8) yaptığı çalışmada *cagA* ve *vacA* genotiplerinin peptik ülser hastalığı ile ilişkili olduğu vurgulanmakta, peptik ülser ile ilişkili *H. pylori* suşlarının özel nitelikler taşıdığı (*vacA* ve *cagA* pozitif) belirtilmektedir.

Araya ve ark.'nın (186) yaptığı endoskopik gastrik biyopsileri alınan 75 hasta üzerinde yapılan çalışmada 53 hastada PCR ile *H. pylori* pozitifliği saptanmış, bunların %69'unda *vacA*, %49'unda ise *cagA* pozitifliği belirtilmiştir. Cittely DM ve ark.'nın (187) Kolombiya'lı hastalarda yaptıkları çalışmada ise 137 hastadan alınan *H. pylori* izolatu PCR ile incelenmiş, *vacA* (*s1*) genotipinin %67 oranında, *cagA* nın ise %63 oranında saptandığı ve bu oranların atrofik gastritlilerde peptik ülser ve gastrik kanserlere oranla daha sık bulunduğu bildirilmiştir. Gzyl A ve ark.'nın (188) çalışmasında, 84 *H. pylori* suşunda PCR ile değişik *vacA* allelleri tespit edilmiş, bunların çocuklarda %80, erişkinlerde ise %72.4 oranında *cagA* varlığı saptanmıştır. Erzin Y ve ark.'nın (189) ülkemizde dispeptik hastalarda yaptığı çalışmada *H. pylori* *vacA* ve *cagA*'nın prevalansı araştırılmıştır. Bu çalışmada *vacA*'yı duodenal ülserde %96.4, non ülser dispepside %66.7 ve gastrik karsinomada %87.9 pozitif olarak bulmuşlardır. *CagA*'yı ise tüm hastalık grupları için %73,6 oranında bulmuşlardır.

Çalışmamızda PCR ile *H. pylori* pozitif saptanan 93 hastanın 80'i (%86) *vacA* pozitif, 52'si (%55) *cagA* pozitif bulunmuştur. Yapılan istatistiki analizde *vacA* gen varlığı anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur. Bu durum *H. pylori* infeksiyonu saptanan olguların çoğunda *vacA* geninin bulunduğunu göstermektedir.

Yapılan çok sayıdaki çalışmada hastalığın prevalansını saptamak amacıyla IgG ler araştırılmıştır. IgG saptamasına dayalı serolojik yöntemler, özellikle epidemiyolojik çalışmalarda ve tedavinin izlenmesinde yararlıdır. Başarılı tedavi edilen olgularda IgG cevabı azalırken, nükslerde tekrar yükselmektedir. Yapılan araştırmalar, piyasadaki son dönem ELISA testlerinin çoğunun duyarlılığı %100'e, özgüllüğü ise %95'e ulaştığını göstermektedir (128,167).

Lazebnik ve ark.'nın (190) farklı antikorlarla yaptığı çalışmada *H. pylori* infeksiyonu bulunan 46 hastanın %78'inde IgG, %82'sinde cagA antikorları ve %39'unda IgA antikorları pozitif saptanmıştır. Yüksek düzeydeki antikorların *H. pylori* infeksiyonunun göstergesi olduğu, bu antikorların düşmesinin tedavi yanıtını gösterdiği vurgulanmıştır. IgA ile yapılan çalışmalar daha az sayıdadır. Bhat N. ve ark.'nın (191) endoskopi yapılan 89 kişi üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada 62 kişide *H. pylori*'yi histolojik teknik, PCR ve kültürle pozitif olarak bulmuşlardır. Bu araştırmada serum IgG , serum IgA ve mide sıvısı IgA'sı *H. pylori* pozitif hastaların negatif olanlara nispeten anlamlı şekilde yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Dore MP ve ark.'nın (192) 86 kişi üzerinde yaptığı çalışmada 43'nün (%50) *H. pylori* ile infekte olduklarını tespit etmişlerdir. *H. pylori* ile infekte hastaların 22'sinde (%51) IgG ve IgA'yı pozitif olarak bulmuşlardır. Rautelin HI ve ark.'nın (193) gastroskopi edilen ve biopsi ile *H. pylori* infeksiyonu olduğu doğrulanan 1481 hasta üzerinde çalışma yapmışlardır. Bu hastalarda immün yanıtta görev alan IgA'nın düzeyleri cagA pozitif olan *H. pylori* suşlarında cagA negatif olan *H. pylori* suşlarına oranla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda ÜNT pozitif 96 hastanın 83'ünde (%72) Hp sIgA pozitif tespit edilmiştir. Elde edilen Hp sIgA pozitiflik oranı, diğer çalışmalara nispeten yüksekti.

Blaser ve ark., (39) duodenal ülser patogenezi ile ilgili olarak, bakteriyel sitotoksinite ile yakından ilişkili olan cagA tarafından şifrelenen proteinlere karşı serumda IgG ve sekretuvar IgA antikorları araştırmışlar, duodenal ülserli hastaların %100'ünde, tek başına kronik yüzeysel gastrit bulunanların ise %60'ında her iki antikoru da gösterilebilmişlerdir.

Çalışmamızda *H. pylori* sIgA seviyesi ilginç olarak GÖRH (%82) hastalık grubunda yüksek oranda saptandı. Ayrıca vacA pozitif olan 80 hastanın 73'ünde (%91) Hp sIgA pozitif bulundu. VacA pozitifliği olan hastalarda *H. pylori* sIgA'nın anlamlı bir

yüksekliğe sahip olduğu görülmektedir. CagA pozitif olan 52 hastanın ise 47'sinde (%90) Hp sIgA pozitifliği bulundu. Ancak cagA negatif 33 olguda da Hp sIgA pozitifliği yüksek saptandı (%80). Bu nedenle *H. pylori* sIgA seropozitifliği ile cagA arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı.

Bununla birlikte çalışmamızda vacA ve cagA birlikte pozitif ve birlikte negatif saptanan hastalarda sIgA'nın oranları araştırılmış, vacA ve cagA pozitif 52 hastanın 47'sinde (%90), vacA ve cagA negatif 13 hastanın 9'unda (%69) sIgA pozitif saptanmıştır. Yapılan istatistiksel ileri analizle vacA ve cagA pozitifliğinde Hp sIgA miktarının anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum vacA ve cagA genine sahip *H. pylori*'nin üst GİS infeksiyonlarında Hp sIgA'yı artırdığını göstermektedir. Bununla birlikte özellikle aşı çalışmalarında IgA yapımını hangi faktörlerin tetiklediğinin ileri araştırmaları yapılmalıdır. *H. pylori* infeksiyonunda çok çeşitli faktörlerin rol oynaması nedeniyle bu konuda yapılacak çalışmaların patojeniteyi açığa çıkarması açısından önemi büyüktür. Mevcut aşı çalışmaları ve bakterinin eradikasyonu için yapılanlar henüz yeterli olgunluğa erişmemiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Dünya nüfusunun yarısından fazlasında infeksiyon yapan, büyük oranda işgücü ve maliyet kaybına yol açan *H. pylori*, GİS infeksiyonlarından kalp damar hastalıklarına, otoimmün hastalıklardan kansere kadar etken patojen olduğu ispatlanan veya suçlanan önemli bir bakteridir. Bu bakteri ile ülkemizde ve yurtdışında çeşitli prevalans, patojenite ve aşı araştırmaları için çalışmalar yapılmaktadır. Biz de bölgemizdeki suşlarla yaptığımız çalışmada hem prevalans hem de Üst GİS *H. pylori* infeksiyonlarında bakterinin patojenliğinden sorumlu genlerin (*vacA* ve *cagA*) varlığını araştırarak organizmanın buna verdiği immun yanıtı (*H. pylori* spesifik IgA) değerlendirdik. Burada varolan patojenitenin özellikle bu bakterinin eradikasyonu için halen araştırılmakta olan aşı çalışmalarına ne oranda etkide bulunabileceğini araştırdık. *H. pylori*'ye karşı gelişen bağışıklıkta hümmoral immünitenin etkisi üzerinde durulmakta ve özellikle de mukozal immün yanıtın geliştirilmesi çalışmalarına ağırlık verilmektedir. 2001 yılından günümüze kadar *H. pylori* infeksiyona karşı çeşitli aşılar üzerinde denemeler yapılmaktadır. Mevcut aşı çalışmalarında Hp spesifik IgA'ların oluşumunu tetikleyen patojenite mekanizmaları üzerinde durulmakta, bakterinin kolonizasyonunu önleme mekanizmaları araştırılmaktadır. Bu araştırmalardan Helivax Antex Biologics adındaki oral aşının *H. pylori* ile hem infekte hemde non infekte bireylerde immun yanıt oluşturduğu ve genellikle iyi tolere edildiği bildirilmektedir. Belkide yakın bir gelecekte bu önemli problem aşı ile çözüm bulacaktır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları özetlersek;

1. *H. pylori* pozitifliği ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı.
2. *H. pylori* pozitif saptanan hastaların kan gruplarına göre dağılımında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Ancak O kan grubundakilerin diğer kan gruplarına nazaran daha fazla bir yüzdeye sahip olması (%46), O kan grubunun GIS şikayetleri açısından risk faktörü olabileceğini düşündürdü.

3. *H. pylori*, 31-50 yaş grubunda diğer yaş gruplarına oranla anlamlı olarak yüksekti.
4. Ailesinde GIS şikayeti olanlarla olmayanlar arasında *H. pylori* pozitifliği açısından anlamlı bir farklılık bulunamadı.
5. *H. pylori* pozitifliği ile sigara kullanımı arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.
6. *H. pylori* pozitifliği ile birçok kronik hastalık arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. Ancak Astım bronşiale hastalarında anlamlı olarak düşük bulundu.
7. Gastro-özefagial reflü (GÖRH) hastalarında *H. pylori* negatifliğine diğer GIS hastalıklarına oranla daha fazla rastlandı.
8. *H. pylori* enfeksiyonu ile PPI kullanımı arasındaki anlamlı bir ilişki bulunamadı.
9. PPI ve Antibiyotik kullananlarda *H. pylori* enfeksiyonu anlamlı olarak düşüktü.
10. PCR ile *H. pylori* pozitifliği saptanan hastaların %86'sında vacA, %55'inde cagA pozitif saptandı.
11. ÜNT pozitif 96 hastanın 83'ünde (%72) Hp sIgA pozitif tespit edildi.
12. GÖRH'da diğer hastalıklara nazaran Hp sIgA seviyesini daha yüksek orandaydı.
13. VacA ve cagA pozitifliğinde Hp sIgA miktarının anlamlı bir şekilde yüksekti.

Bu sonuçlar *H. pylori* enfeksiyonunda yaş, cinsiyet, GIS dışı hastalık ilişkileri, ilaç kullanımının etkileri ve aile içi geçiş hakkında istatistiki bilgiler sağlamış, bölgemizde enfeksiyonun prevalansı hakkında bilgi vermiştir. *H. pylori* enfeksiyonunda patojeniteden sorumlu çok sayıda faktör olduğunu, bunlardan özellikle vacA geninin bulunmasının önemli bir enfeksiyöz faktör olduğunu göstermiştir. Yine vacA ve cagA genlerinin birlikteliğinin immüniteyi daha iyi tetiklediği saptanmıştır.

Patojenite çalışmalarında konağın immün durumunun da irdelendiği daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Yine etkili aşı çalışmaları için uygun epitoplara araştırılması gerekliliğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Blaser MJ. Helicobacter pylori and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. J Infect Dis. 1990;161:626-33.
2. Nurver T, Necdet S, Ayşe K, Fikret S. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Aile Hekimliği anabilim dalı check-up polikliniği'ne başvuran hastalarda Helicobacter pylori sıklığı ve bunu etkileyen faktörler. Cerrahpaşa Tıp Dergisi. 2006;37:1-4
3. Forman D. The prevalence of Helicobacter pylori infection in gastric cancer. Aliment Pharmacol Ther. 1995;9(2):71-76.
4. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacs PG. Helicobacter pylori associated gastritis and primary B cell gastric lymphoma. Lancet. 1991;338:1175-76.
5. Özden A, Ekinci C, Dumlu Ş. Üst gastrointestinal sisteme ait yakınmaları olan olgularda Helikobakter pilori prevalansı. Gastroenteroloji dergisi. 1992;3(1):102-108.
6. Özdal B, Göral V, Kaplan A. Toplumda Helikobakter pylori sıklığı azalıyor mu? Türk J Gastroenterol. 2004;15(1):135.
7. Baskerville A, Newell DG. Naturally occurring chronic gastritis and Campylobacter pylori infection in the rhesus monkey. A potential model for gastritis in man. Gut. 1988;29:465-72.
8. Özkaya İA. Hemodiyaliz Hastalarında H. pylori Enfeksiyonu Sıklığı ve Bunun Dispeptik yakınmalarla ilişkisi. Uzmanlık tezi. Bakırköy Dr. Sadıkonuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2005, s:19-20.
9. Yakut Akyön Yılmaz Helicobacter pylori mikrobiyolojik tanı yöntemleri Hacettepe Tıp Dergisi. 2004;35:182-186.
10. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain F. European Helicobacter Pylori Study Group. Current concepts in management of Helicobacter pylori infection the Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002;16:167-80.

11. Sandıkçı MÜ, Köksal F. Helikobakter infeksiyonları. Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. (Eds.), Enfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1996, s:1005-9.
12. Marshall BJ. History of the discovery of *Campylobacter pylori*. In: Blaser MJ, ed. *Campylobacter pylori* in Gastritis and Peptic Ulcer Disease. New York: Igaku Shoin Medical Publishers, 1989:7-23.
13. Köksal F. *Helicobacter pylori*. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:1643-7.
14. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* genus, *H. pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov. respectively. *Int J Syst Bacteriol*. 1989;39: 397-405.
15. Goodwin CS, Worsley BW. Microbiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am*. 1993;22(1):15-19.
16. Sly LI, Bronston MA, Browman JP. The phylogenetic position of *Helicobacter nemestrinea*. *Int J Syst Bacteriol*. 1993;43:386-7.
17. Cussac V, Ferrero RL, Labigne A. Expression of *Helicobacter pylori* urease genes in *Escherichia coli* grown under nitrogen-limiting conditions. *J Bacteriol*. 1992;74:2466.
18. Langenberg W, Rauws EAJ, Widjojokusuma A. Identification of *Campylobacter pyloridis* isolates by restriction endonuclease DNA analysis. *J Clin Microbiol*. 1986;24:414-87.
19. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984;1311-1314.
20. İnteret-general Websitesi [homepage on the internet]. Paris:2007. Available from: <http://interet-general.info/>
21. Treating and beating Websitesi [homepage on the internet]. Available from: <http://fibromyalgiacfsstore.com/>
22. Marshall BJ. *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol*. 1994;89(supp):116-9.
23. Graham DY. Therapy of *Helicobacter pylori*: Current status and issues. *Gastroenterology*. 2000;118:2-5.
24. Biojournal Websitesi [homepage on the internet]. Spanish:2005. Available from: <http://biojournal.com/>
25. The İris Secientist Websitesi [homepage on the internet]. İsland of Ireland:2000. Available from: [http:// www.irishscientist.com/](http://www.irishscientist.com/)

26. Langton SR, Cesareo SD. H. pylori associated phospholipase A2 activity: A factor in peptic ulcer production? J Clin Pathol. 1992;45:221-4.
27. Owarakanath AD, Tsai HH. The production of neuraminidase and fucosidase by H. pylori: Their possible relationship to pathogenicity. FEMS Immunol Med Microbiol. 1995;12:213-6.
28. Roine RP, Salmela KS, Höök N. Alcohol dehydrogenase mediated acetaldehyde production by Helicobacter pylori: A possible mechanism behind gastric injury. Life Sci. 1992;51:1333-7.
29. Eaton KA, Krakowska S. Effect of gastric pH on urease dependent colonization of gnotobiotic piglets of H. pylori. Infect Immun. 1994;62:3604-7.
30. Smoot DT, Mobley HLT, Chippendale GR, J F Lewison and J H Resau. H. pylori urease activity is toxic to human gastric epithelial cells. Infect Immun. 1990;58:1992-4.
31. Mobley HLT, Island MD, Hausinger RP. Molecular biology of microbial ureases. Microbiol Rev. 1995;59:451-80.
32. Triebeling AT, Korsten MA, Dlugosz JW, Pronetto, F. and Lieber, C.S. Severity of Helicobacter-induced gastric injury correlates with gastric juice ammonia. Dig Dis Sci. 1991;36:1089-96.
33. Hazell SL, Lee A. Campylobacter pylori, urease, hydrogen ion back diffusion, and gastric ulcers. Lancet. 1986;2:15-7.
34. Thomas EL, Grisham MB, Jefferson M. Myeloperoxidase dependent effect of amines on functions of isolated neutrophils. JC Invest 1983;72:441-54.
35. Courillo-Mallet A, Lunay JM, Roucayrol AM. Helicobacter pylori infection: Physiopathologic implication of Namethyl histamine. Gastroenterology 1995;108:959-66.
36. Go MF, Crowe SE. Virulence and pathogenicity of Helicobacter pylori. Gastroenterology Clinics of North Am. 2000; 29:649-671.
37. Yu J, Leung WK, Go MY, Chan MC, To KF, Ng EK. Relationship between Helicobacter pylori babA2 status with gastric epithelial cell turnover and premalignant gastric lesions. Gut 2002;51:480-484.
38. Peek RMJr, Thompson SA, Donahue JP, Tham KT, Atherton JC, Blaser MJ, et al. Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a Helicobacter pylori gene, iceA, that is associated with clinical outcome. Proc Assoc Am Physicians. 1998;110(6):532-44.
39. Blaser MJ. Helicobacter pylori phenotypes associated with peptic ulceration. Scand J Gastroenterol. 1994;29(205):1-5.

40. Nature international weekly journal of science Websitesi [homepage on the internet]. Available from: [http:// nature.com/](http://nature.com/)
41. Melchers K, Weitzenegeger T, Bubmann A. Cloning and membrane topology of a P-type ATPase from *H. pylori*. *J Biol Chem* 1996;271 :445-457.
42. Atherton JC, Coa P, Peek RM, Tummuru, M. K., Blaser, M. J.. Mosaicism in vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem*. 1995;270:17771- 7.
43. Cover TL. The vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol* 1996;20:241-246.
44. Terzioğlu S. Özden A. *Helicobacter* ve gastrik kanser. *Güncel Gastroenteroloji*. 2000;4(3):210-222.
45. Cover TL, Krishna US, Israel DA, Peek RM Jr. Induction of gastric epithelial cell apoptosis by *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin. *Cancer Res*. 2003;63:951-957.
46. De Bemard M, Papini E, De Filippio V. Low pH activates the vacuolating toxin of *Helicobacter pylori* which becomes acid and pepsin resistant. *J Biol Chem*. 1995;70:23937-40.
47. Fujikawa A, Shirasaka D, Yamamoto S, Ota H, Yahiro K, Fukada M. At al. Shintani,. Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are persistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori*. *Nat Genet*. 2003;33:375-381.
48. Yamaoka Y, Kodama T, Kita M, Imanishi J, Kashima K, and Graham D. Relation of vacA genotypes of *Helicobacter pylori* to cagA status, cytotoxin production, and clinical outcome. *Helicobacter*. 1998;3:241-53.
49. Figura N, Crabtree JE. Vacuolating toxin of *Helicobacter pylori*. In: Hunt R, Tytgat G, eds. *Helicobacter pylori: Basic Mechanisms to Clinical Cure*. Amsterdam, Kluwer Academic Publishers. 1994; p:222-31.
50. Atherton JC, Peek RM Jr, Tham KT. Clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA, the vacuolating cytotoxic gene of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol*. 1997;112:92-9.
51. Pagliaccia C, de Bemard M, Lupetti P. The m2 form of the *Helicobacter pylori* cytotoxin has cell type-specific vacuolating activity. *Proc Natl Acad Sci*. 1998;95:10212-7.
52. Crabtree JE, Taylor JD, Wyatt JI, Heatley RV, Shallcross TM, Tompkins DS. Mucosal IgA recognition of *Helicobacter pylori* 120 kDa protein, peptic ulceration, and gastric pathology. *Lancet*. 1991;338:332-5.
53. Xiang Z, Censini S, Bayeli PF, Telford L, Figura N, Rappuoli R and Covacci A. Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of

- Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin. *Infect Immun.* 1995;63:94-8.
54. Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, et al. CagA pathogenicity island of *H. pylori*, encodes type 1-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci.* 1996;93:14648-14653.
 55. Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K and D Y Graham et al. Variants of the 3' region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* isolates from patients with different *H. pylori*-associated diseases. *J Clin Microbiol.* 1998;36:2258-63.
 56. Gerhard M, Lehn N. Clinical prevalence of *H. pylori* gene for blood group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci.* 1999;96:12778-83.
 57. Sharma SA, Tummuru MKR, Miller G G, Blaser M J. Activation of IL-8 gene expression by *Helicobacter pylori* is regulated by transcription factor nuclear factor kappa-B in gastric epithelial cells. *The Journal of Immunology.* 1998;160:2401-2407.
 58. Yamaoka Y, Kikuchi S, el-Zimatity HM, Gutierrez O. Importance of *Helicobacter pylori* *oipA* in clinical presentation, gastric inflammation and mucosal interleukin 8 production. *Gastroenterology.* 2002;123: 414-424.
 59. Boren T, Falk P, Roth KA, Larson G, Normak S. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science.* 1993 ;262: 1892- 95.
 60. Sherburne R, Taylor DE. *H. pylori* express a complex surface carbohydrate, Lewis x. *Infect Immun.* 1995;63;4564-68.
 61. Dwarakanath AD, Tsai HI-L, Sunderland D, Hart CA, Figura N. The production of neuraminidase and fucosidase by *Helicobacter pylori* their possible relationship to pathogenicity. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1995;12:213-16.
 62. Worst DI, Otto BR, Degraff J. Iron-repressible outer, membrane proteins of *H. pylori*. *Infect Immun.* 1995;63 :4161-65.
 63. Panchal PC, Forman JS, Blumberg DR, Wilson KT. *Helicobacter* infection: pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol.* 2003;19:4-10.
 64. Hofman P, Waidner B, Hofman V, Bereswill S, Brest P, Kist M. Pathogenesis of *H. pylori* infection. *Helicobacter.* 2004; Suppl. 1: 15-22.
 65. Lamarque D, Peek RM Jr. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2003;8(1):21-30.

66. Young GO, Sternmet N, Lastovica A. *Helicobacter pylori* lipopolisaccharide stimulates gastric mucosal pepsinogen secretion. *Aliment Pharmacol Ther.* 1992;6:169-77.
67. Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TRJ, Sheaff MT, Banatvala. N, Laurenson IF et al. *H. pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut.* 1994;35:179-85.
68. Rachmilewitz D, Karmeli F, Eliakim R, Stalnikowicz R., Ackerman Z, Amir G et al. Enhanced gastric nitric oxide synthase activity in duodenal ulcer patients. *Gut.* 1994;35:1394-7.
69. Sandovai M, Lui X, Oliver PD, Zhang X-J, Clark DA. Nitric oxide induces apoptosis in human colonic epithelial cell line T84. *Mediat Inflamm.* 1995;4:248-50.
70. Hussell T, Isaacson P, Crabtree JE, Spencer J. The response of cells from low grade B cell gastric lymphomas of mucosa associated lymphoid tissue to *Helicobacter pylori*. *Lancet.* 1993;342:571-4.
71. Karttunen R, Karttunen T, Ekre HPT, Mac Donald TT. Interferon gamma and interleukin 4 secreting cells in gastric antrum in *Helicobacter pylori* positive and negative gastritis. *Gut.* 1995;36:341-5.
72. Rathbone BJ, Wyatt JJ, Worsley BW, Shires SE, Trejdosiewicz LK, Heatley RV. Systemic and local antibody responses to gastric *C. pyloridis* in nonulcer dyspepsia. *Gut.* 1986;27:642-7.
73. Wirth HP, Karita M, Yang M and MJ Blaser. Expression of the human cell surface glycoconjugates Lewis x and Lewis y by *Helicobacter pylori* isolates is related to *cagA* status. *Infect Immun.* 1996;64(11):4598-605.
74. Labenz J, Malfertheiner P. *H. pylori* in gastroesophageal reflux disease: Causal agent, independent or protective factor? *Gut.* 1997;41:277-80.
75. Vicari J, Falk GW, Richter JE. *H. pylori* and acid peptic disorders of the esophagus: Is it conceivable? *Am J Gastroenterol.* 1997;92:1097-102.
76. Chang CS, Poon SK, Lien HC, Chen GH. The incidence of reflux esophagitis among the Chinese. *Am J Gastroenterol.* 1997;92:668-71.
77. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ Jr, Klein PD, Adams E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race and socioeconomic status. *Gastroenterology.* 1991;100:1495-501.
78. Voutilainen M, Farkkila M, Juhola M, et al. Specialized columnar epithelium of the gastroesophageal junction; prevalence and association. *Am J Gastroenterol.* 1999;94:913-8.

79. Parsonnet J, Vandersteen D, Goates J, Sibley RK, Pritikin J, Chang Y. H. pylori infection in intestinal and diffuse-type gastric adenocarcinomas. *J Natl Cancer Inst.* 1991 ;83:640-3.
80. International Agency for Research on Cancer. Schistosomes, Liver Flukes and H. pylori. Monograph 61 Lyon, France: IARC, 1994:177-240.
81. Axon A. Review article: gastric cancer and Helicobacter pylori. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16(Suppl. 4):83-8.
82. Mohar A, Ley C, Guarner J, Herrera-Goepfert R, Sanchez Figueroa L, et al. High frequency of precancerous lesions of gastric cancer associated with Helicobacter pylori and response to treatment in Chiapas, Mexico. *Gac. MedMex.* 2002;138:405-10.
83. Nogueira AM, Ribeiro GM, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA et al. Prevalence of H. pylori in Brazilian patients with gastric carcinoma. *AmJ Clin Pathol.* 1993;100:263-9.
84. Karasu Z, Akarca US. Helicobacter pylori ve gastrik kanser patogenezindeki rolü. *Güncel Gastroenteroloji.* 2000;4/1:8-21.
85. Rood JC, Ruiz B, Fonthan ET, Malcom GT, Hunter FM. H. pylori associated gastritis and the ascorbic acid concentration in gastric juice. *Nutrition and Cancer.* 1994;22:65-72.
86. Perez-Perez GI, Bhat N, Baensbauer J. Country specific constancy by age in cagA proportion of Helicobacter pylori infections. *Int J Cancer.* 1997;72:45344--6.
87. Özden A. Helicobacter pylori ve mide hastalıkları. *Güncel Gastroenteroloji* 2005;9/1:19-28.
88. Olmos JA, Rosa Diez G, Higa R, Algranati S, Rios H, De Paula JA et al. Helicobacter pylori seroprevalence in dialysis patients. (abst) *Acta Gastroenterol Latinoam.* 2003;33(3):139-44.
89. Velazquez M and Feirtag J. M. H. pylori: characteristics, pathogenicity, detection methods and mode of transmission implicating foods and water. *Inter J Food Microbiol.* 1999;53: 95-104.
90. Köksal F. Helicobacter pylori tanısında mikrobiyolojik yaklaşım. *Helicobacter pylori sempozyum kitabı.* Ankara, 2005; s: 28-43.
91. Patel P, Mendall MA, Khulusi S, Molineaux N, Levy J, Maxwell JD. Salivary antibodies to H. pylori; screening dyspeptic patients before endoscopy. *Lancet.* 1994;344:511-12.

92. Kosunen Tu, Seppala K, Sarna S, Sipponen P. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA and IgM antibody titres after eradication of *H. pylori* Lancet. 1992;339:893-5 1992
93. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 10. Baskı, İzmir; 2000. s:143-146.
94. Falk GW. Mide ve Duedonum Hastalıkları. Andreoli TE(ed), Cecil Essentials of Medicine. 5.nd ed. Philadelphia; 2001. p: 332-344.
95. Monteiro L, Gras N, Megraud F. Magnetic immuno-PCR assay with inhibitor removal for direct detection of *Helicobacter pylori* in human feces. Journal of Clinical Microbiol. 2001;39:3778-80.
96. *Helicobacter pylori* Research Laboratory Websitesi [homepage on the internet]. Nedlans: 2007. Available from: <http://hpylori.com/>
97. Relman D.A, Persing D.H. Genotypic methods for microbial identification. In Persing D.H.(Editor in Chief) PCR Protocols for Emerging Infectious Disease, ASM Pres Washinton, D.C. 1996: 3-31.
98. Shanson D.C. Microbiology in Clinical Practice. 3rd ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. 1999: 234-49.
99. Durmaz R, Özerol IH, Kalcuoğlu MT, Öncel S, Ağın N, Direkel S ve ark. Nazofarinks örneklerinde üç solunum yolu patojeninin mütipleks polimeraz zincir reaksiyon (PZR) yöntemiyle araştırılması. XXIX.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, 8-13 Ekim 2000.
100. Goosen C. Evaluation of a Novel Heminested PCR Assay Based on the Phosphoglucosamine Mutase Gene for Detection of *H. pylori* in Saliva and Dental Plaque. J Clinical Microbiol. 2002;40:1205-209.
101. Fox.J.G. The non-*H. pylori* *Helicobacters*; their expanding role in gastrointestinal and systemic diseases. Gut. 2002;50: 273-283.
102. Fabre R, Sobhani I, Laurent-Puig P, Hedef N, Yazigi N, Vissuzaine C et.al. PCR assay for the detection of *H. pylori* in gastric biopsy specimens: comparison with culture, rapid urease test, and histopathological tests. Gut. 1994;35:905-8.
103. Lu JJ, Shyu CLPYR, Chen CH. Comparison of five PCR Methods for Detection of *Helicobacter pylori* DNA in Gastric Tissues. Journal of Clinical Microbiology. 1999;37(3): 772- 74.
104. Gramley WA, Asghar A, Frierson HF, Powell SM. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in fecal Samples from Infected Individuals. Journal of Clinical Microbiology. 1999;37:7,2236-2240.

105. Lim CY, Lee KH. Detection of *Helicobacter pylori* in Gastric Mucosa of Patients with Gastroduodenal Diseases by PCR-Restriction Analysis Using the RNA Polymerase Gene (rpoB). *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 41:7.3387-3391.
106. Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR; comparison with other invasive techniques and detection of cagA gene in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol*. 1995;33(10):2752-6.
107. Bickley J, Owen RJ, Fraser A.G and Pounder R.E. Evaluation of the polymerase chain reaction for detecting the urease C gene of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy samples and dental plaque. *J. Med Microbiol*. 1993;39(5):338-344
108. Gibson J. R, Slater E, Xerry J, Tompkins, D. S., Owen, R. J. Use of an Amplified-Fragment Length Polymorphism Technique To Fingerprint and Differentiate Isolates of *Helicobacter pylori*. *J C Med*. 1998;36: 9: 2580-85.
109. Vakil N, Vario D. Non-invasive tests for the diagnosis of the *H. pylori* infection. *Rev Gastroenterol Disord*. 2004;4: 1-6.
110. Candellini M, Nista EC, Carloni E. Treatment of *H. pylori* infection: A review *Current Medicinal Chemistry*. 2005;12:375-84.
111. Consensus conferance. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA*. 1994;41:5-7.
112. Armstrong D. *Helicobacter pylori* infection and dyspepsia. *Scand J Gastroenterol*. 1996; 31 (suppl215):38-47.
113. Calvet X, López T, Gisbert JP, Gené E, Roque M. A. A metaanalysis of short versus long therapy with proton pump inhibitor, clarithromycin and either metronidazole or amoxicillin for treating *H. pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2000;14:603-9.
114. Graham DY. *Helicobacter pylori*: its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. *J Gastroenterol Hepatal*. 1991;6:105-13.
115. Akarca US, Aydın A, Özütemiz AÖ. Ege yöresinde *Helicobacter pylori* infeksiyonunun seroprevalansı. *Ege Tıp Dergisi*. 1993;32:1-5.
116. Malaty HM, Berenson GS, Wattington WA. *Helicobacter pylori* acquisition in childhood. 12-year follow-up cohort study in a bi-racial community. *Gut*. 1997;41(suppl1): A33.
117. Leung WK, Siu KKL, Kwok KL, Chan SY, Sung R, Sung JY.. Isolation of *H. pylori* from vomitus in children. *Gastroenterol*. 1998;114.

118. Nyugen AMH, Engstrand L, Genta RM, Graham DY, El-Zaatari FAK. Detection of *Helicobacter pylori* in dental plaque by reverse transcription polymerase chain reaction. *Clin Microbiol.* 1992;30:54-8.
119. Lee A, Fox JG, Otto G, Dick EH, Krakowka S. Transmission of *Helicobacter* spp. A challenge to the dogma of faecal-oral spread. *Epidemiol Infect.* 1991;107:99-109.
120. Drumm B, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sherman PM. Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med.* 1990;322:359-63.
121. Malaty HM, Graham DY, Klein PD, Evans G, Adam E, Evans DJ. Transmission of *Helicobacter pylori* infection. Studies in families of healthy individuals. *Scand J Gastroenterol.* 1991;26:927-32.
122. Malaty HM, Kim JG, Kim SD, Graham DY. Prevalence of *H.pylori* infection in Korean children; inverse relation to socioeconomic status despite a uniformly high prevalence in adults. *Am J Epidemiol.* 1996;143:257-62.
123. Mitchell HM, Lee A, Carrick J. Increased incidence of *C. pylori* infection in gastroenterologists: further evidence to support person-to-person transmission of *C. pylori*. *Scand J Gastroenterol.* 1989;24:396-400.
124. Megraud F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Clin North Am.* 1993;22(1):73-88.
125. Parsonnet J, Blaser MJ, Perez GI, Hargrett-Bean N, Tauxe RV. Symptoms and risk factors of *H. pylori* in a cohort epidemiologists. *Gastroenterol.* 1992;102:41-46.
126. Fidan I, Türet S. *Helicobacter Pylori* Enfeksiyonunda Patogenez ve Tanı, *Enfeksiyon Dergisi.* 1999;13:455-460.
127. Kobayashi D, Eishi Y, Ohkusa T, Suzuki T, Minami J, Yamada T, et al. Gastric mucosal density of *Helicobacter pylori* estimated by real-time PCR compared with results of urea breath test and histological grading. *Med Microbiol.* 2002;51:305-11.
128. Erdem B. *Campylobacter ve Helicobacter* Ustaçelebi, Ş. (ed.): *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Güneş Kitabevi, Ankara. 1999; s:536-40.
129. Pounder RE, Ng D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. *Aliment Pharmacol Ther.* 1995;9 Suppl 2:33-9.
130. A D. Ataş, T Güneş, M Ataş, M Yıldırım, A Öztekin, H Yıldızbaş. Sivas İl Merkezinde, Semptomatik ve Asemptomatik Yetişkin Bireylerde *H. pylori* Seroprevalansı. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi.* 2004;26 (2):75-80.
131. Hooton C, Keohane J, Clair J, Azam M, O'Mahony S, Crosbie O, Lucey B. Comparison of three stool antigen assays with the ¹³C- urea breath test for the

- primary diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and monitoring treatment outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006;18(6):595-9.
132. Ozturk E, Yesilova Z, Ilgan S, Arslan N, Erdil A. A new, practical, low-dose ¹⁴C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: clinical validation and comparison with the standard method. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30(11):1457-62.
 133. González P, Galleguillos C, Massardo T, Rivera M, Morales A, Smok G, Moyano L et al. Otárola S Could the [¹⁴C] urea breath test be proposed as a 'gold standard' for detection of *Helicobacter pylori* infection ? *Med Sci Monit*. 2004;10(8):4-5.
 134. Yılmaz E, Dogan Y, Gurgoze MK, Unal S. Seroprevalance of *Helicobacter pylori* infection among children and their parents in eastern Turkey. *J Paediatr Child Health*. 2002; 38(2):183-186.
 135. Seyda T, Derya C, Fusun A and Meliha K. The relationship of *H. pylori* positivity with age, sex, and ABO/Rhesus blood groups in patients with gastrointestinal complaints in Turkey. *Helicobacter*. 2007;12(3):244-50.
 136. Kanbay M, Gur G, Arslan H, Yılmaz U, Boyacıoglu S. The relationship of ABO blood group, age, gender, smoking, and *Helicobacter pylori* infection, *Dig Dis Sci*. 2005;50(7):1214-7.
 137. Moges F, Kassu A, Mengistu G, Adugna S, Andualem B. Seroprevalence of *H. pylori* in dyspeptic patients and its relationship with HIV infection, ABO blood groups and life style in a university hospital, Northwest Ethiopia *World J Gastroenterol*. 2006;12:1957-61.
 138. Bani-Hani KE, Shatnawi NJ, El Qaderi S, Khader YS, Bani-Hani BK. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in healthy schoolchildren. *Chin J Dig Dis*. 2006;7(1):55-60.
 139. Aspholm-Hurtig M, Dailide G, Lahmann M, Kalia A, Ilver D, Roche N, at al. Functional adaptation of BabA, the *H. pylori* ABO blood group antigenbinding adhesin. (abst) *Science*. 2004;23:519-22.
 140. Brigić E, Terzić S, Iljazović E, Cickusić E. Association between chronic gastritis in childhood, *Helicobacter pylori* and ABO blood groups, *Med Arh*. 2002;56:57-8.
 141. Alkout AM, Blackwell CC, Weir DM. Increased inflammatory responses of persons of blood group O to *Helicobacter pylori*.(abst) *J Infect Dis*. 2000 ;181(4):1364-9.
 142. Gonzales Flores PA, Diaz Ferrer JO, Monge Salgado E, Watanabe Varas T LIC. ABO blood groups as risk factor in *H.Pylori* infection.(abstr). *Rev Gastroenterol Peru*. 2000;20(4):370-375.

143. Özden A, Dumlu Ş, Dönderci Ö, Çetinkaya H, Soylu K. Helicobacter pylori infeksiyonunun ülkemizde seroepidemiolojisi. Gastroenteroloji. 1992;3(4):664- 668.
144. Ozturk H, Senocak ME, Uzunlimoglu B, Hascelik G Buyukpamukcu N, Hicsonmez A. Helicobacter pylori infection in symptomatic and asymptomatic children: a prospective clinical study. Eur J Pediatr Surg. 1996; 6(5):265-269.
145. Ozden A, Bozdayı G, Ozkan M, Kose KS. Changes in seroepidemiological pattern of Helicobacter pylori infection over the last 10 years in Turkey. Turk J Gastroenterol. 2004;15:156-8.
146. Us D, Hascelik G. Seroprevalance of Helicobacter pylori infection in an Asymptomatic Turkish population. J Infect. 1998;37(2):148-150.
147. Sarker SA, Rahman MM, Mahalanabis D, Bardhan PK, Hildebrand. P, Beglinger C, Gyr K. Prevalance of Helicobacter pylori infection in infants and family contact in a poor Bangladesh community. D.g Dis Sci. 1995;40:2669-72.
148. Endon K, Leung FW: Effect of smoking and nicotine on the gastric mucosa: a review of clinical and experimental evidence Gastroenterol. 1994;107(3): 864-78.
149. Woodward M, Morrison C, McColl K: An investigation into factors associated with H. pylori infection. J Clin Epidemiol. 2000; 53(2):175-81.
150. Kopanski Z, Schlegel-Zawadzka M, Golec E. The significance of selected epidemiologico-clinical factors in the prevalence of the H. pylori infection in young males. Eur J Med Res. 1997;28(8):358-60.
151. Bateson MC. Cigarette smoking and Helicobacter pylori infection. Postgrad Med J. 1993;69(807):41-4.
152. Ogihara A, Kikuchi S, Hasegawa A, Miki K, Kaneko E, Mizukoshi H. Relationship between Helicobacter pylori infection and smoking and drinking habits. J Gastroenterol Hepatol. 2000;15(3):271-6.
153. Wildner-Christensen M, Hansen JM, De Muckadell OB. Risk factors for dyspepsia in a general population: non-steroidal anti-inflammatory drugs, cigarette smoking and unemployment are more important than H. pylori infection. Scand J Gastroenterol. 2006;41(2):149-54.
154. Güncel gastroloji Website [homepage on the internet]. Ankara. Available from: <http://guncel.tgv.org.tr>.
155. Ameriso SF, Fridman EA, Liugorda FC, Sevelev GE. Detection of H. pylori in human carotid atherosclerotic plaques. Stroke. 2001;32: 385-91.

156. Kadanalı A, Taşyaran MA, Ertek M, Erol S. *Helicobacter pylori* infeksiyonu ve koroner kalp hastalığı arasındaki ilişkinin anti-Helico IgG ile araştırılması. *İnfeks Derg.* 2003;17(1):5-10.
157. Adiloğlu Ak, Nazlı C, Arıdoğan BC, Kınay O, Can R, Ergene O. Aterosklerotik ve sağlam kişilerde *Helicobacter pylori* ve serum C-reaktif protein birlikteliği. *İnfeks Derg.* 2003;17(4): 405-8.
158. Mitz HS, Farber SS. Demonstration of *Helicobacter pylori* in tracheal secretions. *J Am Osteopath Assoc.* 1993; 93:87-91.
159. Tsang KW, Lam SK, Lam WK, Karlberg J, Wong BC, Hu WH, et al. High seroprevalence of *Helicobacter pylori* in active bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:1047-1051.
160. Tsang KW, Lam WK, Kwok E, Chan KN, Hu WH, Ooi GC. H. pylori and upper gastrointestinal symptoms in bronchiectasis. *Eur Respir J.* 1999;14:1345-1350.
161. Sığanık A. Diyabetik Otonom Nöropatili Hastalarda Helikobakter Piloni Sıklığı *İstanbul Tıp Dergisi.* 2004;2:12-15.
162. Hua H-Xia X. *Helicobacter pylori* infection is not associated with Diabetes mellitus, nor with upper gastrointestinal symptoms in D. mellitus. *The Am J Gastroenterol.* 2001;96:1039-1046.
163. Persico M, Suozzo R Persico M, Suozzo R, De Seta M, Montella F, Torella R., Gentile S. Monulcer dyspepsia and H. pylori in type 2 diabetic patients association with autonomic neuropathy. *Dabetes Res Clin-Pract.* 1996;31:87-92.
164. Colombo C, Tomasi PA, Meloni GF, Marinaro AM, Ogana A, Meloni T. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in children with type 1 diabetes mellitus in Sardinia. *Diabetes Nutr Metab.* 2002;15(2):91-5.
165. Olmos JA, Rosa Diez G, Higa R, Algranati S, Rios H, De Paula JA, et al. *Helicobacter pylori* seroprevalence in dialysis patients. (abst) *Acta Gastroenterol Latinoam.* 2003;33(3):139-44.
166. Yaşar N, Hüseyin U, Nevin Y, Mahmut D, Muharrem B. Şanlıurfa Yöresinde Üst Gastrointestinal Endoskopi Bulguları ve *Helicobacter pylori* Pozitifliği. *Van Tıp Dergisi.* 1999;6(3):1-3.
167. Vicari JJ, Peek RM, Faik GW. The seroprevalance of cag A + *Helicobacter pylori* strains in the spectrum of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterol.* 1998;115:50-7.
168. Fallone CA, Barkun AN, Friedman G, Mayrand S, Loo V, Beech R, et al. Is *Helicobacter pylori* eradication associated with gastroesophageal reflux disease? *Am J Gastroenterol.* 2000;95:914-920.

169. Oberg S, Peters JH, Nigro JJ, Theisen, J., Hagen, J. A., DeMeester et al. *Helicobacter pylori* is not associated with the manifestations of gastroesophageal reflux disease. *Arch Surg.* 1999;134:722-726.
170. Manes G, Mosca S, Lacetti M, Lioniello M, Balzano A. *Helicobacter pylori* infection, pattern of gastritis, and symptoms in erosive and nonerosive gastroesophageal reflux disease. *Scand J Gastroenterol.* 1999; 34:658-662.
171. Sandıkçı MU, Doran F, Koksall F, Sandıkçı S, Uluhan R, Varınlı S, Akan E. *Helicobacter pylori* prevalence in a routine upper gastrointestinal endoscopy population. *Br J Clin Pract.* 1993;47(4):187-9.
172. Sandıkçı M. Gastrit Peptik Ülser ve *H. pylori*, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi edt. A. Wilke Topçu. 2002;787-92.
173. Loffeld RJLF, Williem I, Flending SA, Arando JW. *Helicobacter pylori* and gastric carcinoma. *Histopathology.* 1990;17:537-541.
174. Nomura A, Stemmeman GN, Chyou P, Kato I. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii II. *New Engl J Med.* 1991;325:1332-36.
175. Erdem L. Öncül lezyonlar. Edt. Mihmanlı M. Mide kanseri ve Cerrahi tedavisi. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık. 2004. s:315.
176. Kuipers EJ, Lundell L, Klinkenberg-Konl EC, Havu N, Festen HP, Liedman B et al. Atrophic gastritis and *H. pylori* infection in patients with reflux esophagitis treated with omeprazole or fundoplication. *N Eng J Med.* 1996;334:1018-22.
177. Lundell L, Navu N, Anderson A. Gastritis development and acid suppression therapy revisited. Results of a randomised clinical study with long term follow-up. *Gastroenterol.* 1997;112:28-29.
178. Engin D, Ercis S, Ozaslan E, Ozen H, Gunes D, Hascelik G ve ark. Gastrointestinal manifestations of Behcet's. *H. Turk J Gastroenterol.* 2001;12: SB/15.
179. Işıksal F, Çolakoğlu S, Köksal F, Polat E, Yetgin M. *Helicobacter pylori* antibiyotik direnci. *Turk J Gastroenterol.* 2003;14: SB 07/5.
180. Uzunismail H. Türkiye'de *Helicobacter pylori* Sorunu. *Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım Sempozyum Dizisi.* 2004; s:33-41.
181. Fidan I, Türet S. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda patogenezi ve tanı, *Enfeksiyon Dergisi.* 1999;13:455-460.
182. He Q, Wang JP, Osato M, Lachman LB. Real-time quantitative PCR for detection of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol.* 2002;40:3720.

183. Kobayashi D, Eishi Y, Ohkusa T, Suzuki T, Minami J, Yamada T et al. Gastric mucosal density of *Helicobacter pylori* estimated by real-time PCR compared with results of urea breath test and histological grading. *Med Microbiol.* 2002;51:305-11.
184. Lo CC, Lai KH, Peng NJ, Lo GH, Tseng HH, Lin CK, et al. Polymerase chain reaction: a sensitive method for detecting *Helicobacter pylori* infection in bleeding peptic ulcers. *World J Gastroenterol.* 2005;11(25):3909-14.
185. Kadanalı A, Özkurt Z. *Helicobacter pylori* infeksiyonu: Epidemiyoloji, patogenezi ve ilişkili hastalıkları *Klinik Dergisi.* 2004;17(3):146-50.
186. Araya JC, Anabalón L, Bravo M, Villaseca MA, Guzmán P, Roa JC et al. Association between *Helicobacter pylori* genotype and the severity of gastritis in infected adults. *Rev Med Chil.* 2004;132(11):1345-54.
187. Citty DM, Huertas MG, Martinez JD, Oliveros R, Posso H, Bravo MM, et al. *Helicobacter pylori* genotypes in non atrophic gastritis are different of the found in peptic ulcer, premalignant lesions and gastric cancer in Colombia. *Rev Med Chil.* 2002;130(2):143-51.
188. Gzyl A, Berg DE, Dzierzanowska D. Epidemiology of *cagA/vacA* genes in *H. pylori* isolated from children and adults in Poland. *J Physiol Pharmacol.* 1997;48(3):333-43.
189. Erzin Y, Koksall V, Altun S, Dobrucali A., Aslan M., Erdamar S et al. Prevalence of *Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA, babA2* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. *Helicobacter.* 2006;11(6):574-80.
190. Lazebnik LB, Tsaregorodtseva TM, Serova TI, Sokolova GN, Klishina MV, Gubina AV. Antibodies to *Helicobacter pylori* in gastric diseases. *Ter Arkh.* 2006;78(2):15-9.
191. Bhat N, Gaensbauer J, Peek RM, Bloch K, Tham KT, Blaser MJ, et al. Local and systemic immune and inflammatory responses to *Helicobacter pylori* strains. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2005;12(12):1393-400.
192. Dore MP, Fastame L, Negrini R, Delitala G, Realdi G. Immunity markers in patients with *Helicobacter pylori* infection: effect of eradication. *Helicobacter.* 2005;10(5):391-7.
193. Rautelin HI, Oksanen AM, Karttunen RA, Seppälä KM, Virtamo JR, Aromaa AJ, et al. Association of *CagA*-positive infection with *Helicobacter pylori* antibodies of IgA class. *Ann Med.* 2000;32(9):652-6.