



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK BAKTERİYOLOJİ VE ENFEKSİYON HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

***HELICOBACTER PYLORI* SUŞLARINDA GENOTİPİK FARKLILIKLARIN
VE İLAÇ DİRENCİNİN SAPTANMASI**

Dr. Saliha BAKIR ÖZBEY

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2008



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK BAKTERİYOLOJİ VE ENFEKSİYON HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

***HELICOBACTER PYLORI* SUŞLARINDA GENOTİPİK FARKLILIKLARIN
VE İLAÇ DİRENCİNİN SAPTANMASI**

Dr. Saliha BAKIR ÖZBEY

DANIŞMAN: Prof. Dr. Safiye HELVACI

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2008

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
GİRİŞ.....	1-2
GENEL BİLGİLER.....	3-30
GEREÇ VE YÖNTEM.....	31-36
BULGULAR.....	37-45
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	46-52
EKLER.....	53
KAYNAKLAR.....	54-61
TEŞEKKÜR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	63

ÖZET

Helicobacter pylori enfeksiyonu dünyada yaygın olarak görülen kronik bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. *H pylori* enfeksiyonu kronik gastrit, peptik ülser ve gastrik kanser ile ilişkilidir. *H pylori*'de antibiyotiklere karşı gelişen direnç tedavide başarısızlığa neden olmaktadır. Son yıllarda bu direnç oranı giderek artmaktadır. *cag* patojenite adası (*cagPAI*) *H pylori*'nin majör virülans faktörüdür. Ancak, *H pylori* enfeksiyonunun klinik sonucu *cagA*, *cagT* ve *cagE* de dahil olmak üzere bazı *cagPAI* genlerinin analiziyle tam olarak öngörülememektedir.

Bu çalışmada 31 *H pylori* izolatının klaritromisin, amoksisilin, metronidazol, tetrasiklin ve siprofloksasin duyarlılığı E test yöntemi ile çalışıldı. Sırasıyla %41.9, %3.2, %41.9, %3.2 ve %45.2 oranlarında direnç saptandı. Tek antibiyotiğe direnç %32.2, çoklu direnç ise %45.2 oranında bulundu. Klaritromisin direnci ayrıca FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon) yöntemi ile çalışıldı. Klaritromisin direncini saptamada her iki yöntem arasında fark saptanmadı. Ayrıca 50 *H pylori* izolatu (21 ülser, 20 gastrit ve 9 nonülser dispepsi) PCR ile incelendi. Sekiz primer çifti (*cagA1*, *cagA2*, *cagAP1*, *cagAP2*, *cagE*, *cagT*, LEC1 ve LEC2) kullanılarak *cag PAI* genlerinden beş farklı lokusun (*cagA*, *cagA* promoter bölgesi ve *cagE*'nin olduğu *cagPAI*-I bölgesi ile *cagT* ve LEC'in olduğu *cagPAI*-II bölgesi) varlığı incelendi. On hastada (%20) intakt *cagPAI* saptandı. Suşların %36'sında *cagA* geni bulunurken *cagE* ve *cagT* genleri sırasıyla %64 ve %58 olarak saptandı. *cagPAI* genleri ile klinik sonuçlar arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Bu çalışma *cagE*'nin varlığının *cagA* ile değil *cagT* ile ilişkili olduğunu göstermiştir. ($p=0.003$). Bununla birlikte *cag* promoter bölgesi %58 ve LEC bölgesi de %56 oranında saptandı. Bu da, bu iki genin de virülansa katkıda bulunduğunu desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: *Helicobacter pylori*, *cag* patojenite adası, antibiyotik direnci, E test, FISH

SUMMARY

Detection of Genotypic Diversities and Drug Resistane in *Helicobacter pylori* Strains

Helicobacter pylori infection is one of the common seen chronic bacterial infections in the world. *H pylori* infection is associated with a variety of clinical outcomes ranging from to chronic gastritis, peptic ulcer disease and gastric cancer. *H pylori* acquired resistance to antimicrobial agent treatment failure occurs. The resistance rate has been increasing in the past years. The cag pathogenicity island (cagPAI) is on of the majör virulence determinants of *H pylori*. However, the clinical outcome of *H pylori* infection is not reliably predicted by analyzing several genes of the cagPAI, including cagA, cagT and cagE.

In this study 31 *H pylori* isolates examined for sensitivity to clarithromycin, amoxicillin, metronidazole, tetracycline and ciprofloxacin by E-test method The resistance rates were 41.9%, 3.2%, 41.9%, 3.2%, and 45.2%.respectively. The single resistance rate to antibiotics was found to be 32.2%, the multiple resistance rate on the other hand was found to be 45.2%. Susceptibility to clarithromycin was tested by E-test and FISH (Fluorescent In Situ Hybridization). No discrepancies were found between both methods. In addition, *H pylori* strains from 50 patients (21 ulser, 20 gastritis and 9 nonulser dispepsi) were analyzed using PCR. Eight pairs of oligonucleotid primers (cagA1, cagA2, cagAP1, cagAP2, cagE, cagT, LEC1 ve LEC2) of five different loci (cagA, cagA promoter region, cagE which represents cagPAI-I region and cagT, LEC representing cagPAI-II region) were used to detect the presence of the cag PAI genes. Intact cagPAI has been determined in 10 patients (20%). CagA gene was present in 36% of strain while cagE and cag T genes were present in 64% and 58% respectively. No association could be discerned between the presence of cagPAI genes and the clinical outcome. This study revealed consistency in the presence of cagE with cagT but not cagA. (p=0.003). However, the cag promoter region and the LEC region has been determined for 58%, 56% respectively. This supports that these two genes have an impact on the virulence.

Key Words: *Helicobacter pylori*, cag pathogenicity island, antibiotic resistance, E test, FISH

GİRİŞ

Helicobacter pylori enfeksiyonu bütün dünyada oldukça yaygın olarak görülen kronik bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Dünya nüfusunun %70-90'ını enfekte eden *H pylori* gram negatif, spiral şeklinde mikroaerofilik bir bakteridir. Birçok enfekte kişi asemptomatik olmasına rağmen *H pylori* gastrit, peptik ülser, gastrik mukoza ile ilişkili lenfatik doku lenfoması ve gastrik adenokarsinomaya neden olması nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur (1,2).

Günümüzde *H pylori* ile ilgili çalışmalar gastroduodenal patolojinin gelişimini etkileyen bakteri, konak ve çevreye ait faktörlerin belirlenmesi ve *H pylori* kolonizasyonunun yanı sıra kolonize suşlardaki muhtemel virülans faktörlerini saptayacak tanı yöntemlerinin geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır (3). *H pylori*'nin majör virülans faktörünün cag patojenite adası (cagPAI) olduğu düşünülmektedir (4). Bilinmeyen bir bakteriden aktarıldığı düşünülen ve glutamat rasemaz geni içerisinde yer alan cagPAI genleri, ya aralıksız olarak, ya da araya giren insersiyon segment IS605 ile ayrılmış sağ cagPAI-I ve sol cagPAI-II olarak tanımlanan iki alt üniteden oluşur. Sırası ile 14 ve 16 ORF (open reading frame)'den oluşan bir gen bölgesidir. Bu gen adası virülansla ilgili tip IV sekresyon sisteminde rol alan proteinleri kodlar (4-6). cagPAI bölgesi bulunan *H pylori* suşlarının konak hücrede sinyal aktarım yollarını aktive ettiği düşünülmektedir. Bunun sonucunda bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa B'nin indüksiyonu ile proenflamatuvar IL-8'in sekresyonu artmaktadır (7-10).

H pylori'nin oluşturduğu kronik enfeksiyon, konağın immün direnciyle ortaya çıkan selektif baskının sonucu genetik değişikliklere yol açar. Bu nedenle *H pylori* suşları arasında genetik farklılıklar görülür. Hastalığın şiddeti ve belirli bir genotipin varlığıyla ilişkili olarak belli bölgelerdeki virulan suşların prevalansı önemli epidemiyolojik etkiye sahiptir (11). İntakt cagPAI'nın virülans markırı olduğu ve çeşitli ürünlerinin ortaya çıkışı ile hastalığın daha ağır seyretmesini sağladığı gösterilmiştir. Fakat bazı araştırmacılar tam bir görüş birliği içinde değildir (11). Kauser ve ark. (5) çok sayıda suş kullanarak dünyadaki *H pylori* suşlarının çoğunun cagPAI'nın her zaman intakt olmadığını göstermişlerdir. Bu nedenle *H pylori* suşlarının geniş klinik-

epidemiyolojik olarak tanımlanması ve patolojik özelliklerinin araştırılması gerekmektedir.

H pylori enfeksiyonunun tedavisinde henüz ideal bir kemoterapi rejimi bulunmamaktadır. Metronidazol, klaritromisin, amoksisilin, tetrasiklin ve siprofloksasin tedavide kullanılan antimikrobiyal ajanlardır. *H pylori*'de antibiyotiklere karşı gelişen direnç tedavide başarısızlıklara neden olmaktadır. Son yıllarda bu direnç oranının artması *H pylori*'de antimikrobiyal ajanlara direncin araştırılmasının önemini arttırmıştır. Artan direnç oranları nedeniyle Maastricht-3 2005 konsensus kararlarında klaritromisin direncinin %20'den fazla olduğu durumlarda bu antibiyotiğin bırakılması ve kültür antibiyogram yapılması önerilmektedir (12-14). Bu nedenlerden dolayı bölgelerin antibiyotik direnç oranlarının bilinmesi etkin tedavi rejimlerinin belirlenmesinde önem taşımaktadır.

H pylori'nin uzun sürede ve güç üreyen bir bakteri olması antibiyotik duyarlılığının belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Klaritromisin duyarlılığını saptamada kolay ve kısa sürede sonuç alınabilen FISH (Floresan *in situ* hibridizasyon) yöntemi son yıllarda artarak kullanılmaktadır (15).

Çalışmamızın amacı; artan direnç ve tedavideki sorunlar nedeniyle bölgemizdeki *H pylori* direnç oranlarının saptanması ve klaritromisin direncinin saptanmasında E test ve FISH yönteminin karşılaştırılması, ayrıca *H pylori* cagPAI bütünlüğü ve klinik sonuçları arasındaki ilişkiyi saptayarak literatüre katkıda bulunmaktır.

GENEL BİLGİLER

Tarihçe

Gastroduodenal patolojilerle mikroorganizmalar arasındaki olası ilişki 19. yüzyılın ikinci yarısından itibaren ilgi çekmeye başlamıştır. Letulle ve Botuccher mide ülserlerinde lezyonun çevresindeki dokularda bakteriyel kolonizasyonu göstermişlerdir (16). Spiral şekilli bakterilerin bazılarının insan veya hayvanların midelerinde yer alabileceği 100 yılı aşkın süredir bilinmektedir. 1893 yılında Bizzozero birçok hayvanın midesinde spiral mikroorganizmaların bulunduğunu bildirmiştir. 1896 yılında Salomon kedi midelerinde spiral bakterilerin varlığını göstermiştir (17). 1906'da Krienitz mide kanserli hastaların midesinde spirokete benzer mikroorganizmalar izole etmiş, 1938'de Doonges maymunlarda gastrik enflamasyonla spiroketler arasında ilişki olduğunu göstermiştir (16). Avustralya'da patolog olarak çalışan Robin Warren, ilk defa 1979 yılında histopatolojik inceleme için gönderilen gastrik biyopsi örneklerinde kıvrık bakterilerin varlığını gözlemiştir. Bu bakterilerin gastrik mukozada olmayıp, dokuyu örten mukus tabakası içinde bulunduğunu saptamıştır. Barry Marshall, 1982 yılında Warren ile birlikte izolasyon çalışmalarına başlamıştır. İlk önceleri bu mikroorganizma kıvrık ve gram negatif bir basil şeklinde olduğu için *Campylobacter* cinsi içinde değerlendirilmiş ve bakteriye *Campylobacter pyloridis* adı verilmiştir (1,17). Bu buluşun yayınlanmasıyla birlikte bu konudaki çalışmalar yoğunlaşmış, yapılan tiplendirme çalışmalarında mikroorganizmanın bazı özellikleri nedeniyle *Campylobacter* cinsi olmadığı ve bakterinin *Helicobacter pylori* olarak adlandırılması gerektiği vurgulanmıştır. 1984 yılında *H. pylori* infeksiyonunda gastrik enflamasyon (kronik süperfisyal gastrit) ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonu olduğu, yani kronik aktif gastrit oluşturduğu belirlenmiştir. *H. pylori*'nin etyolojik ajan olarak peptik ülser hastalığındaki rolü yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. 1994 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institutes of Health), *H. pylori*'nin peptik ülser hastalığının başlıca nedeni olduğunu ve enfekte olan bireylerin mikroorganizmanın eradikasyonu için tedavi edilmesi gerektiğini bildirmiştir (1,16,17,18,19).

1991 yılında *H. pylori* enfeksiyonu ile gastrik kanser arasında ilişki olduğu yönünde çalışmalar yayınlanmış ve 1994 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün bir dalı olan Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Cancer Research) *H. pylori*'nin insanlarda karsinojen olduğunu bildirmiştir. Kronik *H. pylori* enfeksiyonunun gastrik non-Hodgkin lenfomaların ve gastrik mukozada gelişen lenfoid doku lenfomasının (MALToma) gelişiminde rol aldığı saptanmış ve MALT lenfomalı hastalarda *H. pylori* eradikasyonu ile tümörün gerilediği bildirilmiştir (1,19,20).

Özet olarak, *H. pylori*'nin gastroduodenal dokuyla ilişkili olarak gastritten ülser ve malignansilere kadar pek çok hastalıkta rolü olduğu bilinmektedir. Warren ve Marshall *Helicobacter pylori*'yi üretmeleri, gastrit, ülser ve gastrik kanser ile ilişkisini göstermiş olmaları nedeniyle Ekim 2005 yılında Nobel Tıp ödülünü almışlardır (21).

Epidemiyoloji

Gelişmekte olan ülkelerde populasyonun %70-90'ı *H. pylori*'yi taşımakta ve çoğunda da bakteri 10 yaşından önce kolonize olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise prevalansı daha düşüktür (%25-%50). Yapılan çalışmalar enfeksiyonun çocukluk çağında edinildiği bildirmektedir. Enfeksiyonun kazanılmasında cinsler arasında fark belirlenmemiştir. Çıplak elle endoskopi yapan hekimlerde, hemşirelerde, sigara içenler ve aşırı alkol alanlarda *H. pylori* enfeksiyonu daha sık görülmüştür (1,22).

H. pylori'nin birden fazla suşu çocukluk döneminde kolonize olabilir. Fakat suşların çoğu spontan olarak eradike edilirken mide mukozasına ve konağın immün sistemine uyum sağlayan suşlar konakta kalıcılık gösterir. Baskın genotip aileseldir ve baskın yerleşim diğer suşlarla bir yarış sonucu kazanılan bir kalıcılık olmayıp ailenin şartlarına uyum sağlamış gastrik kolonizasyona adaptasyon sonucudur. İleri yaştaki hastaların mide biyopsi örneklerinde batı toplumlarında %10.8, Brezilya'da %15.4, Portekiz'de %44.5, Meksika'da %65 ve Güney Amerika'daki diğer ülkelerde %23.8 oranında birden fazla suşun görüldüğü bildirilmişse de bu mikst kolonizasyonun bir mikst enfeksiyon mu, yoksa midenin antrum ve korpus gibi farklı bölgelerinde adapte olmaya çalışan bir suşun genotipik mutantlarına mı bağlı olduğu

kesin açıklanamamıştır. Ancak kişi hijyeni ve çevre hijyeni bozuk toplumlarda hayatın her döneminde yeniden enfeksiyon riski mikst enfeksiyon ihtimalini arttırmaktadır (3).

İnsan dışında bazı gelişmiş primatlardan ve nadiren evcil kedilerden *H pylori* izole edilmiştir. Ancak insanlara bu canlılardan bulaşma olduğunu gösteren bir kanıt bulunamamıştır. Dolayısıyla insan midesi dışında bir rezervuar saptanamamıştır. İnsandan insana bulaşı açıklayacak üç hipotez vardır. İlki iyatrojeniktir. Bulaş kişinin mide mukozası ile temas eden iyi temizlenmemiş tüp ve endoskoplar ile olur. Endoskopların geliştirilmiş dezenfeksiyonu ile bulaş oranı azalmıştır. İkinci hipotez fekal oral geçiştir. Mikroorganizma enfekte çocukların dışkılarından izole edilmesine karşın fekal izolasyonun sık olmaması atılımın intermittan olduğunu gösterir. Üçüncü hipotez olan oral-oral geçiş çocuklarına ağızlarında besin ezerek veren Afrikalı kadınlarda bildirilmiştir. Ayrıca reflü olan mide içeriği ağza kadar gelip, öpüşme gibi yakın ilişki sırasında eşlere bulaş olabileceği düşünülmüştür. Bu hipotezlerle birlikte *H pylori*'nin bulaş yolu halen tam açıklık kazanmamıştır (1,22).

Ülkemizde ise *H pylori* epidemiyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda %46-78'lik prevalanslar verilmiş ve prevalansın yaşla arttığı bildirilmiştir (23). Akın ve ark. (24) 2004 yılında yaptıkları çalışmalarda 25-64 yaşları arasında *H pylori* prevalansını %77.5 olarak bildirmiştir.

***Helicobacter* türlerinin genel özellikleri**

Vandamme ve arkadaşları 1990'lı yılların başında DNA-rRNA hibridizasyon, immün tiplendirme ve 16S rRNA zincir analizleri gibi teknikler kullanılarak yaptıkları çalışmalarla bütün *Campylobacter* ve akraba türlerinin "rRNA süper ailesi VI" olarak adlandırdıkları filogenetik gruba dahil olduklarını göstermişlerdir. Bu süper aile içerisinde *Arcobacter*, *Campylobacter*, *Wolinella*, *Helicobacter* ve *Flexispira* olmak üzere beş cins yer almaktadır. Bu cinslerin özellikleri tablo-1 de yer almaktadır (18,25).

16S rRNA zincirleri üzerinde yaptıkları çalışmalar sonucunda IV. rRNA süperailisine dahil olan türler üç farklı grup içinde toplanmışlardır.

rRNA Grup I: Gerçek *Campylobacter* türlerini içerir. Bunlar; *C fetus*, *C coli*, *C concicus*, *C curvus*, *C gracilis*, *C helveticus*, *C hyointestinalis*, *C jejuni*, *C lari*, *C mucosalis*, *C rectus*, *C showae*, *C sputorum*, *C upsaliensis*.

rRNA Grup II: *Arcobacter* türlerini içerir. Bunlar; *A butzleri*, *A cryaerophilus*, *A nitrofigilis* ve *A skirrowii*.

rRNA Grup III: *Wolinella*, *Helicobacter* ve *Flexispira* türlerini içerir. Bunlar; *H pylori*, *H acinonyx*, *H bilis*, *H bizzozeronii*, *H canis*, *H cinaedi*, *H felis*, *H fennelliae*, *H hepaticus*, *H muridarum*, *H mustelae*, *H nemestrinae*, *H pametensis*, *H pullorum*.

Tablo-1: “rRNA süper ailesi VI” içerisinde yer alan cinsler ve özellikleri (18)

Cins	Nitrat redüksiyonu	%5 Glisinde üreme	Üre Hidrolizi	Üreme ısısı			Hücre Morfolojisi	Flajella Kılıfı
				15°C	30°C	42°C		
<i>Arcobacter</i>	(+)	?	D	(+)	(+)	(-)	Kıvrımlı spiral	Yok
<i>Campylobacter</i>	(+)	D	(-)	(-)	(+)	D	Kıvrımlı spiral	Yok
<i>Wolinella</i>	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	Z	Spiral	Yok
<i>Helicobacter</i>	D	(+)	D	(-)	D	D	Kıvrımlı spiral	Var
<i>Flexispira</i>	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	Düz fuziform	Var

(+): Suşların %90 ve fazlası pozitif, (-): Suşların %90 ve fazlası negatif

D: Suşların %11-89'u pozitif

Z: Zayıf reaksiyon

rRNA Grup III aslında üç cins (*Helicobacter*, *Flexispira* ve *Wolinella*) ve bir adet henüz adı konulmamış *Campylobacter* benzeri tür (*Campylobacter* like organism: CLO-3) içermektedir (18).

Şu ana kadar toplam 23 tane isimlendirilmiş *Helicobacter* türü vardır. Tüm *Helicobacter* türleri içinde üzerinde en fazla çalışılan tür *H pylori*'dir. Bu çalışmanın konusu olması nedeniyle diğer türlerden çok kısa bahsedilecektir.

Tıbbi Önemi Olan Türler: *H pylori* dışında pek çok *Helicobacter* türü insanlardan izole edilmiş ve insanlardaki çeşitli hastalıklarla ilişkisi gösterilmiştir. Bunlar arasında *H cinaedi*, *H fennelliae*, *Helicobacter* türü mainz suşu, *H pullorum*, *Flexispira rappini* (*H rappini*), *Gastrospirillum hominis* (*H heilmanni*), *Campylobacter* benzeri mikroorganizma (CLO-3) sayılabilir (18).

***H cinaedi*:** *H cinaedi* sadece 37°C'de ürer, sefalotine (30 µg disk) orta düzeyde duyarlıdır. Nitratı nitrite indirger. Doğada bilinen tek rezervuarı hamsterlerdir. *H cinaedi* semptomatik veya asemptomatik homoseksüel erkeklerin rektal sürüntü örneklerinden izole edilmiştir. Tüberküloz enfeksiyonu olan homoseksüel erkeklerde, AIDS hastalarında, AIDS olmayıp HIV pozitif olanlarda bakteriyemiye neden olduğu gösterilmiştir (18). *H cinaedi* enfeksiyonları homoseksüel veya biseksüel erkeklerle sınırlı olmayıp bu erkeklerle temas öyküsü olmayan kadınlardan ve çocuklardan da izole edilmiştir. Ayrıca literatürde yenidoğan menenjitli bir olgu sunumu bildirilmiştir. *H cinaedi* immün kompromize hastalarda genellikle ateş, bakteriyemi, tekrarlayan selülit, artrit, lökositoz ve trombositopeni ile karakterli hastalık tablolarına neden olmaktadır (26-28).

***H fennelliae*:** *H fennelliae* sefalotine duyarlıdır ve nitratı nitrite indirgemez. *H cinaedi* gibi semptomatik veya asemptomatik homoseksüel erkeklerden alınan rektal sürüntü örneklerinden izole edilmiştir. HIV pozitif, intravenöz ilaç bağımlısı biseksüel bir erkek hastanın kan kültürlerinden izole edilmiştir (18).

***Flexispira rappini*:** Genetik olarak *H pylori*'ye benzer olan bakteri üreaz pozitifdir. Düz, periplazmik lifler nedeniyle buruşuk yüzeyli ve fuziform yapıdadır. İki ucunda çok sayıda flagellası vardır. *H pylori*'nin aksine Alkalen fosfatazı negatiftir. 30°C'de üremeyip 43 °C de ürer ve metronidazole dirençlidir (5 µg). *Campylobacter* türlerinden katalaz negatif olması, nitratı redükte etmemesi ve %1'lik glisinde üreyememesi ile ayrılır. *Helicobacter* cinsi içine alınması halen tartışılmakta olan *Flexispira rappini*, insan ve köpek dışkılarından ve düşük olmuş koyun fetüs örneklerinden izole edilmiştir. İnsanda gastroenterit semptomları olan iki hastadan izole edilmiştir (18).

Gastrospirillum hominis: İnsan mide mukozasında bulunan *Gastrospirillum hominis*, *H pylori*'ye göre daha geniş olan ve daha sıkı kıvrımları bulunan bir bakteridir. Bakterinin evcil hayvanlarda çok yaygın olarak bulunuyor olması insanlarda neden olduğu kronik gastrit hastalığının bir zoonoz olduğunu düşündürmektedir (18,29).

CLO-3: Homoseksüel bir erkeğin rektal sürüntü örneğinden izole edilmiştir. 42°C'de üreyebilmesi, sefalotine dirençli olması ve nitratı redükte edememesi ile diğer *Campylobacter* benzeri mikroorganizmalardan ayrılır (18).

İnsan dışı canlılardan izole edilen *Helicobacter* türleri: Hayvanlardan izole edilen birçok *Helicobacter* türü mevcuttur. Bunlar arasında *H acinonyx*, *H bilis*, *H bizzozeronii*, *H canis*, *H felis*, *H hepaticus*, *Helicobacter* türü Mainz suşu, *H muridarum*, *H mustelae*, *H nemestrinae*, ve *H pullorum* sayılabilir. Genellikle hayvanların mide ve alt gastrointestinal sistemlerinde bulunurlar. Eğer midede yerleşmişler ise büyük olasılıkla gastrit yapmaktadırlar. Sayılan türlerin bazılarının insanlardan da izole edildiği bildirilmektedir. *Helicobacter* türleri ve izolasyon yerleri ve izole edildiği canlılar tablo 2'de özetlenmiştir (18).

Helicobacter pylori

Genel özellikleri: *Helicobacter pylori* 0.5-1 µm eninde, 2.5-5.0 µm uzunluğunda, spiral veya kıvrık, sporsuz gram negatif basillerdir (1). Uzamış kültürlerinde kokoid formda görülebilirler. Kokoid formlar metabolik olarak aktif olmalarına karşın henüz in vitro koşullarda kültürleri yapılamamıştır. *H pylori*'yi kampilobakterlerden ayıran özellikleri; çok sayıda ve kılıflı flajellalarının olması, üreyi güçlü bir şekilde hidrolize edebilmesi ve yağ asidi profilidir. (14:0 asit oranı yüksek, 16:0 asit oranı düşüktür, ve 3-OH-18:0 asit bulundurur) Bu nedenlerden dolayı Goodwin ve arkadaşlarının önerisiyle, *C pylori* yeni bir cins olan *Helicobacter* cinsine transfer edilmiştir (18).

Tablo 2: *Helicobacter* türleri ve izolasyon yerleri (18)

Tür	Konakçı	İzolasyon yeri
<i>H acinonyx</i>	Çita	Mide mukozası
<i>H bilis</i>	Fare	Safra, karaciğer, bağırsak
<i>H bizzozeronii</i>	Köpek	Mide mukozası
<i>H canis</i>	Köpek, insan	Gaita
<i>H cinaedi</i>	İnsan, hamster	Kan, rektal sürüntü(insan), bağırsak (hamster)
<i>H felis</i>	Köpek, kedi	Mide mukozası
<i>H fennelliae</i>	İnsan	Kan, rektal sürüntü
<i>H hepaticus</i>	Fare	Karaciğer, bağırsak
<i>Helicobacter türü Mainz suşu</i>	İnsan	Diz ekleme, kan
<i>H muridarum</i>	Sıçan, fare	Bağırsak
<i>H mustelae</i>	Yaban gelinciği	Mide mukozası
<i>H nemestrinae</i>	Makak maymunu	Mide mukozası
<i>H pametensis</i>	Vahşi kuşlar, domuz	Gaita
<i>H pullorum</i>	Tavuk, insan	Bağırsak, karaciğer (tavuk), gaita (insan)
<i>H pylori</i>	İnsan, maymun, kedi	Mide mukozası
<i>Flexispira rappini</i>	Koyun, köpek, insan	Karaciğer (koyun), mide (köpek), gaita (insan)
<i>Gastrospirillum hominis</i>	Çita, insan	Mide mukozası
<i>CLO-3</i>	İnsan	Rektal sürüntü

H pylori 35°C- 37°C de mikroaerofilik (%10 CO₂, %5 O₂, %85 N₂) ve yüksek nem (% 98) içeren koşullarda üreyen bakteridir. Bakterinin üretilmesi için kan, serum, kömür, mısır unu, yumurta sarısı gibi katkı maddeleri ile hazırlanan özel besiyerlerine ihtiyaç vardır. Üç-beş günlük (7 güne uzayabilir) inkübasyonda yuvarlak, şeffaf görünümde, hafif β-hemolitik, gri koloniler oluşturur (1,18,30).

H pylori oksidaz, katalaz ve güçlü üreaz aktivitesi, nitrat redüksiyon yeteneği, sülfürlü bileşikler kullanarak H₂S oluşturabilmesi, hippuratu hidrolize edememesi, nalidiksik aside dirençli, sefalotine duyarlı olması ile laboratuvarında tanımlanabilir. *H pylori*'nin karbonhidratları oksidatif ya da fermentatif yolla kullandığı gösterilememiştir. *H pylori* non-glikolitik bir bakteridir. Mikroorganizma aminoasitleri anaerobik bakterilerde bulunan fermentatif yollara benzer şekilde metabolize etmektedir. Ayrıca *H pylori*'de Entner-Doudoroff yolunun varlığı da gösterilmiştir (1,3,18,31,32).

***H pylori* Virülans Faktörleri**

Mukozaya Kolonizasyon ve Gastrik Mukozal Bariyerin Bozulması

Flajella-Hareket: *H pylori* çok sayıda monopolar kılıflı kamçıları sayesinde son derece hareketlidir. Her kamçı yaklaşık 2.5 nm kalınlığında, 30 µm uzunluğundadır. Elektron mikroskopide kamçı ucunda ampul şeklinde bir genişleme görülmektedir. *H pylori*'nin dış membranı glikokaliks benzeri yapı ile çevrilidir. Gastrik lümen ve gastrik mukoza arasında viskoelastik bir mukus tabakası yer almaktadır. Bakterinin bu mukus tabakası içerisindeki hareketleri kamçıları sayesinde ve spiral şeklindeki yapısıyla kolaylaşmaktadır (1,13,17).

Fosfolipaz: *H pylori* fosfolipazı mukus hücrelerinin apikal membranında fosfolipitten zengin koruyucu tabakayı bozar. *H pylori* tarafından eksprese edilen fosfolipaz A2 ve C, fosfolipid tabakada değişikliklere neden olabilir. Bunların etkileri bizmut tuzları ile engellenebilir (1).

Musinaz: *H pylori*'nin musinaz enzimi çok visköz bir materyal olan musini parçalayıp bakterinin hareketini kolaylaştırır (1,33).

Katalaz ve Süperoksit dismutaz: Bakteri katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleri sayesinde polimorfonükleer hücreler ile öldürülmeye direnç gösterir. Bu enzimler yüzeyle ilişkilidir ve *H pylori*'nin nötrofiller tarafından O₂ bağımlı öldürülmesine karşı korunma için önemlidir. Bakterinin içerdiği lipaz aktivitesinin bir

virülans faktörü olabileceği ya da kandan aldığı veya membrana bağlı lipitleri kullanarak bakteri için enerji kaynağı oluşturduğu düşüncesi de bulunmaktadır (1,13).

Üreaz aktivitesi: *H pylori* büyük miktarlarda üreaz enzimi üretir. Üreaz gastrik hücrelerden sekrete edilen üreyi parçalar, amonyak ve CO₂ oluşturur. Üreaz aktivitesi bakterinin asidik ortamda yaşamasını sürdürebilmesi için gereklidir ve gastrik mukozada zedelenmeye yol açmaktadır. Üreaz aktivitesinin pH 4.5'in altında irreversibl olarak inhibe olması, üreazın bakteriyi asidik ortamdan koruma fonksiyonunun sekonder bir görev olduğunu düşündürmektedir. *H pylori* nativ üreazı yaklaşık 540 kDa'luk molekül ağırlığında, 1:1 molar oranında iki subunitten oluşan Ni içeren heksamerik bir moleküldür. (UreA: 30 kDa ve UreB: 62 kDa). Üre hidrolizi sonucu açığa çıkan amonyak asidi nötralize ederek gastrik lümende mikroorganizma için nötral bir mikroçevre yaratır. Düşük metal konsantrasyonlarında Ni⁺² transportunu sağlayan yüksek afiniteli bir Ni taşıyıcı protein (NixA), rekombinant *H pylori* üreazının aktivitesi için gereklidir (1,34). *Escherichia coli* nikel düzenleyici proteini NikR ortologu olan HP1338 proteini, nikle bağlı üreaz ekspresyon indüksiyonunu yönlendirmektedir. HP 1338 gen mutasyonlarında *H pylori* üremesinin baskılandığı ve üreazda nikelle indüklenen artışın ve üreaz enzim aktivitesinin engellendiği gösterilmiştir (35).

Heat shock protein homologları: Heat shock protein B (HspB)'nin üreaz için moleküler chaperon (refakatçi) olarak fonksiyonu bildirilmiştir. HspB'nin üst kısmında lokalize olan *H pylori* HspA geni, C terminalinde Ni bağlayan bölge içerir. HspA fonksiyonel üreaz için Ni integrasyonunda rol oynayabilir (1).

Gastrik homeostazisin değişmesi: *H pylori* reversibl olarak asidi inhibe eden somatostatin ekspresyonunu baskılar, asidi uyaran gastrin ekspresyonuna yol açar (1).

Musin tabakada persistans ve gastrik epitele adherans: *H pylori* epitelyal hücrelere tutunabilmek ve musin tabakada sülfatlanmış müsin şekerlerine bağlanmak için adhezinler oluşturur. Hemaglutinin, α 2-3 sialo-glukokonjugatlar, lektin-like özellikli siyalik asit spesifik adhezinleri sayılabilir. *H pylori* suşları ekstraselüler matriks komponentlerine de (laminin, fibronektin, çeşitli kollajenler ve heparan sülfat) bağlanır. Bakterinin ekstraselüler polisakkarit tabakasının adheransda rol oynadığı

düşünülmektedir (1). En iyi tanımlanan adezin epitelyal hücrelerin yüzeyinde bulunan bir karbonhidrat antijen olan Lewis b antijeninin tanıyan babA ve babB'dir. Bu genler dış membran proteinleri ailesi içerisinde yer alırlar. Bu proteinler sayesinde bakteri mide peristaltizmi ve ortamın asiditesine karşı korunur. Lewis b'ye bağlanmada daha etkin olduğu düşünülen babA aynı zamanda flajellindir. bab genlerinin 5' ve 3' uçları konservatif olmakla birlikte merkez kısmında en az %54 oranında değişiklikler görülür. Yapılan bir çalışmada değerlendirilen 42 örnek içerisinde merkez bölgelerindeki mutasyonlar sebebi ile 5'i babA'da (AD1-AD5) ve 3'ü de babB (BD1-BD3) geninde olmak üzere 8 allel belirlenmiştir. Bu allelik farklılığın coğrafi ve etnik bir temeli olmadığı ve Lewis antijenine bağlanmada bir farklılık yaratmadıkları bildirilmiştir (36). Ayrıca babA2+ suşların glanduler atrofi, intestinal metaplazi ve artmış epitelyal hücre proliferasyonu ve gastrik kanser riski ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir (37).

Dış enflamatuvar protein A (oip A): Dış enflamatuvar protein A'nın fonksiyonel durumu peptik ülserin indikatörü olabilir. Blanchard ve ark. (38) fonksiyonel oipA durumunun doudenal ülser ve gastrik kanser ile ilişkisini göstermişlerdir. OipA ile kodlanan virülans ile ilişkili dış mebran proteinin inaktivasyonu in vitro IL-8 üretimini azalttığı ve oipA durumunun yüksek kolonizasyon sayılarının ise artmış IL-8 düzeyleri, şiddetli gastrit ve duodenal ülser için güçlü bir risk oluşturduğunu bildirmişlerdir (39).

H pylori'nin intraselüler penetransı: *H pylori*'nin intraselüler geniş sitoplazmik vakuollerde bulunduğu saptanmıştır. İntravakuoler bakterinin kaybolmasına paralel olarak tekrar ekstraselüler ortamda saptanması intravakuoler bir kaynaktan salındığını göstermektedir. Bu durum da enfeksiyonun eradikasyonundaki zorlukları açıklayabilmektedir (33).

Reaktif oksijen metabolitleri: *H pylori* in vivo olarak gastrik mukozada reaktif oksijen metabolitlerinin sentezine neden olur. *H pylori*'nin enfektif gücü ve gastrik mukozal yaralanmanın boyutu ile reaktif oksijen metabolitlerin bulunma miktarı arasında doğru orantı vardır. *H pylori* negatif bireylerde reaktif oksijen metaboliti üretimi *H pylori* pozitif bireylerden daha düşüktür. Gastrik karsinoma gelişiminde etkili olduğu düşünülen serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu DNA hasarı için bir

markır olan 9-hidroksideoksiganosin düzeyi *H pylori* ile enfekte kişilerde daha yüksektir. Yapılan çalışmalarda cagA pozitif suşlarla enfeksiyon durumunda daha yüksek düzeylerde reaktif oksijen türevleri saptanmıştır. Oksidatif DNA hasarının da gastrik karsinogeneze neden olabileceği düşünülmektedir. Askorbik asit ve lansoprazol gibi pek çok antiülser ilacın gastrik mukozada reaktif oksijen metabolitlerini temizlediğine dair kanıtlar vardır (1,33).

İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS): iNOS ekspresyonu ve aktivitesi yüksek miktarda nitrik oksit sentezi ile sonuçlanır. Bu da doku hasarı ve immün aktivasyona yol açan *H pylori* in vivo ve in vitro makrofajlardan iNOS oluşumuna neden olur. *H pylori*'nin eradikasyonu gastrik epitel hücrelerinde iNOS'u azaltır. Birçok in vitro çalışma, epitelyal hücrelerdeki *H pylori*'ye yanıt olarak indüklenebilen iNOS ekspresyonu yolu ile NO üretim indüksiyonunu ve NF-kB aktivasyonu ile yönlenen epitelyal hücre apoptozisi ile korelasyonu göstermiştir. Yapılan çalışmalarda *H pylori*'nin rocF geni ile kodlanan arginaz taşıdığı, bunun da konak hücrelerde NO üretimini inhibe edebildiği gösterilmiştir. *H pylori* arginaz ökaryotik NO üretimini azaltarak bakterinin immün yanıtta kaçışına neden olur. Üreaz defektif mutantlarla yapılan çalışmalarda sokak suşları veya vac A, cagA, picB defektif mutantlarla karşılaştırılınca, iNOS mRNA, protein ve NO₂ üretiminin önemli düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgular *H pylori*'nin sahip olduğu üreazın NO-bağımlı mukozal hasar ve karsinogenezdeki yeni bir etkisini ortaya koymaktadır (1,33).

Apoptozis: Apoptozis ve hücre proliferasyonu arasındaki kronik dengesizlik gastrik karsinogenezin ilk basamağıdır. *H pylori*'nin gastrik epitelyum hücresinde programlanmış hücre ölümüne neden olduğu ve gastrik mukozada DNA hasarını stimüle ettiği bildirilmiştir. Gastrik epitelyum hücrelerindeki apoptozisin Fas reseptör aracılığı ile indüklendiği gösterilmiştir. Apoptozis modülasyonunda IL-8, IL-1 beta ve IL-10 rol alır (40). vacA'nın mitokondriyal hasar yoluyla hücre ölümüne neden olduğu cagA'nın ise p53 bağımlı apoptozisi bozma yoluyla MALT lenfoma gelişmesinde rolü olduğu düşünülmektedir (1,33).

Gastrik Enflamasyonun İndüksiyonu

IL-8: IL-8 nötrofilleri aktive eden potent enflamatuvar bir mediyatördür. *H pylori* suşlarının invitro gastrik karsinoma hücrelerinden IL-8 sekresyonuna neden olduğu gösterilmiştir. *cagE* ve *picB* geninin gastrik epitelyum hücrelerinden IL-8 üretimine neden olduğu bilinmektedir (1).

Nötrofil adherensi: HP-NAP olarak bilinen protein nötrofil adherensini ve nötrofil CD11/CD18'in ekspresyonunu artırır (1).

Trombosit aktive edici faktör(PAF): PAF potent ülserojenik ajan olan bir fosfolipid mediyatörüdür. Spesifik parietal hücre reseptörleri aracılığı ile gastrik asit sekresyonunu uyarır. Lyso-PAF sağlıklı kişilerde gastrine yanıt olarak gastrik mukozal hücrelerce üretilir. *H pylori* nonülserojenik prekürsör Lyso-PAF'ı PAF'a metabolize eder. Böylece PAF sentezi ile *H pylori* asit sekresyonunu artırarak mukozal hasar yapabilir (1).

Hücre duvarı ve lipopolisakkarit: *H pylori* tipik gram negatif hücre duvarı yapısına sahiptir. *H pylori*'nin lipopolisakkariti (LPS) düşük biyolojik aktivite gösterir. *H pylori* LPS'inde lipit A bulunmaz. Yağ asitlerinde 6 olan zincir sayısı 4'e düşmüş, buna karşılık zincirdeki karbon sayısı artmış ve zincir uzamıştır. Böylece bakteri endotoksin aktivitesini yitirir. Bu enfeksiyonun kronikleşmesini açıklamakta kullanılabilecek bir mekanizma olarak görülmektedir. LPS bakteriyi konağın kendisi gibi algılamasına neden olarak, bakterinin konağın immün yanıtlarından kaçmasını sağlar. *H pylori* LPS'inin O zinciri yapı olarak Lewis kan grubu antijenlerini taklit etmektedir. Bazı *H pylori* suşlarındaki LPS'in O antijenindeki karbonhidratlar insanlardaki mide epitelyum hücrelerinin yüzeyinde bulunan Lewis x ve y (Lex, Ley) antijenlerine benzerlik gösterirler. Bu immün benzerlik konağın elektif immün yanıtını engeller ve mide ortamında yaşamasını sağlar. Eğer konak Lewis antijenleri LPS molekülünü yabancı olarak tanıyıp yanıt veriyorsa, antikolar mide konak hücreleri ile çapraz reaksiyona girecektir. Semptomatik hastaların sıklıkla mide mukoza dokusu üzerindeki antijenlere karşı antikoları olmasını bu durum açıklar. Çapraz reaksiyona neden olan antikolar kompleman aktivasyonu ve fagositik hücre stimülasyonu ile enflamasyona katkıda bulunarak gastrik epitelyum hücrelerinde hasarı artırır

(1,16,33,41,42). *H pylori* izolatlarının identifikasyonu ve tiplendirilmesinde, bakterinin LPS O spesifik yan zincirine veya Lewis antijenlerine karşı elde edilen spesifik antikorlar da kullanılmaktadır. Ancak özellikle Lewis antijenleri konservatif antijenler oldukları için genetik yapıdaki küçük ancak önemli mutasyonları tesbitte yetersiz kalmış, klinik izolatların yaklaşık olarak %15'i de bu yöntemlerle tiplendirilememiştir. Fenotipik özelliklere göre tiplendirme için yeni yöntemler denenmektedir. Örneğin LPS'in spesifik O yan zincirindeki karbonhidratlara bağlanan lektin bazlı tiplendirme ile 16 farklı ülkeden toplanan 309 suş ile yapılan bir çalışmada 10 farklı lektin tipi belirlenmiştir (43).

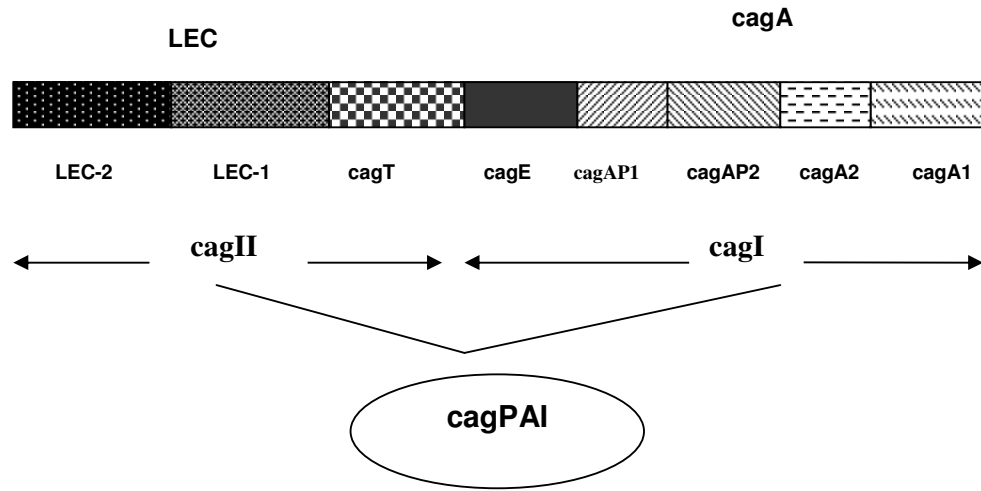
Üreaz: Üreaz enzimi insan mononükleer fagositlerini aktive ederek enflamatuvar sitokin üretimini stimüle eder (1).

Sitotoksinle ilişkili gen patojenite adası (cagPAI): Bilinmeyen bir bakteriden aktarıldığı düşünülen ve glutamat rasemaz geni içerisinde yer alan bu gen adası suşlar arasında horizontal olarak aktarılmaktadır. 40 Kb büyüklüğünde olan bu bölgenin genleri ya aralıksız olarak, ya da araya giren insersiyon segment IS605 ile ayrılmış sağ cagPAI-I ve sol cagPAI-II olarak tanımlanan iki alt üniteden oluşur. Sırası ile 14 ve 16 ORF'den (open reading frame) oluşan bir gen bölgesidir. *H pylori* kromozomal DNA'sından farklı bir kompozisyona sahip olduğu bildirilmiştir. Bu gen adası virülansla ilgili tip IV sekresyon sisteminde rol alan proteinleri kodlar (33-36). cagPAI bölgesi bulunan *H pylori* suşlarının konak hücrede sinyal aktarım yollarını aktive ettiği düşünülmektedir. Bunun sonucunda bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa B'nin (NF-kB) indüksiyonu ile proenflamatuvar sitokinlerden IL-8'in sekresyonu artmaktadır (7-10).

cagPAI taşıyan suşlar tip I, cagPAI taşımayan suşlar ise tip II suşlar olarak tanımlanırlar. Tip I suşlar ülser ve gastrik karsinomalar gibi ciddi klinik tablolarla ilişkilendirilmişlerdir. Tip II suşlar ise nonülser dispepsi gibi benign gastrointestinal rahatsızlığı olan hastalardan izole edilmiştir (3,7). Peptik ülser, mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfomaları ve mide adenokarsinomları ile ilişkili *H pylori* suşlarının cagPAI içerdiği belirtilmektedir (7,33,44).

Tip I suşlarında cagA olarak tanımlanan 120-140 kDa molekül ağırlığında immünojenik aktiviteye sahip olan sitotoksik bir dış membran proteini kodlanır. cagA

pozitif *H pylori* ile enfeksiyonun atrofik gastrit, peptik ülser, gastrik kanser ve MALT lenfoma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Etnik bölgesel ve klinik farklılıklar göstermekle beraber *H pylori* suşları %50-90'ı *cagA* üretir. Avrupa'da %60-70, doğu Asya'da %90 *cagA* pozitifliği bildirilmiştir (45,46). *cagA* gen ürünü *cagA* gastrik epitelyum hücreleri içine tip IV sekresyon sistemi ile girer. *cagA* proteini tirozin fosforilasyonu sayesinde Src ailesinden bir protein kinaz ile bağlanarak fosforile olur. Bu kompleks ökaryotik hücrelerde bir dizi sinyal iletim yolunu aktive eder ve IL-8 sekresyonuna neden olur (3,4,8,47,). *cagA* ökaryotik fosfatazi (SHP-2) aktive ederek hücresel morfolojik değişikliklere ve proteinlerin defosforilasyonlarına yol açar. Doğu Asya *cag A* sekansları SHP-2 ye daha kuvvetle bağlanır ve daha fazla morfolojik değişikliklere ve gastrik kanserlere yol açar. Batı Asya *cagA* sekansları ise ülseratif lezyonlarla ilişkilidir (48).



Şekil-1: *cagPAI* gen kompleksinin şematik yapısı

cagPAI-II subünitinin 3' ucunda yer alan ve tip IV sekresyon sisteminin en önemli componenti olan *cagE* geni virülans faktörlerinin hücre membranından salgılanmasını sağlayan 101 kDa'luk bir polipeptidi kodlar (7). *cagA* geninin patojenik suşların bir markırı olduğu kabul edilmekle birlikte birkaç çalışma *cagA* geninin *cagPAI* ile ilişkili virülansta uygun markır olmadığını göstermektedir. İntakt *cagPAI* olan *H pylori* suşlarının gastrik epitelyumdan IL-8 sekresyonunu indüklediği, *cagE* gen delesyonu ile IL-8 üretiminin azaldığı fakat *cagA* gen delesyonunda bu

azalmanın olmadığı saptanmıştır. *cagA* varlığı her zaman intakt *cagPAI*'ni göstermemektedir. *cagPAI* ile ilişkili virülansta *cagA*'dan başka markırlarında olduğu bildirilmektedir. Japonyada 204 *H pylori* suşunda yapılan çalışmada intakt *cagPAI* göstergesi olarak *cagE*'nin *cagA*'ya göre daha uygun bir markır olduğu bildirilmiştir (4).

cagPAI pozitif *H pylori* suşları, *H pylori* ile ilişkili neoplazi gelişiminde can alıcı adım olan gastrik epitelyum hücrelerinden proto-onkogen *c-fos* ve *c-jun* salınımına yol açar. İntakt *cagPAI* güçlü proenflamasyona katkıda bulunur. İntakt *cagPAI*'nin virülans markırı olduğu ve çeşitli ürünlerinin ortaya çıkışı ile hastalığın daha ağır seyretmesini sağladığı gösterilmiştir. Bununla birlikte gastroduodenal hastalıkların progresyonunda adayı oluşturan genlerin intakt oluşu veya yeniden düzenlenmesi ile ilişkisi tartışmalıdır (5,11). Aşağıda bu konuda yapılan birkaç çalışmanın sonuçları yer almaktadır.

Nishiya ve ark.'nın (49) yaptıkları çalışmada *cagA* ve *cagE* ile gastrik kanser arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Mattar ve ark. (44) Brezilyalı peptik ülser hastalarında yaptıkları çalışmada *cagPAI* genlerinin (*cagA*, *cagA* promoter bölge, *cagE*, *cagT*, *cagM* ve LEC bölgelerinin) varlığı kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve anlamlı olarak yüksek saptandığı bildirilmiştir ($p<0.01$).

Tiwari ve ark. (6) 55 duodenal ülser (DÜ), 25 gastrik ülser (GÜ) ve 40 nonülser dispepsi (NÜD) hastasının tükürük salgılarında *H pylori cagPAI* genleri ile hastalıklar arası ilişkiyi araştırmışlardır. Sekiz primer çifti kullanarak *cagA*, *cagA* promoter bölge ve *cagE*'den oluşan *cag I* ile *cagT* ve LEC bölgelerini içeren *cag II* bölgeleri PCR ile analiz edilmiştir. Ülser ve nonülser hastalarında her iki grup gen bölgeleri hemen hemen eşit prevalansda saptanmıştır. Farkın büyük payını da *cagE* ve *cagT*'nin ülser grubunda sırasıyla %92 ve %96.2, NÜD grubunda %77.5 ve %85 olarak oluşturduğu saptanmıştır. *cagPAI* 'nin varlığını doğrulamada *cagE* ve *cagT*'nin *cagA*'ya göre daha güvenilir markırlar olduğu gösterilmiştir. Çalışmada vakaların %87.5'inde *cagE* ve %92.5'inde *cagT* saptanmıştır. Klinik durum açısından karşılaştırıldığında ülser vakalarının %92.5'inde, NÜD vakalarının ise %77.5'inde *cagE* bulunmuştur. Bunun aksine ülser ve NÜD vakalarında *cagT* dağılım yüzdesi karşılaştırıldığında vakaların

hemen hemen tamamında (111/120, %92.5) *cagT*'nin olduğu görülmüştür. *CagT*'nin klinik sonucu belirleyen majör gen bölgesi olabileceği bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçları tablo 3'de sunulmaktadır.

Tablo 3: Twari ve ark.'nın (6) saptadığı *H pylori* *cagPAI* genleri ile klinik sonuçları arasındaki ilişki

Klinik durum	cagA				cagE	cagT	LEC-1	LEC-2
	cagA1	cagA2	cagAP1	cagAP2				
Ülser (n:80)	19 (%23,35)	12 (%15)	15 (18,75)	12 (%15)	74 (%92,55)	77 (%96,2)	38 (%47,5)	28 (%35)
NÜD (n:40)	04 (%10)	02 (%5)	01 (%2,5)	02 (%5)	31 (77,5)	34 (%85)	14 (%35)	10 (%25)
Toplam (n:120)	66 (%55)				105 (%87,5)	111 (%92,55)	52 (%43,3)	38 (%31,6)

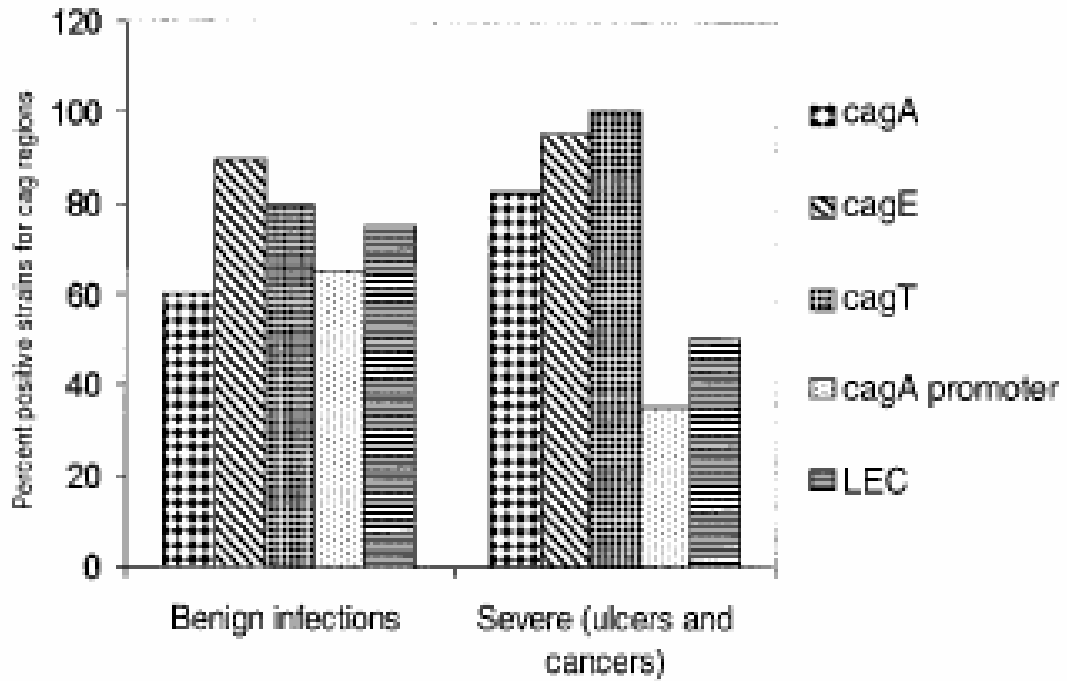
NÜD: Nonülser dispepsi

Ali ve ark. (50) yaptıkları çalışmada duodenal ülser, gastrik ülser, gastrik kanser ve nonülser dispepsili 174 *H pylori* izolatında *cagA1*, *cagA2*, *cagAP1*, *cagAP2*, *cagE*, *cagT*, LEC1 ve LEC2 primerleri kullanılarak klinik gruplardaki gen dağılımlarını araştırmışlardır. Komplet *cagPAI*, gastrik ülser grubunun %97.8, gastrik kanser grubunun %85.7, nonülser dispepsi hastalarının %7.2'sinde ve duodenal ülser grubunun %6.9'unda olduğu gösterilmiştir. Klinik gruplardaki gen dağılımlarının önemli farklılıklar gösterdiği ve intakt *cagPAI* ile şiddetli gastrointestinal patoloji gelişimi arasında korelasyon saptandığı bildirilmiştir. Düşük patojenik yeteneği olan mikroorganizmalarda *cagPAI*'nda parsiyel delesyon gösterilmiştir.

Kauser ve ark. (5) sekiz farklı coğrafik bölgeden 335 *H pylori* izolatının *cagPAI* içindeki genetik yeniden yapılanmalar araştırmışlardır. Doğu Asya ve diğer bölgelerin suşları *cagPAI* bütünlüğü açısından karşılaştırılmıştır. Japon izolatlarında (%57.1) yüksek oranda *cagPAI* intakt olarak saptanmıştır. Bununla birlikte Peru'da yalnız %18.6 ve Hindistan'da %12 oranında *cagPAI* intakt olarak saptanırken, Avrupa ve Afrika suşlarında minimal *cagPAI* bütünlüğü saptanmıştır. Kosta Rika'dan 10 suşun tamamında da ise *cagPAI* bütünlüğü saptanamamıştır. Tüm dünyadaki suşların %72.8'inde *cagA* geni saptanırken, %82'sinde *cagT* ve *cagE* genleri bulunmuştur.

Bu da intakt *cagPAI* için *cagA* geninin varlığının tek başına belirleyici olamayacağını göstermektedir. Benign olgularda *cagA*, *cagE*, *cagT* delesyon sıklığı gastrik kanser ve şiddetli ülserli hastaların izolatlarından daha yüksek olarak bulunmuştur. Aksine şiddetli patolojisi olanlarda *cagA* promoter ve *cagPAI*'nin sol uç bölgesinin delesyonu veya yeniden düzenlenmesi daha sık olarak saptanmıştır. Japonyada gastrik ülserlerin şiddetinin artışı ve gastrik kanserlerin artışı bildiren çalışmalarla uyumlu şekilde intakt *cagPAI* en çok Japon suşlarında gösterilmiştir. Çalışmanın sonuçları tablo 4 ve 5'te sunulmaktadır.

Tablo 4: Kanser ve ark (5) saptadığı sekiz farklı bölgede *cagPAI* genlerinin klinik sonuçlarla ilişkisi.



Tablo 5: Kauser ve ark (5) saptadığı sekiz farklı coğrafik bölgeden 335 *H pylori* izolatında cagPAI'nın bütünlüğü. Malign hastalığı olan hastaların %100'ünde, benign hastalığı olan hastaların %80'inde cagT geni mevcuttu.

Bölge (n)	LEC-1	LEC-2	cagT	cagE	cagAP1	cagAP2	cagA2	cagA1	cagPAI intakt suş (%)
Japonya(28)	25	22	25	28	28	27	27	26	16 (%57,1)
Hindistan(63)	36	29	49	51	26	15	44	31	8 (%12,0)
Peru (43)	41	28	37	41	27	21	41	29	8 (%18,6)
İspanya (30)	23	19	20	30	26	10	27	21	4 (%13,3)
İngiltere (66)	50	41	55	47	40	32	41	35	2 (%3,03)
İrlanda (76)	71	50	62	52	62	32	74	52	12 (%15,8)
Afrika (19)	14	14	18	18	17	15	19	8	2 (%11,1)
Kosta Rika(10)	2	3	9	8	3	1	8	5	0 (%0)

Salih ve ark (11) 21 gastrit ve 14 peptik ülser hastasında *H pylori* cagPAI bütünlüğünü araştırmışlar, sadece birkaç suшта intakt cagPAI saptamışlardır. cagA geni varlığı ise gastritle ilişkili suşlarda %57.1, peptik ülserle ilişkili suşlarda ise %92.9 olarak bulunmuştur. cagA ve cagA promoter bölge peptik ülser hastalarında daha fazla saptanmıştır. İntakt cagPAI cagE ve cagT genlerindeki delesyon gösteren suşlar gastrit ve ülser hastalarında benzer oranda saptanmıştır.

Vakuolizasyon toksini (vacA): vacA geni *H pylori*'nin major virülans faktörlerinden birisi olan ve ökaryotik hücrelerde vakuolizasyona neden olan 87 kDa ağırlığında vacA proteinini kodlar. vacA'nın gastroduodenal hastalıkların patogeneğinde önemli role sahip olduğu bildirilmektedir. *H pylori* izolatlarının yaklaşık %50-60'ında vacA salgılandığı ve epitelyum hücrelerinde vakuolizasyona yol açtığı gösterilmiştir. İn-vitro koşullarda *H pylori* kültür ekstreleri uygulanan epitelyal hücre kültürlerinde vakuoler dejenerasyon ve sonucunda hücre ölümü gelişmektedir. Daha virulan özellikteki tip-I izolatlar cagA ve vacA eksprese etmektedir (33,51,52).

vacA'nın vakuolizasyondan başka epitelyum hücrelerinde apoptozise yol açtığı bildirilmiştir. vacA ile indüklenen apoptozisin vacA NH₂ ucundaki motiflere bağlı

olduğunu ve apoptozis düzeylerindeki farklılıkların *vacA* yapısındaki suşa bağlı varyasyonlara neden olabileceği bildirilmektedir (53).

vacA gen yapısında bir işaret dizisi -s- ve birde yüksek toksisite ile ilişkili proteinin kodlandığı orta bölgesi -m- bulunmaktadır. *vacA* geninin 4 farklı s (*s1a*, *s1b*, *s1c* ve *s2*) işaret dizisi ile 3 farklı m (*m1*, *m2a* ve *m2b*) bölge dizisi allelinin bulunduğu gösterilmiştir. İn-vitro yapılan çalışmalarda *s1* genotiplerinin özellikle *s1/m1* kombinasyonunun *s2* genotiplerine göre daha fazla toksin ürettikleri gösterilmiştir. *cagA/vacA* birlikteliği de sadece *s1* allele sahip suşlarda görülmüştür. Avrupa kökenli suşların çoğunda *s1a*, güney Afrika kökenli suşlarda *s1b* kombinasyonları saptanırken Asya kökenli suşların %80'inden fazlasında *s1c* allelinin hakim olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda *vacAs1/m1-cagA* pozitif suşlar peptik ülser ve gastrik adenokarsinoma ile ilişkili suşlarda daha yüksek prevalansda saptanmıştır. *s2/m2* allelleri non-toksijenik suşlarda, *s1/m2* kombinasyonu ise nisbeten düşük toksisite ile iyi huylu hastalıklarla ilişkili bulunmuştur. *m2* allele sahip suşların MALT lenfomalı hastalarda predominant alt tip olduğu ileri sürülmüştür. Asya kökenli suşlar arasında ise *s1c* ve *m1* allelinin duodenal ülserle ilişkili suşlarda daha yüksek prevalansda bulunduğu gösterilmiştir (3).

Özellikle *cagA*, *vacAs1* ve *babA2* pozitif suşlar gastroduodenal ülser ve gastrik kanser riskini arttırmaktadır. *babA2* pozitifliği ile *cagA*, *vacAs1/m1* ve *OipA* varlığı arasında güçlü bir ilişki vardır. *cagA* negatif suşların %90'ından fazlasının *babA2*⁻, *vacAs2/m2* ve *oipA* "off" genotipi özelliğindedirler. *cagA* negatif, *vacAs2* *m2* ve *babA2* negatif olanlarda gastrik mukozada değişiklik ve intestinal metaplazi oranı %10'un altındadır (54,55).

cagA-pozitif, *vacA* *s1* genotip ile peptik ülser ve gastrik kanserin ilişkisi batı ülkelerinde rapor edilmiştir, fakat doğu Asya ülkelerinde raporlanmamıştır. Batı ülkelerindeki suşlar predominant olarak *cagA* type 2a, *vacA* *s1a* veya *s1b/m1a*, veya *vacA* *m2a* genotipleri içerir, oysa doğu Asya suşları *cagA* type 1a, *vacA* *s1c/m1b* ve *vacA* *m2b* genotipleri içerir (18). Sarıbaşak ve ark. (56) Türkiye suşlarının bu genotipleri içerip içermediği ve hastalığın sonuçları ile bağlantısını araştırmışlardır. Yirmiiki gastrit, 33 peptik ülser ve 10 gastrik kanserli olmak üzere 65 *H pylori* pozitif hastada *cagA* gen mevcudiyeti (%78) belirgin olarak peptik ülser ($p < 0.00001$), gastrik

kanser ($p < 0.001$), ve *vacA* s1a genotip ile ($p < 0.0001$) ilişkili, multipl *vacA* genotipi peptik ülser ve gastrik kanser hastalarında gastritli hastalardakinden daha fazla bulunmuştur. *cagA* geninin restriction fragment length polymorphism analizi klinik gidişle ilişkili olmayan üç farklı patern ortaya çıkarmış. İncelenen Türk suşları batı ülkeleri için tipik genotipik suşlar olan *cagA* type 2a, *vacA* s1a/m1a veya *vacA* m2a genotipleri saptanmıştır. Bu durum Doğu Asya ülkelerine kıyasla Türkiye’de ciddi gastroduodenal hastalık prevalansının düşük oluş nedenlerinden biri olabilir.

Epitele temas ile indüklenen gen (iceA): *vacA* ve *cagPAI* pozitif *H pylori* suşları ile enfekte birçok olguda peptik ülser gelişmediği, bazı olgularda ise bu virülans belirleyicilerine sahip olmayan suşlarda şiddetli gastroduodenal lezyonlar gelişmektedir. Yapılan çalışmalarda peptik ülserli hastalardan izole edilen suşlarda insan gastrik hücrelerine temasla indüklenen bir adenin varlığı gösterilmiştir. Bu gen epitele temasla indüklendiği için *iceA* olarak adlandırılmıştır. *iceA*’nın *iceA1* ve *iceA2* olmak üzere iki varyantının olduğu ve sadece *iceA1*’in epitele temasla indüklenebildiği ve peptik ülser ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (33,57).

Diğer gen bölgeleri: Gastrik karsinomali hastalardan izole edilen suşlarda esnek bölge (plasticity region) olarak tanımlanan yeni bir ORF bölgesi gösterilmiştir. Bu bölgelerde kanser oluşumu ile ilişkili olduğu düşünülen genler JHP940 ve JHP947 ile gastritle ilişkili olduğu düşünülen HP986 geni yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda özellikle JHP947 geninin *cagA* ve *vacA* ile birlikteliğinin önemli bir virülans faktörü olabileceği ileri sürülmektedir (3).

***H pylori*’ye immün yanıt:** *H pylori* konakta varlığını sürdürebilmek, konak immün yanıtından kaçabilmek için birçok virülans faktörü ve mekanizma kullanır. Lipopolisakkarit ve immün benzerlik, nitrikoksit-oksidoradikaller, oksidatif hasar ve apoptozis yukarıda anlatılmıştır. Diğer mekanizmalar ise şu şekilde özetlenebilir.

T lenfositler ve sitokinler: *H pylori*’ye karşı oluşan konak reaksiyonunda hemen tüm sitokinlerin yapımı artmıştır. Mononükleer hücre infiltrasyonunun büyük bölümünü T lenfositleri oluştururlar. Bunlarında çoğu T helper lenfositlerdir (23). *vacA*’nın T lenfosit fonksiyonlarını etkilediği gösterilmiştir. *H pylori*’nin hücre iç membran ve vesikül trafiği üzerinde büyümenin durması, toksisite ve IL-8 üretimi gibi

mekanizmalarla ölçülebilir etkisi vardır. IL-6'nın *H pylori* enfeksiyonu patofizyolojisi üzerine önemli etkileri vardır. Yapılan çalışmalar NF-kB aktivasyon sinyali yolu ile IL-6 üretimi indüksiyonu için HSP-60'ında önemli rolü olduğunu göstermektedir (33).

Toll-like reseptörler: Patojen ile ilişkili immün moleküllerin doğal immün tanınmasında yer alan hücre yüzey molekülleridir. *H pylori*'nin TLR2 ve TLR5'e bağlanarak NF-kB aktivasyonunu indüklediğini gösteren çalışmaların yanısıra TLR4'ünde *H pylori*'ye enflamatuvar yanıtta yer aldığını gösteren çalışmalar vardır (33).

Epitelyal etkiler: Matriks metalloproteinaz-7 (MMP-7) normal ve patolojik epitel-matriks ilişkilerinde önemlidir ve gastrik kanserde artar. *H pylori* MMP-7 ekspresyonunu artırır. Bu artış cagPAI'na bağlıdır (33).

***H pylori* ile İlişkili Hastalıklar**

H pylori enfeksiyonu birçok değişik tip gastrointestinal hastalığa yol açar. Klinik açıdan *H pylori*'nin yol açtığı klinik formlar:

Akut enfeksiyon: Doğal gönüllülerde oluşturulan veya rastlantısal *H pylori* enfeksiyonlarından sonra akut üst gastrointestinal sistem hastalığı beraberinde bulantı ve karın ağrısı görülür. Kusma ve ateş de olabilir. Semptomlar 3-14 gün sürer. Özellikle çocuklarda diyare de görülebilir. Enfeksiyonu takip eden günlerde şiddetli gastrit gelişir. Hipoklorhidri oluşur ve 1 yıl kadar sürebilir. *H pylori* üzerinde çalışmalarını yoğunlaştıran Marshall BJ gönüllü bulamayınca biyopsi ile gastrik epitel hücrelerinin normal olduğu gözlemlendikten sonra, 10⁹ mikroorganizma içeren *H pylori* kültürünü kendisi içmiştir. Bir hafta sonra gastrit semptomları gelişen Marshall'ın 10 gün sonra yapılan biyopsi örneğinde, mukus altında yerleşmiş polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve çok sayıda *H pylori* saptanmıştır. Ondört gün sonra hastalık kendiliğinden düzelmiştir. Marshall böylece epidemik gastrit ile *H pylori* arasındaki ilişkiyi ispat etmiştir (23,58).

Kronik enfeksiyon: Akut enfeksiyondan sonra *H pylori* enfeksiyonu birçok insanda yıllarca sürmektedir. Enfekte kişilerde gastrik enflamasyon (kronik diffüz

süperfisyal gastrit) ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonunun olduğu yani kronik aktif gastrit oluşturduğu gösterilmiştir. Kronik süperfisyal gastrit asemptomatik olarak sürmektedir (19,23,58).

Peptik ülser: Doudenal ülser hastalarının %90'ından fazlasında gastrik ülser hastalarının ise %77 (%50-80)'inde *H pylori* pozitifdir. *H pylori* duodenumda metaplastik adacıklar halinde bulunan gastrik tip epitelyumda kolonize olur (gastrik metaplazi). Aktif duodenitte gastrik metaplazi ile *H pylori* enfeksiyonu arasında sıkı ilişki vardır ve bu ülser için prekürsör bir lezyondur. *H pylori*'nin hipergastrinemi ve hiperasiditeye neden olduğu ve hiperasiditeninde duodenumda gastrik metaplazi ve *H pylori* enfeksiyonuna yol açtığı, tüm bunların sonucunda da duodenumda enflamasyon ve ülser geliştiği bilinmektedir. Duodenal ülseri olanlarda tek başına antimikrobiyal tedavi ile iyileşebiliyor olması ve benzer şekilde antiasit tedavilere antimikrobiyal tedavinin eklenmesi ile ülser iyileşmesinin hızlanması, ülser rekürrens oranlarının *H pylori* eradikasyon tedavisi olanlarda anlamlı oranda düşük olması duodenal ülser gelişiminde *H pylori*'nin rolünü güçlendirmektedir. Mide ülserlerinde *H pylori* oranının daha az olması *H pylori*'nin gastrik ülsere daha az neden olduğu anlamına gelmez. Mide ülserlerinin NSAİİ veya aspirin kullanımından daha yüksek oranda kaynaklanabilmesi nedeniyledir. Yine mide ülser tedavisinde antimikrobiyal ajanların kullanılması duodenal ülserlere benzer sonuçlar vermekte, bu da mide ülseri gelişiminde de *H pylori*'nin rolünü göstermektedir (23,58,59).

Gastrik kanser: *H pylori* ile gastrik karsinogenez arasındaki ilişki retrospektif ve prospektif çalışmalarla ortaya konmuş ve 1994 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün bir dalı olan Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından *H pylori*'nin insanlarda karsinogen olduğu bildirilmiştir. *H pylori*'nin gastrik karsinogenezde muhtemel rolü; *H pylori*'ye bağlı gelişen kronik gastritis sonucu gastrik epitelde serbest oksijen radikalleri artmakta ve mukozal antioksidan defans sistemi azalmaktadır. Oluşan serbest oksijen radikalleri DNA hasarına neden olmaktadır. *H pylori*'nin aynı zamanda gastrik epitelyumyal hücre proliferasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. *H pylori* yanı sıra kişinin genetik yatkınlığı, diyet, çevresel faktörler ve immünolojik durum metaplazi oluşumunda önemli rol oynar (60).

Mide lenfoması: Kronik *H pylori* enfeksiyonunun gastrik non-Hodgkin lenfomaların ve gastrik mukozada gelişen lenfoid doku lenfomasının (MALT)

gelişiminde rol aldığı saptanmış ve MALT lenfomalı hastalarda *H pylori* eradikasyonu ile tümörün gerilediği bildirilmiştir. Retrospektif biyopsi çalışmalarında MALT lenfomasının %90 *H pylori* ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (23,20).

***H pylori* nin gastrointestinal sistem dışı hastalıklar ile ilişkisi:** iskemik kalp hastalıkları, açıklanamayan demir eksikliği anemisi, ITP ve migren ile ilişkisi bildirilmiştir. Bu hastalıklar dışında başka olgu sunumları da olmakla birlikte *H pylori*'nin diğer hastalıklarla ilişkisi tartışmalıdır (14,61).

***H pylori* Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri**

H pylori enfeksiyonlarının doğru ve hızlı tanısı, tedaviye erken başlanması ve eradikasyon tedavisinde başarının takibi için önemlidir. Tanıda non-invaziv ve invaziv testler olarak iki başlık altında toplanan çok sayıda yöntem kullanılmaktadır.

Non İnvaziv Yöntemler: Bu testler içerisinde serolojik testler, Üre Nefes Testi (UBT), gaitada antijen arayan testler ve PCR bazlı testler yer almaktadır.

Serolojik testler: Serolojik yöntemler özellikle epidemiyolojik çalışmalarda yararlıdır. ELISA sık kullanılan bir yöntemdir. *H pylori* enfeksiyonu sistemik ve lokal antikor yanıtına neden olur. Özgül IgM antikorları kısa süreli olarak yükselir, IgG ve IgA enfeksiyon süresince artar ve tedavi edilmedikçe yüksek kalır. Tedaviyi izleyen aylarda eradikasyon sağlandıysa IgG ve IgA düzeyleri düşer. Ig G düzeyi hiçbir zaman negatifleşmez. Tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde, tedavi öncesi ve tedavi bitiminden itibaren 3-6 ay sonra olacak şekilde iki titrasyonun karşılaştırılması gerekmektedir. Virülans genlerini saptamaya yönelik serolojik kitler de geliştirilmiştir. Western Blot, immünoblotlama bakterinin çeşitli bölümlerine karşı oluşan humoral bağışıklık yanıtını saptamada kullanılan oldukça duyarlı ve özgül bir yöntemdir (1,3,19,62).

Üre nefes testi: Oral yoldan C¹³ veya C¹⁴ (radyoaktif karbon) işaretli üre alınımını takiben 20-30 dakika sonra solunan hava örneklerini toplanarak spektrometrik olarak veya sintillasyon cihazlarında sayılmaktadır. İşaretli üre *H pylori* ile enfekte kişilerde bakterinin üreaz enzimi tarafından parçalanır ve oluşan CO₂

solunum havasında tespit edilir. Duyarlılığı ve özgüllüğü çok yüksek bir tanısal test olmakla birlikte yalancı negatif sonuçlardan kaçınmak için antibiyotik tedavisi, bizmut tuzları ve PPI tedavisi sırasında uygulanmamalıdır. Eradikasyon tedavisi izlemi amacıyla tedavinin bitiminden bir ay sonra uygulanmalıdır (1,19,62).

Dışkı örnekleri kullanılan tanı yöntemleri

Dışkı kültürü: İnsan dışkısı yüksek oranda safra asitleri içerir. Safraya duyarlı bir bakteri olması nedeniyle *H pylori*'nin dışkıdan izolasyonu çok güçtür. Bağırsak normal florası, bağırsaktan geçiş zamanı ve dışkının içeriği gibi çeşitli faktörler de önemlidir. Pasajın çok hızlı olduğu diyareli olgularda dışkıda *H pylori* üretilebilmiştir (19,62).

Dışkı antijen testleri: Ticari olarak hazırlanmış poliklonal ve monoklonal antikor testleri bulunmaktadır. Poliklonal testlerin özgüllüğü oldukça yüksek iken duyarlılığı değişkendir. Monoklonal testler ise yüksek duyarlılık ve özgüllük gösterir (19).

Dışkı PCR reaksiyonu: Dışkı PCR inhibitörleri yönünden çok zengindir. Bu nedenle uygulanacak DNA ekstraksiyon yöntemi ve inhibitör uzaklaştırılması dışkıda çok önemlidir (19).

Tükrük ve idrar testleri ile *H pylori* antikorlarını saptama: *H pylori* spesifik IgG antikorlarını saptamak için kullanılan tükrük testi diğer serolojik testlere göre daha az duyarlıdır. İdrar testleri de değişkenlik göstermektedir (62).

Diğer invaziv olmayan testler: C¹³ işaretli ürenin ağız yoluyla alınımından sonra serum örneklerinde C¹³-bikarbonatın saptanması esasına dayanan testler pratikte üre nefes testi kadar kullanılmaz. 24 saatlik idrarda C¹⁴ işaretli ürenin saptanması da bazı zorluklar içermektedir (62).

İnvaziv Yöntemler: İnvaziv yöntemler gastrointestinal endoskopi ve gastrik biyopsi gerektirir. *H pylori* midede yama tarzında enfeksiyon oluşturduğu için biyopsi örnekleri mümkünse birden fazla ve antrumdan alınmalıdır.

Kültürden izolasyon: *H pylori*'nin kültürde üretilmesi tanıda altın standarttır. Ancak bu yöntem örneğin sayısı ve büyüklüğü, örnekteki bakteri miktarı, örneğin transport şekli ve süresi, kullanılan besiyerleri ve inkübasyon şartları ile çalışanın tecrübesine dayanarak değişken duyarlılık gösterir. Oksijene duyarlı olan bu bakterinin laboratuvara ulaştırılması ve ekimi uygun koşullarda ve hızlı olmalıdır. Taşıyıcı besiyeri olarak serum fizyolojik ve ticari olarak hazırlanmış besiyerleri kullanılmaktadır. Kültürün başarısı biyopsi örneğinin alınımı ile ekimi arasındaki süreye ve oksijene temasına bağlıdır. Bu nedenle alınan örnekler en fazla dört saat içinde ekilmeli, bu sürede +4 °C'de bekletilmelidir. Örnek hemen ekilmeyecek ise -70 °C'de saklanabilirse de bu işlem kültürde üretmeyi %40 azaltacaktır. *H pylori* seçici ve seçici olmayan besiyerlerinde, mikroaerofilik ortamda 3-10 günde üretilmektedir. %5-10 yalancı negatif sonuç alınmaktadır. Kullanılacak besiyeri beyin-kalp-infüzyon agar (Brain Heart Infusion=BHI), Brusella agar, Colombia agar ve Mueller-Hinton agar gibi zengin besiyerleri olmalı ve kan ya da serumla zenginleştirilmelidir. Özellikle ilk izolasyonda %7-10 oranında at kanı kullanılmalıdır. Mikroaerofil ortam, çeşitli ticari kitler kullanılarak, anaerop kavanozda sağlanabilir. Kültürde üretilen *H pylori*'ye antibiyotik duyarlılık testi uygulanabilir, tiplendirme yapılabilir (1,3,19).

Histopatolojik inceleme: *H pylori* enfeksiyonlarında histolojik tanı dokudaki enflamasyonun ve varsa prekarsinojen değişimlerin şiddetini belirlemek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bakteri mukus içinde yüzey epitelyumuna tutunmuş olarak, kriptin içine doğru derinlerde bulunur. *H pylori*'nin çok miktarda kolonize olduğu örneklerde imprint sitolojiye Gram boyama uygulanarak hızlı tanıda kullanılabilir. Antral biyopsi örneklerinin rutinde kullanılan hematoksilen-eozinle veya özgülüğün arttığı Warthin-Starry gümüşleme, akridin-oranj ve modifiye Giemsa ile boyandıktan sonra histopatolojik değerlendirilmesi oldukça iyi sonuçlar vermektedir. Monoklonal veya poliklonal floresan anti-*H pylori* antikollarının kullanıldığı immünohistokimyasal boyama tanıda özgül ve duyarlı bir yöntemdir (1,3,19,62).

Hızlı üreaz testi: Endoskopi sırasında alınan biyopsi örneklerinden uygulanan hızlı üreaz testi hem ucuz hem de kolay bir tekniktir. *H pylori* üreaz aktivitesi ile ortamdaki üreyi amonyak ve bikarbonata parçalar ve ortamın pH'sını yükselterek pH indikatörü ile ortamın rengini değiştirir. Orofarenkste yerleşen üreaz üreten bazı kommensal bakteriler tükürükle gastrik biyopsi örneğini kontamine edebilir. Ancak

böyle zayıf enzimler midenin asidik lümeninde kolayca denatüre edileceklerinden testin özgüllüğünü etkilemezler. Pozitif sonuçların %90'ı ilk yarım saatte görülür ve geri kalanlarda ertesi gün okumayı gerektirir. Ticari olarak kullanıma sunulan gel test (CLO test, Hpfast), strip test (pyloriTek), tablet testler ve konsantre üre içeren laboratuvarlarda hazırlanan üreaz testi kullanılmaktadır. Bu testler kanayan, aklorhidri, antibiyotik ve/veya PPI kullanan hastalarda düşük duyarlılık göstermektedir (1,3,19,62).

Moleküler tanı yöntemleri: Son yıllarda moleküler yöntemler *H pylori* biyolojisi, enfeksiyonlarının tanısı, spesifik virülans faktörlerinin tayini, konakta ortaya çıkan cevabın genetik temeli, antibiyotik direncinin belirlenmesi, eradikasyon tedavisinden sonraki tekrarlayan enfeksiyonların nedeninin tesbit edilmesi ve kültürde üretilmeyen kokoid formların tanımlanması gibi amaçlar için yoğun olarak kullanılmıştır. Nükleik asit amplifikasyon bazlı teknikler canlı ve ölü bakteri ayrımını yapamadıkları için yalancı pozitif sonuç verebileceklerinden eradikasyon tedavisinin takibinde önerilmemektedir. *H pylori* izolatlarında moleküler tanı yöntemleri kullanılarak gen mutasyonları, suşların coğrafi ve etnik dağılımlarının yanı sıra kolonize toplulukların etnik geçmişlerini tayinde önemli bilgiler saptanmıştır. Moleküler yöntemlerle kültür ortamında üretilen bakterilerin yanı sıra, tükürük, diş plakları, gaita, mide sıvısı ve biyopsi örneklerinden de *H pylori* suşlarına ait spesifik nükleik asit dizilerini direkt olarak araştırmak mümkündür (3,56).

FISH nükleik asit dizilerine özgül, floresan işaretli DNA probları ile hedefin işaretlenmesi ve floresan mikroskopunda görüntülenmesi prensibine dayanan bir yöntemdir. Bu yöntemle *H. pylori*'nin 16S rRNA'ya özgül proba hibridize olması sonucu bakterinin varlığı ve 23S rRNA'ya özgül proba hibridize olması sonucu da klaritromisin direnci saptanabilir. FISH, hem kültürle hem de formalin ile fikse edilmiş parafinize ve şok dondurulmuş doku örneklerinden çalışılabilmektedir. FISH *H pylori*'nin kültürü yapılamayan kokoid formlarını da saptayabilir. FISH yöntemi ile üç saat içerisinde sonuç alınabilir (15,63).

***H pylori*'de Tedavi**

H pylori enfeksiyonunun tedavisinde henüz ideal bir kemoterapi rejimi bulunmamaktadır. Metronidazol, klaritromisin, amoksisilin ve tetrasiklin enfeksiyonun tedavisinde seçilen antimikrobiyal ajanlardır. Tedavi protokollerinde kombine antimikrobialların yanı sıra H-2 reseptör antagonistleri, proton pompa inhibitörleri (PPI), ya da bizmut tuzları yer almaktadır. Tedavideki başarısızlığa hasta uyumu, ilaçların yan etkilerinden dolayı tedavinin yarım kalması ve seçilen antibiyotiğe karşı gelişen veya varolan direnç neden olmaktadır (12).

Yıllar içerisinde değişen tedavi rejimleri Maastricht kriterlerinin ortaya konulması ile belirli standartlara kavuşmuştur. Son Maastricht-3 2005 konsensus toplantısında bir önceki Maastricht-2 2000 konsensus toplantısında önerilen birinci basamak tedavi rejimi (en az 7 günlük PPI veya ranitidin bizmut sitrat (RBC) bid, klaritromisin 500 mg bid ve amoksisilin 1 gr (veya metronidazol 500 mg) bid) geçerliliğini korumaktadır. Bu tedavi şemasında klaritromisinin metronidazolden daha etkili olduğu düşünülmekte idi. Ancak metronidazol direncinin klinik sonuçları önemli oranda etkilemediğinin anlaşılması bu görüşü zayıflatmıştır. Birinci basamak tedavisinin başarısız olduğu durumlarda ise 7-10 günlük PPI, bizmut 120 mg günde 4 kez, tetrasiklin 500 mg günde 4 kez ve metronidazol 500 mg günde 3 kez önerilmektedir. 2005 konsensus raporunda birinci basamak tedavide PPI, klaritromisin, amoksisilin (veya metronidazol) tavsiye edilmektedir. Ancak klaritromisin direncinin %15-20'den yüksek olduğu toplumlarda bu tedavi şemasının etkinliği düşmektedir. Metronidazol direncinin %40'dan az olduğu toplumlarda, metronidazol içeren birinci basamak tedaviler önerilmektedir (64). Köksal ve ark. (65) yaptıkları bir çalışmada ilk basamak tedavide başarısız bulunan hastalarda RBC-amoksisilin-klaritromisin ve RBC-metronidazol-tetrasiklin (10 gün) tedavileri karşılaştırılmıştır. Eradikasyon oranları sırasıyla %60 ve %85 olarak bulunmuştur. Metronidazol ve tetrasiklin içeren protokol daha başarılı sonuç vermiştir.

Gümürdulu ve ark. (66) yaptığı çalışmada da metronidazol ve tetrasiklin içeren rejimler daha başarılı sonuç vermiştir. Eğer PPI-amoksisilin-klaritromisin (PAC) ve PPI-klaritromisin-metronidazol (PCM) şemaları uygun hastalarda kullanılırsa etkinlikleri benzerdir. Ancak klaritromisin duyarlı hastalarda PAC başarısı %87.8 iken

klaritromisin dirençli hastalarda %18.3 olarak bulunmuştur. Metronidazol direnci ise klaritromisin direnci kadar sonucu etkilememektedir. Örneğin klaritromisin ve metronidazole duyarlı hastalarda PCM başarı oranı %97, metronidazole dirençli hastalarda %72 ve klaritromisine dirençli hastalarda ise %50 olarak bulunmuştur (67).

Maastricht-3 2005 konsensus toplantısında dörtlü tedavi rejimleri de birinci basamak tedavide önerilmektedir. Bazı çalışmalarda PPI, bizmut, tetrasiklin ve metronidazol içeren dörtlü tedavinin başarı oranı, metronidazole duyarlı hastalarda %80-95, metronidazol direnci olan hastalarda ise %81-93 olarak bulunmuştur. Bu alanda yapılan bir metaanalizde üçlü ve dörtlü tedavilerin etkinlik, yan etki ve uyum açısından benzer olduğu gösterilmiştir. Tedavi süresi 7 günden 14 güne uzatıldığında başarı oranında %9 luk bir artış bildirilmekte olup sağlık harcamalarının kısıtlı olduğu ülkelerde 7 günlük tedavi rejimleri önerilmektedir (64).

H pylori tedavisinde kinolon grubu, furazolidon ve rifabutin başvuru alan diğer antibiyotikler arasında yer almaktadır (64).

***H pylori* eradikasyon tedavisi endikasyonları:** *H pylori* tedavisinde en önemli sorun tedavi endikasyonu olup olmadığına karar verilmesidir. Maastrich-3 konsensus toplantısında alınan kararlar aşağıda sunulmaktadır (14,64).

1. Duodenum ve mide ülserli, düşük dereceli MALT lenfomalı, atrofik gastritli hastalar ve yeni rezeke edilmiş mide kanserli hastalar mutlaka tedavi edilmelidir.
2. Araştırılmamış dispepside test et ve tedavi et yaklaşımı, araştırılmış dispepside ise *H pylori* pozitif tüm olgulara eradikasyon tedavisi önerilir.
3. *H pylori* eradikasyonu *H pylori* saptanan fonksiyonel dispepsi için en iyi seçenektir.
4. Yüksek prevelansta saptandığı ülkelerde erişkin fonksiyonel dispepsili hastalarda test et ve tedavi et stratejisi en iyi seçenektir. Fakat düşük prevelansta saptandığı ülkelerde (<%20) ampirik asit baskılayıcı tedaviler uygun olabilir.
5. *H pylori* gastroözefajial reflü hastalığına (GÖRH) neden olmaz. GÖRH hastalarında rutin *H pylori* taraması önerilmemektedir. Bu hastalar uzun süre

antiasit tedavisi alacaklar ise atrofik gastrit riski nedeniyle mutlaka *H pylori* varlığı aranmalı ve tedavi edilmelidir.

6. Uzun süre nonsteroid antienflamatuvar ilaç (NSAİİ) ve aspirin kullanacak hastalarda, geçmişte ülser ve kanama anemnezi olan hastalarda *H pylori* test edilip pozitif ise eradikasyonu yapılmalıdır.
7. *H pylori* eradikasyonunun intestinal metaplazi üzerindeki etkisi çok açıklanamamış olmasına rağmen atrofik gastriti geriletebilir.
8. *H pylori*'nin çocukluk ve adölesan dönemde tek eradikasyonu peptik ülserdir.
9. Koroner kalp hastalıkları, migren ve açıklanamayan Fe eksikliği anemisi durumunda *H pylori* pozitifliği varsa tedavi edilmelidir.
10. *H pylori* eradikasyonu özellikle korpus dominant kronik aktif gastrit ve intestinal metaplazide yapılırsa mide kanseri potansiyelini azaltır. Mide kanserini önlemek için yüksek riskli gruplarda eğer *H pylori* varlığı saptanmış ise tümüne eradikasyon yapılmalıdır.

Çalışmamızın amacı; artan direnç ve tedavideki sorunlar nedeniyle bölgemizdeki *H pylori* direnç oranlarının saptanması ve klaritromisin direncinin saptanmasında E test ve FISH yönteminin karşılaştırılması, ayrıca *H pylori* cagPAI bütünlüğü ve klinik sonuçları arasındaki ilişkiyi saptayarak literatüre katkıda bulunmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

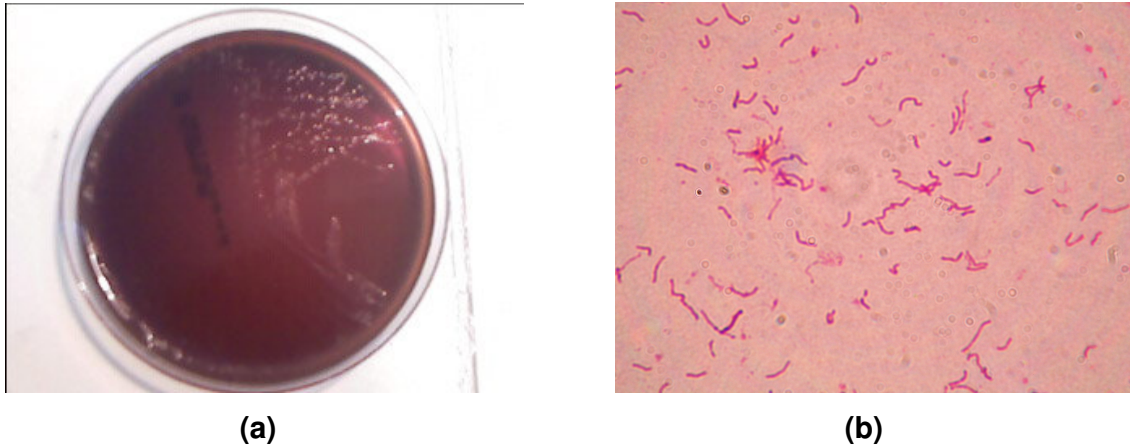
Çalışmaya, gastrik yakınmaları nedeniyle Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin (SUAM) İç Hastalıkları AD Gastroenteroloji Bilim dalı endoskopi ünitesinde endoskopik muayenesi yapılan hastalardan alınan gastrik biyopsi örneklerinden izole ve idantifiye edilen 31 adet *H pylori* suşu ve kültürde üreme saptanmayan, hızlı üreaz testi pozitif olan 20 adet gastrik biyopsi örneği alındı.

Endoskopik muayenesi yapılan hastalarda biri tercihen antrumdan olmak üzere iki adet gastrik biyopsi örneği alındı. Örnekler brain-heart-infusion broth (Becton Dickinson (BD), USA) içeren eppendorflar içerisinde SUAM Mikrobiyoloji AD Bakteriyoloji Laboratuvarı'na ulaştırıldı. Örnekler en geç 4 saat içerisinde işleme alındı. Her iki biyopsi örneği modifiye *Helicobacter* agar (BD) besiyeri içeren plaklara steril penset yardımı ile ekildi. Ekim sonrası biyopsi örneklerinden biri hızlı üreaz deneyi amacıyla %20'lik üre (Sigma, Germany) konsantresi içeren eppendorflar içerisine eklendi. Diğer biyopsi örneği moleküler çalışma amacıyla 500 µL TE (Tris-EDTA) buffer içeren eppendorflar içerisinde -70°C de saklandı.

Hızlı Üreaz testi için üre eriyiği laboratuvarda şu şekilde hazırlandı: 20 gram tartılan üre 100 ml saf su içerisinde eritildikten sonra filtrasyon ile steril edildi. Aseptik koşullarda steril eppendorf tüpleri içerisine 500 µL dağıtıldı. Üre eriyiği içerisine biyopsi materyali eklendikten yarım saat sonra ve 24 saat sonra üreaz testi değerlendirildi. Kırmızı-pembe renk oluşumu halinde test pozitif kabul edildi.

Ekim yapılan plaklar anaerob kavanozlarda 37°C'de 3-10 gün inkübe edildi. *H pylori*'nin ihtiyaç duyduğu atmosfer ortamı (%5 O₂, %10 CO₂, %85 N₂) kavanozlar içerisine konan CampyGen (OXOID Ltd, İngiltere) *Campylobacter* sistemi ile sağlandı. İnkübasyon sonrası saydam, konveks, 0,5-1 mm çapında, su damlasına benzer koloniler incelemeye alındı. Bakteri identifikasyonu için Gram boyama, oksidaz testi, katalaz testi ve üreaz testi uygulandı. Serum fizyolojik ile lam üzerine süspansiyonu yapılan koloniler kurutulup alevde tesbit edildikten sonra Gram boyası ile boyandı. Taze kültürden öze ile alınan koloni %1'lik tetramethyl-para-phenilenediamine hydrochlorid solüsyonu içeren diskler (BBL) üzerine yayıldı. Üzerleri serum fizyolojik ile ıslatıldı. Mor renk oluşması halinde oksidaz testi pozitif

olarak kabul edildi. Öze ile alınan koloni lam üzerine yayıldı. Üzerine bir-iki damla %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatıldı. Gaz kabarcıkları oluşması halinde katalaz testi pozitif kabul edildi. Öze ile alınan koloni %20'lik üre içerisinde süspansiyon edildi. Kırmızı-pembe renk oluşması halinde üreaz testi pozitif kabul edildi. İncelemeler sonunda gram boyası ile boyanan preparatlarda gram negatif, spiral, S veya martı kanadı şeklinde görünüme sahip olan ve oksidaz, katalaz ve üreaz pozitif olan bakteriler *H pylori* olarak kabul edildi. Gram boyamadaki görüntüsü şekil 2'de yer almaktadır. Yapılan tüm testlerde NCTC 11637 (ATCC 43504) standart suşu kontrol olarak kullanıldı. Üreyen koloniler daha bol üretilmek üzere *Helicobacter* agar (BD) besiyerine pasaj yapıldı. Pasajlar yine yukarıda tarif edilen koşullarda 37°C'de 72 saat inkübe edildi. Tüm suşlar mikrobank (Cryobank mixed, Mast Group Ltd. Merseyside, UK) saklama tüpünde ve moleküler çalışılmak üzere TE buffer içerisinde -70°C'de saklandı.



Şekil 2: *H pylori*'nin (a) besiyerindeki görüntüsü, (b) gram boyama ile görüntüsü

Duyarlılık testleri: Duyarlılık tespitinde son yıllarda antibiyotik duyarlılığını tespit etmede giderek artan sıklıkta kullanılan ve kantitatif sonuç verebilen bir yöntem olan E-test yöntemi uygulandı. Ayrıca FISH yöntemi ile klaritromisin direncinin varlığı araştırıldı. Klaritromisin dirençli *H pylori*'nin saptanmasında E test ve FISH metodları karşılaştırıldı.

E test: *Helicobacter* agar besiyerinde 48-72 saatlik inkübasyondan sonra brain-heart infusion broth ile 3 Mc Farland bulanıklıkta olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlanarak %5 koyun kanlı Mueller Hinton Agar (BD) yüzeyine

pamuklu steril çubukla sürüldü. Her bir bakteri süspansiyonu 5 ayrı plağa sürüldü. Ekimin ardından klaritromisin, amoksisilin, metronidazol, siprofloksasin ve tetrasiklin E test stripleri (AB biodisk Solna, Sweden) üretici firmanın önerileri doğrultusunda yerleştirildi. 37°C'de anaerop kavanozlar içerisinde 72 saat inkübasyondan sonra değerlendirildi. Kavanozlar içerisine konulan CampyGen (OXOID Ltd, İngiltere) *Campylobacter* sistemi ile uygun atmosfer ortamı sağlandı. Her bir çalışmada *H pylori* NCTC 11637 (ATCC 43504) suşu, kalite kontrolü olarak kullanıldı Kalite kontrol suşunun amoksisilin MİK aralığı 0.016-0.125 µg/ml, klaritromisin MİK aralığı 0.016-0.125 µg/ml, metronidazol MİK aralığı 64-256 µg/ml ve tetrasiklin MİK aralığı 0.125-1 µg/ml'dir.

H pylori'de antibiyotik duyarlılık sınırları aşağıdaki şekilde değerlendirildi.

Antibiyotik	E testi		
	S	I	R
Klaritromisin ¹	≤ 0,25 µg/ml	0,5 µg/ml	≥ 1 µg/ml
Tetrasiklin ²	≤ 4 µg/ml	-	≥ 16 µg/ml
Amoksisilin ²	≤ 1 µg/ml	-	≥ 4 µg/ml
Metronidazol ²	≤ 8 µg/ml	-	≥ 16 µg/ml
Siprofloksasin ³			> 2 µg/ml

1: NCCLS M100-S10 Ocak 2006, 2: AB Biodisk 2007-06,M0000177-MH0174, 3: Referans 68,69.

FISH: *H. pylori* suşlarından inokulüm yapmak için 1.0 Mc Farland hazırlandı. Klaritromisin direncinin belirlenmesinde SeaFAST® (Hemakim, Macaristan) ticari kiti kullanıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda hibridizasyon yapıldı. Hibridizasyonda, biri 16S rRNA'ya özgül ve fluorescein boyası ile işaretli, diğerleri 23S rRNA'daki mutasyonlarına özgül ve Cy3 boyası ile işaretli probalar kullanıldı. Hibridizasyon sonrası örneklerin üzerine 5'er µl Anti Fade damlatıldı. Nikon E 600 marka floresan mikroskop üzerine kurulmuş olan red, gren ve dapi filtrelerine sahip Quips Imaging System (Applied: UK) ile analiz edildi.

CagPAI heterojenitesinin saptanması: 16S rRNA ve CagPAI'da yer alan 5 farklı gen bölgesi (cagA, cagA promoter bölgesi, cagE, cagT ve LEC) 8 ayrı primerle çalışıldı. Çalışmada pozitif kontrol olarak *H pylori* 26695 suşu, negatif kontrol olarak su kullanıldı.

Bakteriden DNA ekstraksiyonu: Bakterilerden DNA ekstraksiyonu kaynatma yöntemi ile yapıldı. TE-buffer içerisinde -80°C'de saklanan bakteriler ekstraksiyon yapılacağı gün çıkartılarak oda ısısında çözünmesi sağlandı. 500 µl TE-buffer içerisinde olan bakteriler 6500 RPM'de 5 dk santrifüj yapıldı, üstteki sıvı döküldü. Üzerlerine 1000 µl TE-buffer eklendi. 6500 RPM'de 5 dakika santrifüj yapıldı. Dipte kalan pelletin üzerine 200 µl TE-buffer eklendi. Vorteks ile kısa bir spin yapıldı. Ardından thermalcyler cihazında (T3 thermocycler Biometra, Germany) 99°C'de 10 dakika kaynatıldı. 13 000 RPM'de 7 dakika santrifüj yapıldı. Üstte kalan sıvı PCR çalışmalarında DNA kaynağı olarak kullanıldı.

Biyopsi materyalinden DNA ekstraksiyonu: TE-buffer içerisinde -80°C'de saklanan biyopsi örnekleri ekstraksiyon yapılacağı gün çıkartılarak oda ısısında çözünmesi sağlandı. QIAamp DNA Mini Kiti (QIAGEN, Germany) üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanılarak dokudan DNA ekstraksiyonu yapıldı.

PCR Amplifikasyonu: DNA amplifikasyonları thermalcyler cihazında (T3 thermocycler Biometra, Germany) üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı. Kullanılan primerlerin guanin sitozin oranı ve amplifiye edilecek bölgenin büyüklüğüne göre şu program kullanıldı (6).

	95 °C'de -----	5 dakika -----	1 siklus
Denaturation	94 °C'de -----	30 saniye -----	} 40 siklus
Annealing	52 °C'de -----	30 saniye -----	
Polymerization	72 °C'de -----	1 dakika -----	
	72 °C'de -----	10 dakika -----	1 siklus

Amplifikasyon programı sonunda amplifiye olan örneklerden 10 µl volüm 2 µl elektroforez tamponu ile karıştırıldı ve agaroz jel elektroforezinde yürütüldü.

Primerler: Ikenoue ve ark. (4,5,6) tarafından kullanılan primerler ticari olarak sentez ettirildi.

Hedef gen	Primer	5'- 3' oligonükleotidler	Lokalizasyonu (bp)
16 S rRNA	16S rRNA-F 16S rRNA-R	TAAgAgATCAgCCTATgTCC TCCCACgCTTTAAgCgCAAT	534
CagA1	CagA-F1 CagA-R1	AACAggACAAgTAgCTAgCC TATTAATgCgTgTgTggCTg	701
CagA2	CagA-F2 CagA-R2	gATAACAggCAAgCTTTTgA CTgCAAAAgATTgTTTggCAGA	349
CagAP1	CagAP-F1 CagA-R1	gTgggTAAAAATgTgAATCg TATTAATgCgTgTgTggCTg	730
CagAP2	CagAP-F2 CagA-R2	CTACTTgTCCCAACCATTTT CTgCAAAAgATTgTTTggCAGA	1181
CagE	CagE-F1 CagE-R1	gCgATTgTTATTgTgCTTgTAG gAAgTggTTAAAAAATCAATgCCCC	329
CagT	CagT-F1 CagT-R1	CCATgTTTATACgCCTgTgT CATCACCACACCCTTTTgAT	301
LEC-1	LEC-F1 LEC-R1	ACATTTTggCTAATAAACgCTg TCTCCATgTTgCCATTATgCT	384
LEC-2	LEC-F2 LEC-R2	ATAgCgTTTTgTgCATAgAA ATCTTTAgTCTCTTTAgCTT	877

Agaroz Jel Elektroforezi: %1.5'lik olarak 1XTBE ile agarozdan hazırlandı. Dökülmeden hemen önce 30 µl etidyum bromid ile renklendirildi. Örnekler 100 voltda 35 dakika yürütüldü. Sonuçlar DNA marker (Biotechnology Department Bio Basic Inc. Canada) kullanılarak değerlendirildi. Jeldeki sonuçlar ultraviole masasında (BIO-RAD UV transilluminator, 2000, USA) ve BioDocAnalyze (Biometra, Germany) ile değerlendirildi.

Biyopsi örneği alınan hastalar endoskopik bulgularına göre gastrit, nonülser dispepsi ve ülser (duodenal ve gastrik ülserler) olarak 3 gruba ayrıldı. CagPAI'nın intakt oluşu ya da parsiyel delesyonları ile *H pylori* klinik sonuçları arasındaki ilişki istatistiksel olarak Chi-Square test ile değerlendirildi.

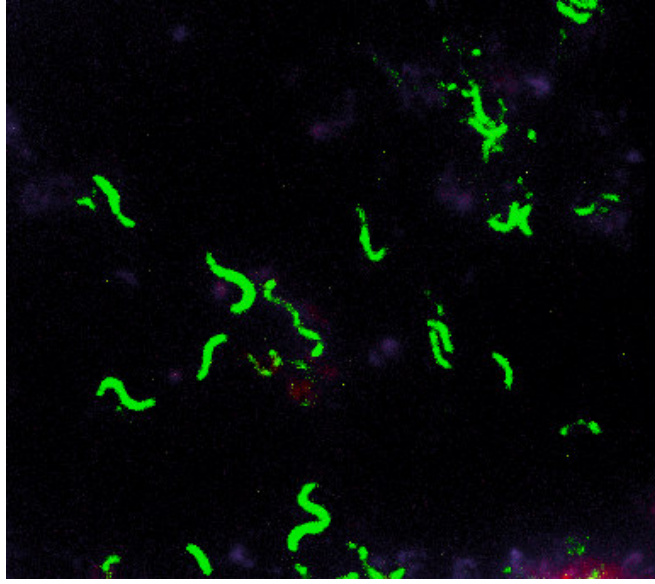
BULGULAR

Kültürde üretilen 31 *H pylori* suşunun klaritromisin, amoksisilin, siprofloksasin, metronidazol ve tetrasiklin için E-test yöntemi ile elde edilen MIC değerleri Ek 1'de sunulmaktadır. Otuzbir suşun 13'ünde (%41.9) klaritromisine direnç saptanmıştır. 13'ünde (%41,9) metronidazol direnci, 14'inde (%45.2) siprofloksasin direnci saptanmıştır. Amoksisilin ve tetrasiklin direnci 1 suşta (%3,2) gösterilmiştir. Tek ilaca direnç 10 izolatta (%32.2) iken birden fazla ilaca direnç 14 izolatta (%45.2) olarak bulunmuştur (tablo 6).

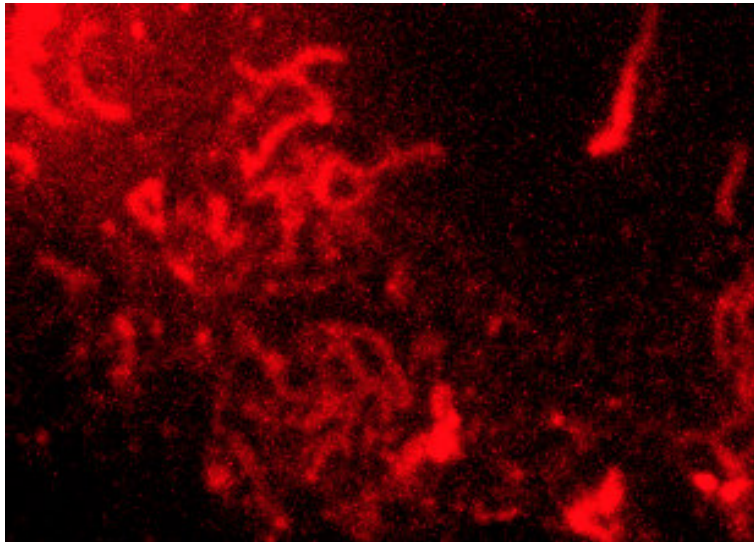
Tablo 6: Otuzbir *H pylori* izolatının E-Test ile yapılan antibiyotik direnç oranları

	Direnç durumu	
	n	(%)
Klaritromisin	13	41,9
Amoksisilin	1	3.2
Metronidazol	13	41,9
Tetrasiklin	1	3.2
Siprofloksasin	14	45.2
Tek ilaca direnç	10	32.2
Çoklu direnç	14	45.2

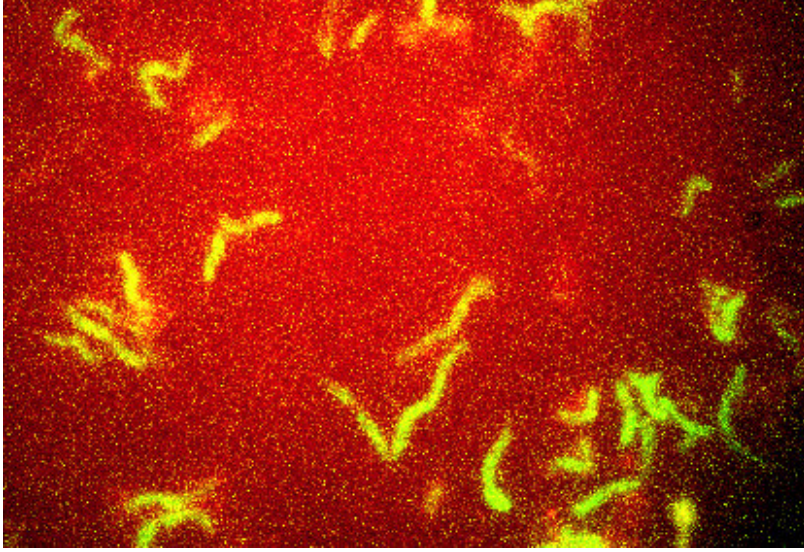
FISH yöntemi ile Florescein boyası ile işaretli problarla hibridize olmuş suşlar floresan mikroskopunda yeşil ışığa verdi ve *Helicobacter pylori* varlığını gösterdi (şekil 3) . Cy3 boyası ile işaretli problar ile hibridize olan suşlar ise kırmızı ışığa verdi ve dirençli olarak değerlendirildi (şekil 4). Dual bantta ise bu klaritromisin dirençli suşlar sarı renkte gözlemlendi (şekil 5). Buna göre, 31 suşun tümü yeşil ışığa verdi ve ortamda *H. pylori* varlığı bir kez daha doğrulanmış oldu. Onüç suşta (%41.9) aynı zamanda kırmızı ışığa da gözlemlendi ve bu suşların klaritromisine dirençli olduğu sonucuna varıldı. İki suşta ise dirençli ve duyarlı suşlar bir arada gözlemlendi. E-test yöntemi ile FISH yöntemi karşılaştırıldığında klaritromisin direncinin saptanmasında fark saptanmadı.



Şekil 3: Fluorescein boyası ile işaretli, 16S rRNA'ya özgül proba hibridize olmuş *H. pylori*'nin floresan mikroskopundaki görüntüsü (yeşil filtre).

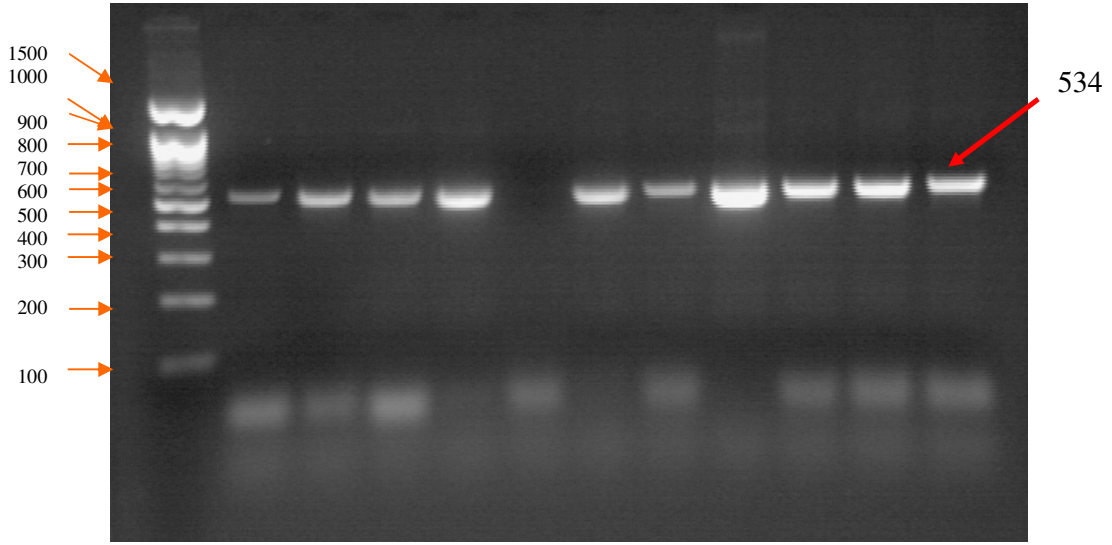


Şekil 4: Cy3 boyası ile işaretli, 23S rRNA'ya özgül proba hibridize olmuş klaritromisin dirençli *H. pylori*'nin floresan mikroskopundaki görüntüsü (kırmızı filtre).

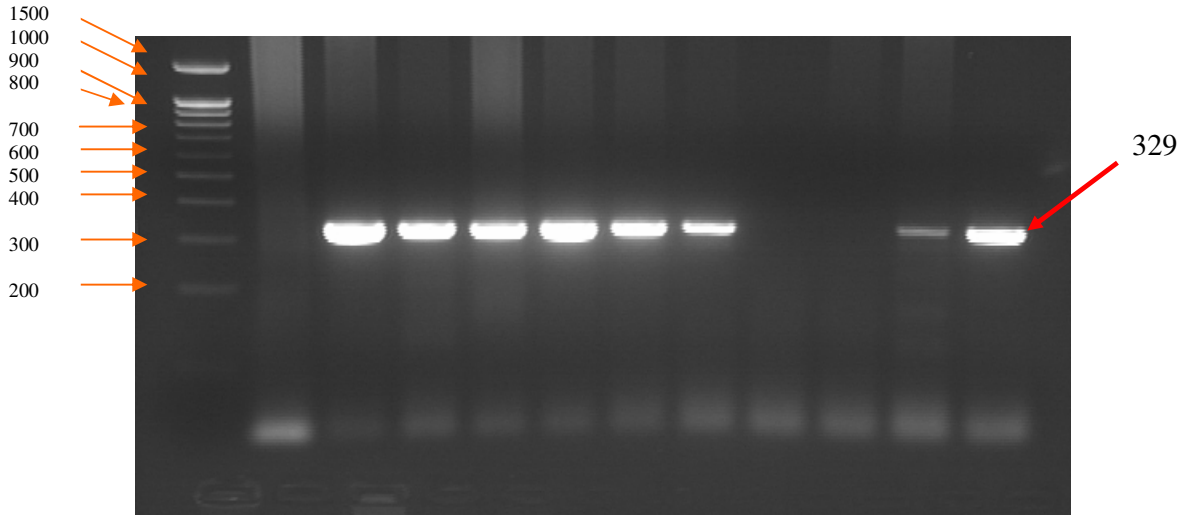


Şekil 5: Fluorescein boyası ile işaretli, 16S rRNA'ya özgül proba ve Cy3 boyası ile işaretli 23S rRNA'ya özgül proba hibridize olmuş klaritromisin dirençli *H pylori*'nin floresan mikroskopundaki görüntüsü (ikili filtre) .

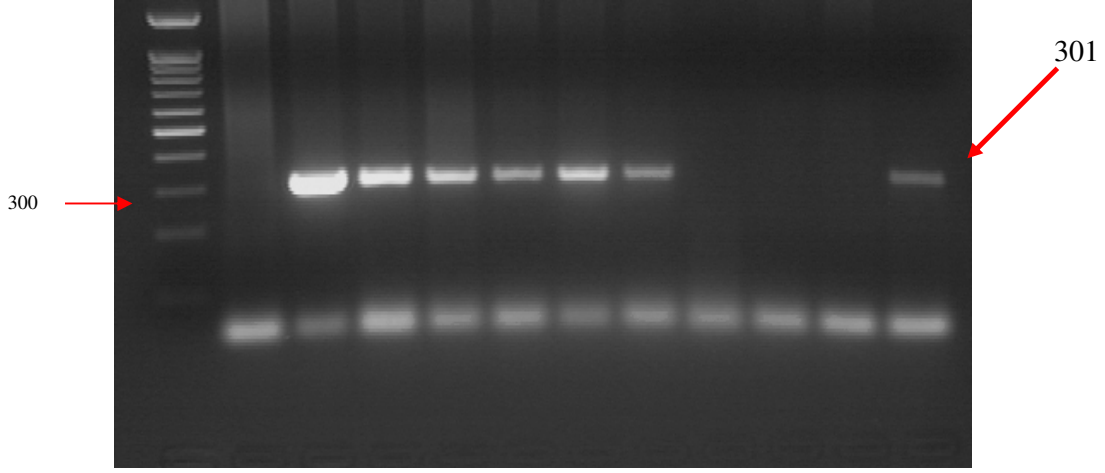
Moleküler çalışmada pozitif kontrol olarak *H pylori* 26695 suşu kullanıldı. *H pylori* suşlarında PCR ile 51 DNA örneğinin 50'sinde 16S rRNA varlığını gösteren 534 bp bantlar saptandı (şekil 6). 16S rRNA PCR ile pozitif saptanan 50 *H pylori* DNA örneğinde *cagPAI* gen bölgeleri varlığı arandı. Elli örneğin 32'sinde *cag E* varlığını gösteren 329 bp büyüklüğünde bantlar oluştu (şekil 7). Yirmidokuz örnekte 301 bp büyüklüğündeki *cagT* gen bölgesi saptandı (şekil 8). Yirmiyedi örnekte 384 bp büyüklüğünde LEC1 (şekil 9) ve 17 örnekte 877 bp büyüklüğünde LEC2 (şekil 10) gen bölgelerini gösteren bantlar saptandı. 349 bp büyüklüğündeki *cagA2* gen bölgesi 24 örnekte saptandı (şekil 11). Sekiz örnekte 1181 bp'lik *cagAP2* gen bölgesi gösterilirken (şekil 12), 20 örnekte 730 bp'lik *cagAP1* bölgesi saptandı. *cagA1* bölgesi hiçbir örnekte saptanamadı.



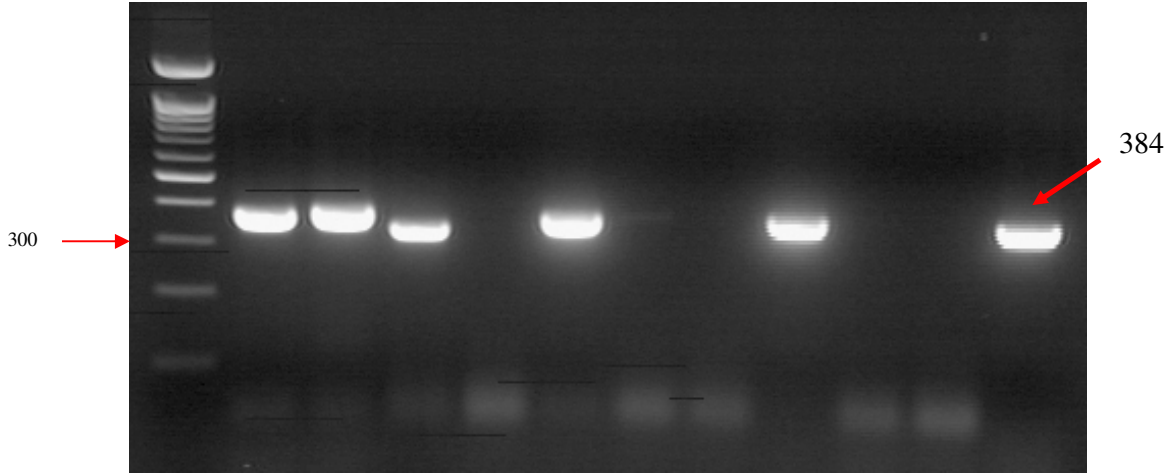
Şekil 6: *H pylori* suşlarında 16S rRNA PCR ürünü agaroz jel elektroforezi görüntüleri



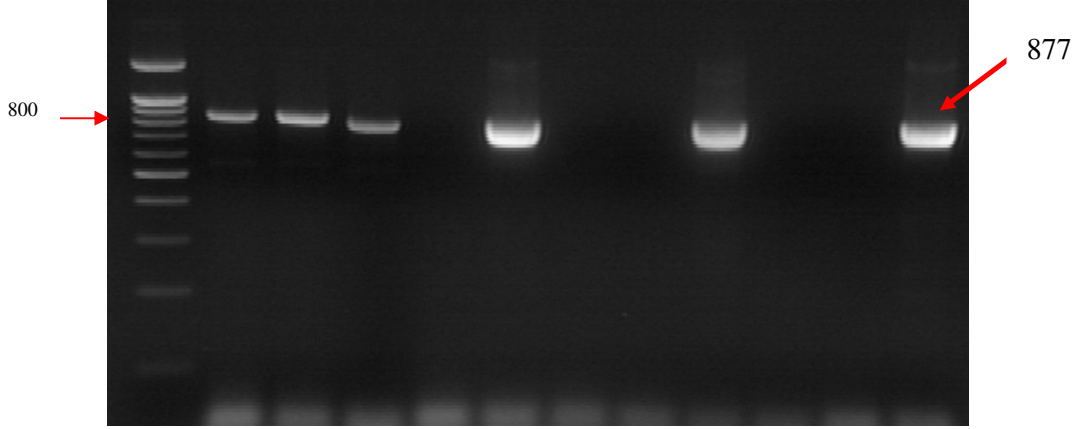
Şekil 7: *H pylori* cag E pozitif PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi görüntüleri



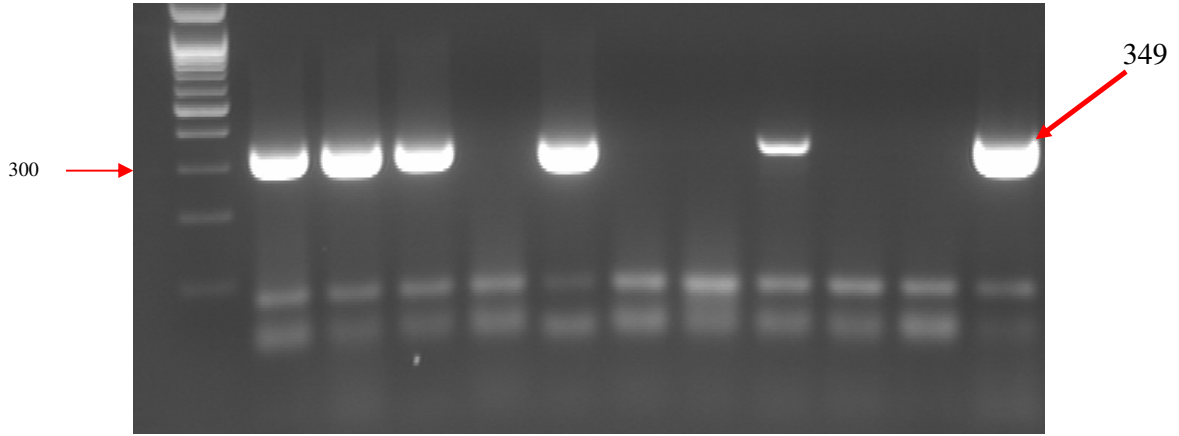
Şekil 8: *H pylori* cagT pozitif PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi görüntüleri



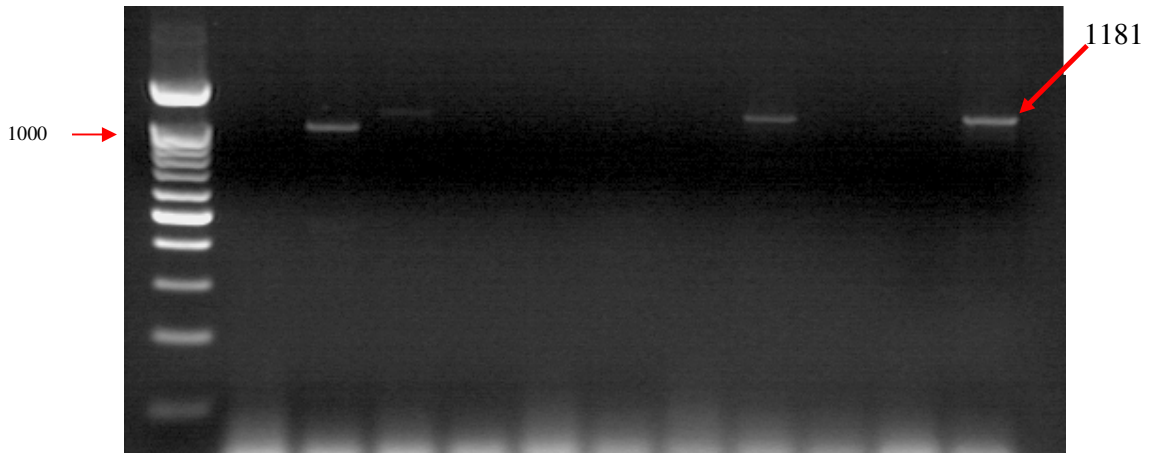
Şekil 9: *H pylori* LEC1 pozitif PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi görüntüleri



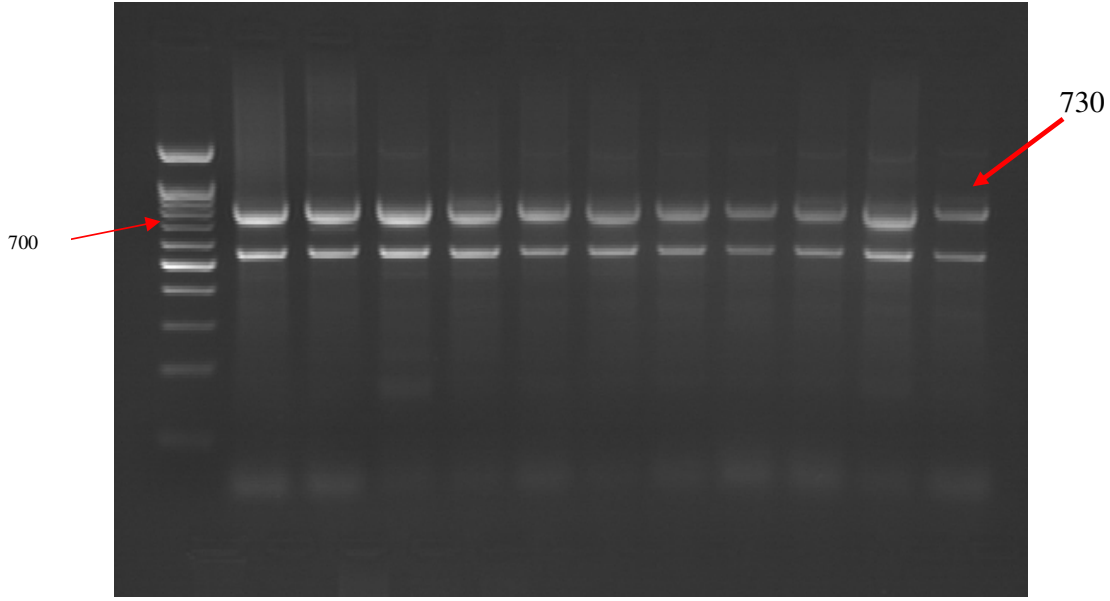
Şekil 10: *H. pylori* LEC2 pozitif PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi görüntüleri



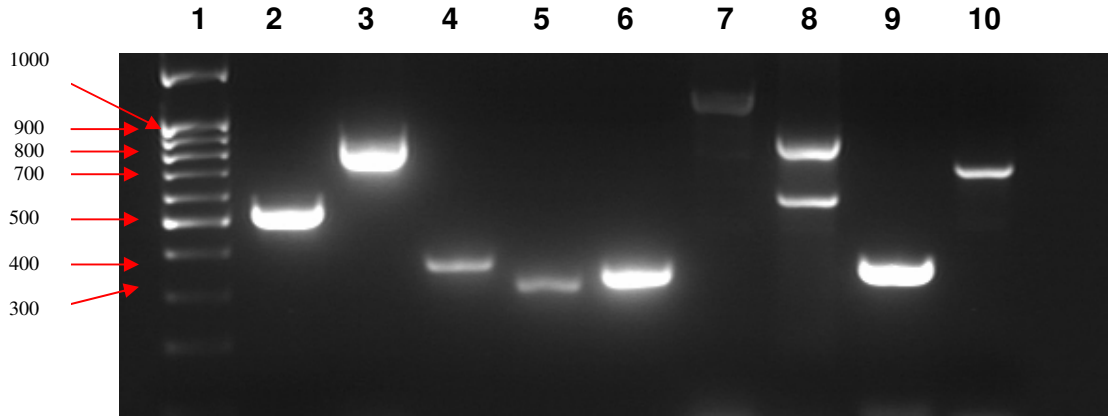
Şekil 11: *H. pylori* cagA2 pozitif PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi görüntüleri



Şekil 12: *H. pylori* cagAP2 pozitif PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi görüntüleri



Şekil 13: *H. pylori* cagAP1 pozitif PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi görüntüleri



Şekil 14: *H. pylori* intakt cagPAI agaroz jel elektroforezi görüntüleri. **1:** size marker, **2:** 16S rRNA PCR ürünü (534 bp), **3:** LEC2 PCR ürünü (877 bp), **4:** LEC1 PCR ürünü (384 bp), **5:** cagT PCR ürünü (301 bp), **6:** cagE PCR ürünü (329 bp), **7:** cagAP2 PCR ürünü (1181 bp), **8:** cagAP1 PCR ürünü (730 bp), **9:** cagA2 PCR ürünü (349 bp), **10:** cagA1 PCR ürünü (701 bp)

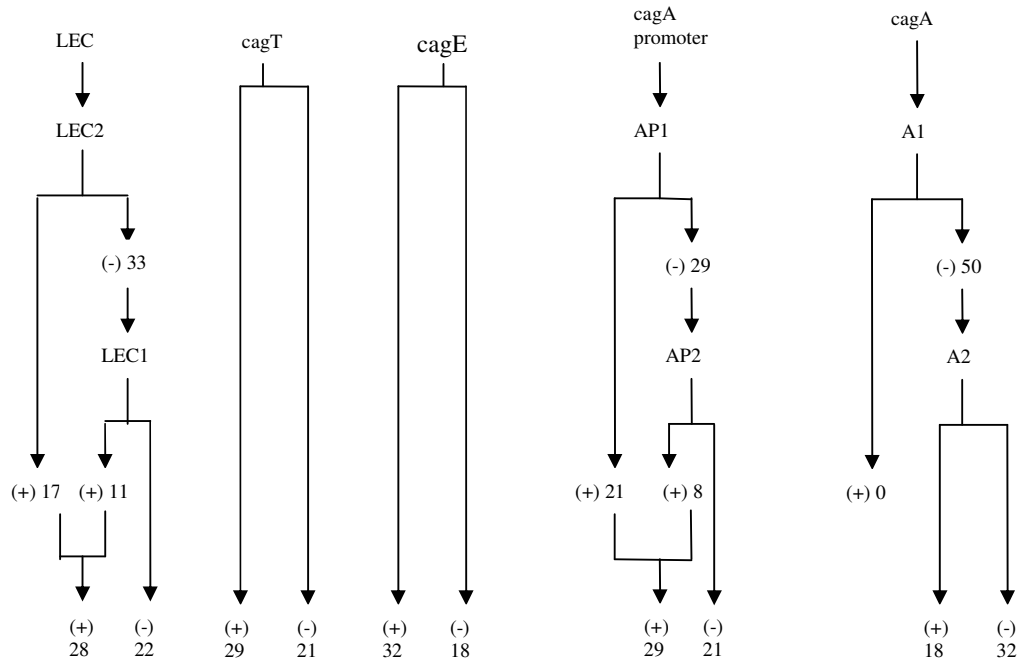
Çalışmaya alınan 50 hastanın (28'i kadın, 22'si erkek) yaş ortalamaları 48.6 ± 12.5 idi. Gastritli hastaların 4'ünde (%20), NUD hastalarının 1'inde (%11.1) ve ülserli hastaların 5'inde (%23.8) cagPAI intakt olarak saptandı. Toplam 50 hastanın

10'unda (%20) intakt cagPAI saptanırken 7 hastada (%14) total delesyon saptandı (tablo 6). Şekil 14'de tüm gen bölgelerinin PCR görüntüleri yer almaktadır. Toplam 18 hastada (%36) cagA, 29 hastada (%58) cagA promoter bölgesi, 29 hastada (%58) cagT, 28 hastada (%56) LEC bölgesi, 32 hastada (%64) cagE bölgesi saptandı (şekil 15).

Tablo 6: cagPAI genlerinin dağılımının PCR sonuçları. On hastada intakt cagPAI, 7 hastada da total delesyon saptandı.

Klinik durum (n)	İntakt cagPAI	cagPAI total delesyon
Gastrit (20)	4 (%20)	4 (%20)
Ülser (21)	5 (%23.8)	2 (%9.5)
NUD (9)	1 (%11.1)	1 (%11.1)
Toplam (50)	10 (%20)	7 (%14)

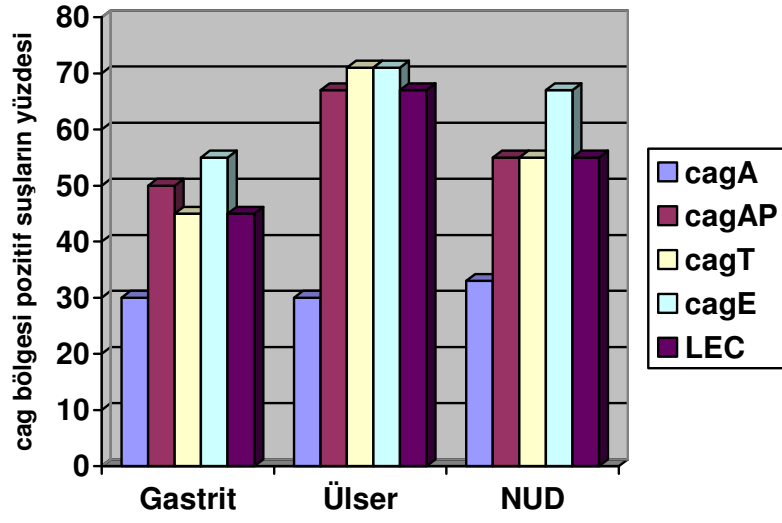
Ülserli hasta grubunda cagE ve cagT 21 hastanın 15'inde (%71.4) pozitif olarak saptanırken 9 (%30) hastada cagA pozitif saptandı. Çalışmada cagE'nin varlığı cagA ile değil cagT ile bağlantılı bulunmuştur (Fisher's Exact Test, $p=0.003$). LEC ve cag promoter bölge benzer şekilde ülserli hastaların 14'ünde (%66.6), gastritli hastaların 10'unda (%50) ve NUD hastalarının 5'inde (%55.5) mevcuttu. Sonuçlar tablo 7 de sunulmaktadır. Ülser, gastrit ve nonülserdispepsi hasta gruplarında bu beş gen bölgesinin varlığı ile klinik sonuç arasında istatistiksel olarak bir bağlantı görülmemekle ($p>0.05$) birlikte cagE, cagT, cag promoter bölgesi ve LEC bölgesi ülser hastalarında gastrit ve nonülserdispepsi vakalarından daha yüksekti (şekil 16).



Şekil 15: 50 *H. pylori* izolatında cagPAI genlerinin PCR çalışmasının sonuçları.

Tablo 7: cagPAI heterojenitesi ile klinik durum arası ilişki. NUD: Nonülser dispepsi

Klinik durum (n)	cagA	CagAP	cagT	cagE	LEC
Gastrit (20)	6 (%30)	10 (%50)	9 (%45)	11 (%55)	9 (%45)
Ülser (21)	9 (%30)	14 (%66.6)	15 (%71.4)	15 (%71.4)	14 (%66.6)
NUD (9)	3 (%33.3)	5 (%55.5)	5 (55.5)	6 (%66.6)	5 (%55.5)
Toplam (50)	18 (%36)	29 (%58)	29 (%58)	32 (%64)	28 (%56)



Şekil 16: cagPAI gen heterojenitesi ve klinik sonuç arasındaki ilişki. NUD: Nonülser dispepsi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Helicobacter pylori enfeksiyonu bütün dünyada oldukça yaygın olarak görülen kronik bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Dünya nüfusunun %70-90'ı bu bakteri ile enfektedir. *H pylori* gastrit, peptik ülser, gastrik mukoza ile ilişkili lenfatik doku lenfoması ve gastrik adenokarsinomaya neden olması nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur. Amerika'da (Ulusal Sağlık Enstitüsü-NIH), Avrupa'da (Maastricht konsensus toplantısı) ve Kanada'da (Canadian konsensus toplantısı) bu hastalığın antibiyotikle tedavisi önerilmektedir (1,2). *H pylori* enfeksiyonunun tedavisinde henüz ideal bir tedavi rejimi bulunmamakla birlikte tedavide kombine antibiyotik kullanımı gerekmektedir. *H pylori*'de antibiyotiklere karşı gelişen direnç tedavide başarısızlığa neden olmaktadır (13). Son yıllarda bu direnç oranının artması *H pylori*'de antimikrobiyal ajanlara direncin önemini artırmıştır. Klaritromisin, metronidazol, amoksisilin, tetrasiklin ve siprofloksasin enfeksiyonun tedavisinde seçilen antimikrobiyal ajanlardır (12).

Metronidazol nötr pH'da noniyonizedir. Düşük pH'da iyonize hale gelir ve gastrik bariyeri geçer. Nitroimidazol grubundan olan metronidazol bakteri sitoplazmasına inaktif ön ilaç olarak girer. *H pylori* oksijene duyarsız nitroredüktaz enzimleri ile metronidazolü aktive eder. Nitroredüktaz enzimlerinin kodlanmasında rdxA ve frxA genleri sorumludur. Metronidazol DNA, RNA, proteinler, yağ asitleri gibi yaşamsal moleküller üzerine etkilidir. Nitroredüktaz ve/veya flavin oksidoredüktaz enzimlerinin inaktivasyonu ile *H pylori*'de metronidazol direnci gelişmektedir. rdxA geninde 'frame shift' (çerçeve kaydırma) ve anlamsız mutasyonlar metronidazol MIK değerlerini çok yükseltir. frxA genindeki mutasyonlar ise daha düşük düzeyde dirençten sorumludurlar. Metronidazol direncinde standart metodlara güvenilmemektedir, çünkü testlerin standardizasyona ihtiyacı vardır. Bu nedenle rutin olarak metronidazol direnç testinin yapılması önerilmemektedir (12,67,70). 2005 konsensus raporunda birinci basamak tedavide PPI, klaritromisin, amoksisilin veya metronidazol tavsiye edilmektedir. Metronidazol direncinin %40'dan az olduğu toplumlarda, metronidazol içeren birinci basamak tedaviler önerilmektedir (64). Bölgeler arasında farklılıklar olmakla birlikte Avrupa'da metronidazol direnci %30 düzeyindedir (67). Qing Hao ve ark. (71) *H pylori*'de %40, Ziemniak ve ark. (72)

%46.7, Hu CT ve ark. (73) %51.9 oranında metronidazol direnci saptamışlardır. Ülkemizde ise metronidazol direnci %50 civarındadır (13,74,75). Bizim çalışmamızda da bölgemizdeki *H pylori* metronidazol direnç oranı biraz daha düşük (%41.9) olarak saptanmıştır.

Amoksisilin bakteri hücre duvar sentezini inhibe ederek etkisini gösterir. Bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı gelişen direnç beta-laktamaz üretimlerine, penisilin bağlayan proteinlerdeki (PBP) yapısal değişikliklere veya hücre duvar sentezindeki diğer proteinlerin değişimine bağlı olarak gelişir. *H pylori*'de 7 PBP tanımlanmıştır. *H pylori*'ye özgü beta-laktamazda saptanmıştır. Fakat bu beta-laktamazların amoksisiline karşı gelişen dirençten sorumlu olduğu gösterilememiştir. Dirençli suşlarda PBP-D sentezi tespit edilememiştir. Yapılan son çalışmalar, PBP-1A'da serin-arjinin değişiminin yüksek düzeyde amoksisilin direncinden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Tüm dünyada amoksisilin direnci %1'in altında olduğu bildirilmiştir (12,67). 2007 yılında ise Tayvan'da amoksisilin direnci %36.1 olarak saptanmıştır (73). Biz de çalışmamızda amoksisilin direncini bir izolatta (%3.2) saptadık. Oranın yüksek olması çalışılan suş sayısının az olmasına bağlı olarak değerlendirildi.

Tetrasiklinler ise ribozomların 30S alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe ederek antibakteriyel etkisini gösterir. Tetrasikline karşı *H pylori*'de gelişen dirençte 16S rRNA'daki mutasyonların önemli olduğu bildirilmektedir. *H pylori* 181 suşunda bu mutasyon 16S rRNA'daki 3 baz çifti yer değişimine bağlı olduğu AGA 926-928 TTC değişimi bildirilmiştir (12,67). Qing Hao ve ark. (71) 2004 yılında *H pylori*'de tetrasiklin direncini %6.7 olarak bildirmekle birlikte dünyada tetrasiklin direnci %1'in altındadır (67). Ülkemizde ise tetrasiklin direnci %4'lerde bildirilmektedir (74,75). Çalışmamızda bölgemiz tetrasiklin direnci %3.2 olarak tek suşta pozitif saptanmıştır.

Makrolid grubundan olan klaritromisin, ribozomların 50S alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe ederek antimikrobiyal etkisini gösterir. Klaritromisin direnci 23S rRNA'nın V domaininde peptidil transferazı kodlayan bölgedeki spontan tek nokta mutasyonu nedeniyle, hedef bölgedeki modifikasyonlara bağlı olarak bakteriyel ribozomun 23S rRNA komponentlerine makrolidlerin

bağlanmasındaki eksikliğe bağlıdır (2,76). Yapılan çalışmalar klaritromisin direncinde sorumlu olan ana mekanizmaların 23S rRNA geninin 2143(A2143G) veya 2144(A2144G) nükleotid pozisyonunda A'den G'e veya 2143(A2143C) nükleotid pozisyonunda A'den C'e dönüşüm (transition) ile meydana gelen mutasyonun olduğunu göstermiştir. Guanine dönüşüm (A2143G, A2144G) çok yaygın mutasyon tipi olup sitozine dönüşüm (A2143C) ise nadiren oluşur. A2142G mutasyonu da sık olarak tanımlanmıştır. Diğer mutasyonlar A2115G, G2141A ve T2717C olarak tanımlanmıştır. 2717'deki dönüşüm 23S rRNA'nın yüksek derecede korunmuş bölgesinde domain IV olarak bilinen (elongation factor binding site) fonksiyonel bir alan ile ilişkilidir. Bu bölge 23S rRNA'nın sekonder yapısını yüksek derecede etkiler ve bunun makrolidlerle etkileşiminde 2717 pozisyonunda A'den C'e dönüşümünde klaritromisin direncinden sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir (2,76,77). Klaritromisin direnç prevalansı coğrafik olarak farklılık göstermekle birlikte dünya çapında artmaktadır. Qing Hao ve ark. (71) *H pylori*'de %23.3, Ziemniak ve ark. (72) %22.2, Hu CT ve ark. (73) %13.5 oranında klaritromisin direnci saptamışlardır. Avrupa'da klaritromisin direnci güney bölgelerinde %18, kuzeyde %4 olup toplamda %10 civarında bildirilmiştir (67). Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise klaritromisin direncinde son yıllarda giderek artış saptanarak %55'lere varan direnç oranları bildirilmektedir (15,74,75,78,79). Bizim çalışmamızda da klaritromisin direnci E test ve FISH yöntemlerinin her ikisi ile de %41.9 olarak saptanmış olup son yıllarda yapılan diğer çalışmalara benzerlik göstermektedir. FISH yönteminde klaritromisin direncinden sorumlu olan ana mekanizmalar olan 23S rRNA genindeki üç ayrı (A2143G, A2144G ve A2143C) nokta mutasyonunu saptayacak proplar kullanılmaktadır. Bağlan ve ark. (15) FISH yöntemi ile yaptıkları bir çalışma da klaritromisin direncini %35.5 olarak bildirmişlerdir. *H pylori*'de klaritromisin direncinin saptanmasında E test ve FISH yönteminin karşılaştırıldığı birçok çalışmada FISH'in duyarlılığının yüksek ve güvenilir olduğu bildirilmiştir (64,80,81). Bizim çalışmamızda da *H pylori* suşları arasında uygulanan her iki yöntemle de klaritromisin direncinin saptanmasında fark saptanmamıştır. Bu sonuçta bize her iki yönteminde klaritromisin direncinin belirlenmesinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Kinolon direnci ise son yıllarda giderek artmaktadır. Kinolon rezistans saptama bölgesindeki (QRDR) nokta mutasyona bağlı direnç geliştiği bildirilmektedir. Ayrıca efflux mekanizması ile de direnç gelişebilir (67,82). Ülkemizde %5.9-%8 gibi direnç

oranları bildirilmiştir (74,75). Bizim bölgemiz *H pylori* siprofloksasin direnci ise %45.2 olarak bulunmuştur. Saptanan bu direnç oranı az sayıda olan diğer çalışmalardan yüksek saptanmıştır. Klaritromisin ve siprofloksasinin *H pylori* tedavisi dışında diğer enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde de artan yaygın kullanımına bağlı olarak direnç oranlarının da arttığı düşünülmektedir.

H pylori'nin klinik sonuçları multifaktöriyeldir. Konağın immün cevabı, patojenin virülans faktörleri ve yerleşim özellikleri ile ilişkilidir (5). *H pylori*'nin majör virülans faktörünün cagPAI olduğu düşünülmektedir (4). cagPAI genleri ya aralıksız olarak ya da araya giren insersiyon segment IS605 ile ayrılmış sağ cagPAI-I ve sol cagPAI-II olarak tanımlanan iki alt üniteden oluşur. Sırası ile 14 ve 16 ORF (open reading frame)'den oluşan bir gen bölgesidir. Bu gen adası virülansla ilgili tip IV sekresyon sisteminde rol alan proteinleri kodlar (4-6). cagA pozitif *H pylori* ile enfeksiyonun atrofik gastrit, peptik ülser, gastrik kanser ve MALT lenfoma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (48,83,84,85).

H pylori'nin oluşturduğu kronik enfeksiyon, konağın immün direnciyle ortaya çıkan selektif baskının sonucu genetik değişikliklere yol açar. Bu nedenle *H pylori* suşları arasında genetik farklılıklar görülür. Bu genetik farklılıkların altında yatan mekanizmalar bilinmemektedir. Hastalığın şiddeti ve belirli bir genotipin varlığıyla ilişkili olarak belli bölgelerdeki virulan suşların prevalansı önemli epidemiyolojik etkiye sahiptir (5,11). Jenk ve ark.(86) tarafından yapılan çalışmada intakt cagPAI varlığı duodenal ülserlerle yüksek oranda bağlantılı bulunmuştur, fakat cagA, cagE ve cagT dahil bazı cagPAI genlerinin analiziyle *H pylori* enfeksiyonunun klinik sonucu öngörilemeyeceği bildirilmiştir. Çalışmalarında cagE'nin varlığını cagT ile değil ama cagA ile ilişkili olarak saptamışlardır. Ikenoue ve ark.(4) 'nın çalışmasında ise cagE ve cagT ülser vakalarıyla %96.6 oranında bağlantılı olarak bildirilmiştir. Çalışmada cagE'nin varlığı cagA ile değil cagT ile bağlantılı olarak bulunmuştur. Bu da dünyadaki *H pylori* cagPAI genlerinin suş çeşitliliğine işaret etmektedir. Parsiyel veya total delesyonu olan suşların intakt cagPAI içeren suşlara göre hastalığın progresyonu için daha zayıf etkiye sahip olduğu ve cagA'nın kendisi değil cagA promoter bölgesinin daha iyi bir virülans markırı olacağı bildirilmiştir. Ancak cagA geni promoter bölge dizilimlerinin çeşitliliğinden dolayı bu bölgeyi tespit edecek spesifik primerleri oluşturmak zordur. cagE geni cagA geni promoter bölgesinin yanında

lokalize olduğundan ve tutarlı bir şekilde bu bölgede bulunduğundan cagE genini cagA promoter bölgesinin yerine seçmenin mantıklı olacağını bildirmişlerdir. Kauser ve ark.'nın (5) yaptıkları çalışmada Asya gen havuzunu temsil eden suşların %33.33'ünde intakt cagPAI saptanırken Avrupa, Afrika ve Amerika suşlarının %10.25'inde intakt cagPAI saptanmıştır. İntakt cagPAI aynı zamanda yüksek oranlarda gastrik kanserlerin görüldüğü Japon izolatlarında en yüksek oranda (%57.1) saptanmıştır. Çalışılan tüm coğrafi bölgelerde cagPAI içindeki delesyonu olan suşlar intakt cagPAI içeren suşlardan daha yaygın olarak bulunmuştur. Dünyadaki suşların %72.8'inde cagA geni bulunurken %82'sinde cagE ve cagT geni saptanmış ve cagA geninin intakt cagPAI'nın tek başına belirleyicisi olamayacağı bildirilmiştir. Benign olgularda cagA, cagE, cagT delesyon sıklığı gastrik kanser ve şiddetli ülserli hastaların izolatlarından daha yüksek olarak bulunmuştur. Aksine şiddetli patolojisi olanlarda cagA promoter ve cagPAI'nın sol uç bölgesinin delesyonu veya yeniden düzenlenmesi daha sık olarak saptanmıştır. Çalışmada gastrik kanserler de dahil ağır patoloji ile bağlantılı suşlarda intakt cagPAI gösterilememiştir. Bizim çalışmamızda 50 suşun 10'unda (%20) intakt cagPAI saptandı. Fakat intakt cagPAI ile klinik sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. (Fisher's Exact Test, $p>0.05$). Bu da kronik enfeksiyon durumlarında intakt cagPAI bulunan suşların başlangıçtaki hasardan çok sonra adacağı yeniden yapılandırmasının mümkün olabileceği görüşünü desteklemektedir. cagPAI varlığı ve hastalık tipi arasındaki bağlantıyı tanımlayan çalışmalar bulunmasına rağmen cagPAI genotiplerinde genotip-fenotip korelasyonu olup olmadığı zor bir konudur. Hastalık gelişiminde tam veya kısmi olarak cagPAI'nın patojenik rolü henüz tam olarak anlaşılammıştır. Virülans potansiyelleri açısından farklı *H pylori* suşları mikst bir enfeksiyonda kolonize olabilir ve rekombinant suşlar ortaya çıkabilir. Bu nedenle gastrik ülser ve kanserli hastalarda yeniden düzenlenmiş cagPAI'a sahip suşlar izole edilebilir (5).

Salih ve ark(11) intakt cagPAI, cagE ve cagT delesyonlarını gastrit ve ülser hasta grubunda benzer oranda bulmuşlardır. Çalışmalarında cagA, cagA promoter bölge, oipA (Hp 0638), JHP912 ve JHP931 ORF bölgeleri ve vacAs1a-m1a daha benign patolojilerle karşılaştırıldığında peptik ülser hastalığı suşlarında daha belirgin oranda saptanmıştır. Bununda hastalığın sonucu ve progresyonu ile belirli genotipler arasında muhtemel bir bağlantıya işaret ettiğini bildirmişlerdir. Tiwari ve ark.(6)

tarafından yapılan çalışmada ise *H pylori* ile enfekte NUD ve ülserli hastaların *cagPAI*'nin durumu arasında belirgin ilişki saptanmamakla birlikte *cagE* ve *cagT*'nin *cagA*'ya göre daha güvenilir markırlar olduğu gösterilmiştir. *cagPAI* genlerinin klinik sonuçlarla ilişkisi açısından karşılaştırıldığında *cagT*'nin hastalığın sonucunu belirleyen majör gen olabileceği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda vakaların %64'ünde *cagE*, %58'inde *cagT* saptanırken %36'sında *cagA* saptanmıştır. Çalışmamız ülser, gastrit ve nonülser dispepsi hasta grupları ile *cagPAI* durumu arasında anlamlı bir ilişki ortaya koymamıştır ($p>0.05$) (şekil 15). *cagE*'nin varlığı *cagA* ile değil *cagT* ile bağlantılı olarak bulunmuştur (Fisher's Exact Test, $p=0.003$). Çalışmamız *cagA* geninin intakt *cagPAI*'nin tek başına belirleyicisi olamayacağı ve *cagPAI* varlığını doğrulamada *cagE* ve *cagT*'nin *cagA*'ya göre daha güvenilir markırlar olabileceğini gösteren çalışmalara destek olmaktadır. Bununla birlikte *cagA* promoter bölgesi %58, LEC bölgesi ise %56 oranında gösterilmiştir. Bu da bu iki geninde virülansa katkıda bulunduğunu desteklemektedir.

Sonuç olarak muhtemelen virülans tek bir virülans faktöründen çok dış membran proteinleri, *iceA*, plasticity bölgesi ve *vacA* gibi *cagPAI* dışındaki birçok faktörün kombinasyonu sonucu gelişmektedir. Kişinin genetik yapısı ve patojene ait muhtemel virülans genlerinin tamamına ait bir sonuç olarak hastalık gelişir. Bizim çalışmamızda da *cagPAI* gen dağılımları, diğer faktörlerinde hastalık gelişimine katkıda bulunacağı varsayımını destekler şekilde ülser, gastrit ve NUD suşları arasında benzer şekilde saptanmıştır. Ancak belirli bir PCR ürününün saptanamaması bu bölgenin olmadığı anlamına gelmez. Bu gen bölgeleri hastalığın başlangıcından çok sonra delesyona uğramış olabilir veya farklı *H pylori* suşları ile mikst bir enfeksiyon var olabilir. *H pylori* enfeksiyonlarının klinik sonuçları ve gen dağılımları ile ilişkisinin daha iyi anlaşılması için DNA dizilim çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Çalışmamız bölgemiz *H pylori* antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi, intakt *cagPAI* ve *cagPAI* gen delesyonları ve bunların hastalıklarla bağlantısını araştıran ilk çalışmadır. Bu nedenle bölgemizde *H pylori* ampirik tedavisinin belirlenmesinde yol gösterici olacaktır. Ancak çok sayıda suşun kliniko-epidemiolojik olarak tanımlanması, patolojik özelliklerinin araştırılması ve *cagPAI* gen dağılımları ve klinik sonuçları arasında ilişkiyi araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ek 1: 31 *H pylori* suşu için, klaritromisin, amoksisilin, siprofloksasin, metronidazol ve tetrasiklinin E-test yöntemi ile tesbit edilen MIC değerleri (MIC değerleri µg/ml cinsinden verilmiştir.)

Sıra no	Klaritromisin	Amoksisilin	Metronidazol	Siprofloksasin	Tetrasiklin
1	0,023	0,047	> 256	> 32	0,47
2	< 0,016	< 0,016	24	0,016	< 0,016
3	0,016	0,016	0,023	2	0,016
4	0,064	0,016	0,094	0,032	0,023
5	>256	< 0,016	< 0,016	0,03	< 0,016
6	0,016	0,016	256	0,012	0,016
7	0,016	0,016	0,38	0,012	0,016
8	0,023	0,032	>256	>32	0,047
9	< 0,016	0,016	>256	>32	0,016
10	0,047	0,016	0,094	32	0,25
11	> 256	< 0,016	>256	0,023	< 0,016
12	0,94	0,016	0,25	>32	0,023
13	> 256	0,32	1	> 32	0,64
14	0,032	< 0,016	0,125	> 32	0,38
15	0,016	0,016	0,032	0,64	< 0,016
16	12	< 0,016	96	0,016	< 0,016
17	0,75	< 0,016	32	0,006	< 0,016
18	0,023	0,064	0,094	> 32	0,094
19	96	0,016	0,032	12	0,016
20	>256	0,032	1,5	24	0,016
21	6	>256	>256	1,5	>256
22	32	< 0,016	0,094	0,06	< 0,016
23	128	< 0,016	256	>32	0,016
24	0,016	0,016	0,38	32	0,047
25	4	0,016	>256	0,38	< 0,016
26	0,047	0,016	0,19	0,094	0,094
27	< 0,016	< 0,016	< 0,016	< 0,02	< 0,016
28	64	0,016	0,023	> 32	< 0,016
29	24	< 0,016	> 256	> 32	0,016
30	> 256	< 0,016	> 256	0,64	0,64
31	0,094	0,016	0,016	0,08	0,016

KAYNAKLAR

1. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. Clinical Microbiology Reviews 1997;720-41.
2. Aslan G, Serin MS, Tezcan S. *Helicobacter pylori*'nin 23S rRNA'sında nokta mutasyonu ve klaritromisin direncinin PZR-RFLP analizi ile gösterilmesi. . IV. Ulusal Sindirim Yolu ile Bulaşan İnfeksiyonlar Simpozyumu (16-20 Mayıs 2005) kitabı.73-80.
3. Köksal F. *Helicobacter pylori* tanısında kullanılan moleküler yöntemler. 3. Uusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi Program ve Bildiri Özet Kitabı 2004;99-111.
4. Ikenoue T, Maeda S, Ogura K et al. Determination of *Helicobacter pylori* virulence by simple gene analysis of *cag* pathogenicity island. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 2001;181-6.
5. Kauser F, Khan AA, Hussain MA et all. The *cag* pathogenicity island of *Helicobacter pylori* Is disrupted in the majority of patient isolates from different human populations. Journal of Clinical Microbiology 2004;5302-8.
6. Tiwari SK, Khan AA, Ahmed KS et all. Polymerase chain reaction based analysis of the cytotoxin associated gene pathogenicity island of *Helicobacter pylori* from saliva: An approach for rapid molecular genotyping in relation to disease status. Journal of Gastroenterology and Hepatology 2005;1560-6.
7. Censini S, Lange C, Xiang Z et all. *Cag* a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:14648-53.
8. Nilsson C, Sillen A, Eriksson L et all. Correlation between *cag* pathogenicity island composition and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease. Infection and Immunity 2003;6573-81.
9. Sharma SA, Tummuru MK, Blaser MJ, Kerr LD. Activation of IL-8 gene expression by *Helicobacter pylori* is regulated by transcription factor nuclear factor-kappa B in gastric epithelial cells. J Immunol 1998;160:2401-7.
10. Kim JM, Kim JS, Jung HC et all. Inhibition of *Helicobacter pylori*-induced nuclear factor-kappa B activation and interleukin-8 gene expression by ecabet sodium in gastric epithelial cells. *Helicobacter* 2003;8:542-53.

11. Salih BA, Abasiyanik MF, Ahmed N. A preliminary study on the genetic profile of *cag* pathogenicity-island and other virulent gene loci of *Helicobacter pylori* strains from Turkey. *Infect Genet Evol* 2007;7:509-12.
12. Yılmaz YÖ. *Helicobacter pylori*'de antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oluşturan mekanizmalar ve moleküler tanı yöntemleri. 3. Uusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi Program ve Bildiri Özet Kitabı 2004.42-4.
13. Akyön Yılmaz Y. *Helicobacter pylori*: Bakteriyojik özellikleri ve antibiyotik direnci. XXXI. Türk mikrobiyoloji kongresi kitabı. 2004.106-8.
14. Şimşek İ. Maastricht-3 2005 Işığında *Helicobacter pylori* tanı ve tedavisi. *Helicobacter pylori* sempozyumu kitapçığı (9-11 Kasım 2005).20-7
15. Bağlan PH, Bektaş M, Çınar K, Bozdayı AM, Özden A. *Helicobacter pylori* suşlarının klaritromisine direnç prevalansının 'Floresan İn Situ Hibridizasyon' yöntemi ile belirlenmesi:www.hemakim. com.tr.
16. Köksal F. *Helicobacter pylori*. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri;2002.1643-7.
17. Versalovic J, Fox JG. *Helicobacter*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 6th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005. 915-28.
18. Curved gram-negative bacilli and oxidase-positive fermenters: *Camylobacteraceae* and *Vibrionaceae*. In: Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G (eds). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 7th ed. Philadelphia: Lipincott Wilkins;2006.392-428.
19. Akyön Yılmaz Y. *Helicobacter pylori*: mikrobiyolojik tanı yöntemleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004; 35:182-6.
20. Parsonnet J, Hansen S, Rodriquez L et all. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *N Engl J Med* 1994;330:1310-1.
21. Talley NJ, Richter J. Nobel prize in medicine awarded to a gastroenterologist in 2005. *American Journal of Gastroenterology* 2006; 101:211.
22. Akyön Yılmaz Y. *Helicobacter pylori*: Nereden nereye? *Helicobacter pylori* sempozyumu kitapçığı (9-11 Kasım 2005).9-11
23. Kadanalı A, Özkurt Z. *Helicobacter pylori* infeksiyonu: Epidemiyoloji, patogenezi ve ilişkili hastalıkları. *Klimik Dergisi* 2004; 17:146-50.

24. Akin L, Tezcan S, Hascelik G, Cakir B. Seroprevalence and some correlates of *Helicobacter pylori* at adult ages in Gülveren Health District, Ankara, Turkey. *Epidemiol Infect* 2004;132:847-56.
25. Vandamme P, Falsen E, Rossau R et al. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. Nov. *Int J Syst Bacteriol* 1991; 41:88-103.
26. Vandamme P, Falsen E, Pot B, Kersters K, De Ley J. Identification of *Campylobacter cinaedi* isolated from blood and feces of children and adult females. *Journal of Clinical Microbiology* 1990;1016-20.
27. Orlicek SL, Welch DF, Kuhls TL. Septicemia and meningitis caused by *Helicobacter cinaedi* in a neonate. *Journal of Clinical Microbiology* 1993;569-71.
28. Kiehlauch JA, Tauxe RV, Baker CN, Wachsmuth IK. *Helicobacter cinaedi*-associated bacteremia and cellulitis in immunocompromised patients. *Annals of Internal Medicine* 1994;121:90-3.
29. Dubois A, Tarnawski A, Newell DG et al. Gastric injury and invasion of parietal cells by spiral bacteria in rhesus monkeys. Are gastritis and hyperchlorhydria infectious diseases? *Gastroenterology* 1991;100:884-91.
30. Hachem CY, Clarridge JE, Evans DG, Graham DY. Comparison of agar based media for primary isolation of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol* 1995;48:714-6.
31. Mendz GL, Hazell SL. Aminoacid utilization by *Helicobacter pylori*. *Int J Biochem Cell Biol* 1995;27:1085-93.
32. Mendz GL, Hazell SL, Burns BP. The Entner-Doudoroff pathway in *Helicobacter pylori*. *Arch Biochem Biophys* 1994;312:349-56.
33. Yalınay Çırak M. *Helicobacter pylori* fizyopatolojisi. IV. Ulusal Sindirim Yolu ile Bulaşan İnfeksiyonlar Simpozyumu kitabı (16-20 Mayıs 2005). 50-7.
34. Bauerfeind P, Garner RM, Mobley HL. Allelic exchange mutagenesis of *nixA* in *Helicobacter pylori* results in reduced nickel transport and urease activity. *infection and immunity* 1996;2877-80.
35. van Vliet AHM, Poppelaars SW, Davies BJ et al. NikR mediates nickel-responsive transcriptional induction of urease expression in *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 2002;70:2846-52.

36. Pride DT, Meinersmann RJ, Blaser MJ. Allelic variation within *Helicobacter pylori* babA and babB. *infection and immunity* 2001;1160-71.
37. Yu J, Leung WK, Go MY et al. Relationship between *Helicobacter pylori* babA2 status with gastric epithelial cell turnover and premalignant gastric lesions. *Gut* 2002;51:480-4.
38. Blanchard TG, Drakes ML, Czinn SJ. *Helicobacter* infection: pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol* 2004;20:10-5.
39. Yamaoka Y, Kikuchi S, el-Zimaity HM et al. Importance of *Helicobacter pylori* oipA in clinical presentation, gastric inflammation, and mucosal interleukin 8 production. *Gastroenterology* 2002;123:414-24.
40. Guo T, Qin JM, Zhang JZ, Li XB, Zhao YO. Effects of *Helicobacter pylori* and *Helicobacter pylori* –related cytokines on apoptosis of gastric epithelial cells and mechanism thereof. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2006; 86:2670-3.
41. Blaser MJ, Parsonnet J. Parasitism by the ‘slow’ bacterium *Helicobacter pylori* leads to altered gastric homeostasis and neoplasia. *The Journal of Clinical Investigation* 1994;4-8.
42. Appelmelk BJ, Simoons-Smit I, Negrini R et al. Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolisaccharide and host Lewis blood group antigens in autoimmunity. *Infection and Immunity* 1996;2031-40.
43. Hynes SO, Broutet N, Eurohepygast Study Group M et al. Phenotypic variation of *Helicobacter pylori* isolates from geographically distinct regions detected by lectin typing. *J Clin Microbiol* 2002;40:227-32.
44. Mattar R, Marques SB, Monteiro Mdo S et al. *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island genes: clinical relevance for peptic ulcer disease development in Brazil. *J Med Microbiol* 2007;56:9-14
45. Maeda S, Yoshida H, Ikenoue T et al. Structure of cag pathogenicity island in Japanese *Helicobacter pylori* isolates. *Gut* 1999;44:336-41.
46. Rudi J, Kolb C, Maiwald M et al. Diversity of *Helicobacter pylori* vacA and cagA genes and relationship to VacA and cagA protein expression, cytotoxin production and associated diseases. *J Clin Microbiol* 1998;944-8.
47. Tsutsumi R, Takahashi A, Azuma T, Higashi H, Hatakeyama M. Focal adhesion kinase is a substrate and downstream effector of SHP-2 complexed with *Helicobacter pylori* cag A. *Mol Cell Biol* 2006;26:261-76.

48. Akhter Y, Ahmed I, Devi S, Ahmed N. The co-evolved *Helicobacter pylori* and gastric cancer: trinity of bacterial virulence, host susceptibility and lifestyle. *Infect Agents Cancer* 2007;2:1-5.
49. Nishiya D, Shimoyama T, Yoshimura T et al. Genes inside the cagPAI of *Helicobacter pylori* are not associated with gastric cancer in Japan. *Hepatogastroenterology* 2004;51:891-4.
50. Ali M, Khan AA, Tiwari SK, Habibullah CM. Association between cag-pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from peptic ulcer, gastric carcinoma, and non-ulcer dyspepsia subjects with histological changes. *World J Gastroenterol* 2005;11:6815-22.
51. Cover T, Cao P, Lind CD, Tham KT, Blaser MJ. Correlation between vacuolating cytotoxin production by *Helicobacter pylori* isolates in vitro and in vivo. *Infection and Immunity* 1993;5008-12.
52. Cover TL. The vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol* 1996;20:241-6.
53. Cover TL, Krishna US, Israel DA, Peek RM Jr. Induction of gastric epithelial cell apoptosis by *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin. *Cancer Res* 2003;63:951-7.
54. Prinz C, Schoniger M, Rad R et al. Key importance of the *Helicobacter pylori* adherence factor blood group antigen binding adhesin during chronic gastric inflammation. *Cancer Res* 2001;61:1903-9.
55. Hocker M, Hohenberger P. *Helicobacter pylori* virulence factors-one part of a big Picture. *Lancet* 2003;362:1231-3.
56. Saribasak H, Salih BA, Yamaoka Y, Sander E. Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42:1648-51.
57. Peek RM Jr, Thompson SA, Donahue JP 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;110:531-44.
58. Buck GE. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. *Clinical Microbiology Reviews* 1990;1-12.
59. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Perez-PerezGI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and the risk for duodenal and gastric ulceration. *Ann Intern Med* 1994;120:977-81.

60. Demiray M, Manavođlu O. *Helicobacter pylori* ve gastric karsinogenez. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dergisi 2003;29:29-33.
61. Franceschci F, Gasbarrini A. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2007;21:325-34.
62. Yılmaz Ö. *H pylori*: Kültür dışı tanı yöntemleri. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongre kitabı 2004.109-11.
63. Rüssmann H, Adler K, Haas Ret all. Rapid and accurate determination of genotypic claritromycin resistance in cultured *Helicobacter pylori* by flurescent in situ hybridization. J Clin Microbiol 2001;41:42-4.
64. Ünal S. Eriřkinlerde güncel *Helicobacter pylori* tedavisi. *Helicobacter pylori* sempozyumu kitapçığı (9-11 Kasım 2005).70-6.
65. Köksal AS, Parlak E, Filik L et all. Ranitidine bismuth citrate-based triple therapies as a secon-line therapy for *Helicobacter pylori* in Turkish patients. J Gastroenterol Hepatol 2005;20:637-42:
66. Gumurdulu Y, Serin E,Ozer B et all. Low eradication rate of *Helicobacter pylori* with triple 7-14 days and quadruple therapy in Turkey. World J Gastroenterol. 2004;10:668-71.
67. Megraud F. Current status of antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter pylori* sempozyumu kitapçığı (9-11 Kasım 2005).81-4.
68. Mishra KK, Srivastava A, Garg A, Ayyagari A. Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* clinical isolates: comparative evaluation of disk-diffusion and E-test methods. Current Microbiology 2006;53:329-34.
69. Heep M, Kist M, Strobel S, Beck D, Lehn N. Secondary resistance among 554 isolates of *Helicobacter pylori* after failure of therapy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000;19:538-41.
70. Megraud F. Epidemiology and mechanism of Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 1998;115:1278-82.
71. Hao Q, Li Y, Zhang ZJ, Liu Y, Gao H. New mutation points in 23S rRNA gene associated with *Helicobacter pylori* to claritromycin in northeas China. World J Gastroenterol 2004;10:1075-7.
72. Ziemniak W. Efficaccy of *Helicobacter pylori* eradication taking into its resistance to antibiotics. J Physiol Pharmacol 2006;57:123-41.
73. Hu CT, Wu CC, Lin CY et al. Resistance rate to antibiotics of *Helicobacter pylori* isolates in eastern Taiwan. J Gastroenterol Hepatol 2007;22:720-3.

74. Kantarçeken B, Yıldırım B, Karıncaoğlu M, Aladağ M, Hilmioğlu F. *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance. The Turkish Journal of Gastroenterology 2000;11:1-6.
75. Ağel E, Durmaz B, Tefvik MR, Aşgın N. The isolation and antibiotic resistant pattern of *Helicobacter pylori* in dyspeptic patients. Turk J Med Sci 2000;143-6.
76. Lascols C, Lamarque D, Costa JM et al. Fast and accurate quantitative detection of *Helicobacter pylori* and identification of claritromycin resistance mutations in *H pylori* isolates from gastric biopsy specimens by real-time PCR. Journal of Clinical Microbiology 2003;4573-7.
77. Trebesius K, Panthel K, Strobel S et al. Rapid and specific detection of *Helicobacter pylori* macrolide resistance in gastric tissue by fluorescent in situ hybridisation. Gut 2000;46:608-14.
78. Kolaylı F, Karadenizli A, Çelebi A, Bingöl R. *Helicobacter pylori* suşlarının metronidazol, klaritromisin, amoksisiline in vitro duyarlılıkları. İnfeksiyon dergisi 2004;18:473-6.
79. Bağlan PH, Bozdayı G, Özkan M, Özden A. Klaritromisin dirençli *Helicobacter pylori*'nin saptanmasında, E-test ve agar dilüsyon metodlarının karşılaştırılması. Akademik Gastroenteroloji Dergisi 2005;4:83-7.
80. Moosavian M, Tajbakhsh S, Samarbağ-Zadeh AR. Rapid detection of claritromycin-resistant *Helicobacter pylori* in patients with dyspepsia by fluorescent in situ hybridization (FISH) compared with the E-test. Ann Saudi Med 2007; 27:84-8.
81. Rüssmann H, Kempf VAJ, Koletzko S, Heesemann J, Autenrieth IB. Comparison of *Helicobacter pylori* in situ hybridization and conventional culturing for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. J Clin Microbiol 2001;304-8.
82. Glocker E, Kist M. Rapid detection of point mutations in the *gyrA* gene of *Helicobacter pylori* conferring resistance to ciprofloxacin by a fluorescence resonance energy transfer-based real-time PCR Approach. J Clin Microbiol 2004;2241-6.
83. Sozzi M, Tomasini ML, Vindigni C et al. Heterogeneity of *cag* genotypes and clinical outcome of *Helicobacter pylori* infection. J Lab Clin Med 2005;146:262-70.

84. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res* 1995;55:2111-5.
85. Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelman H. Risk for gastric cancer in people with *cagA* positive or *cagA* negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997;40:297-301.
86. Jenks PJ, Mégraud F, Labigne A. Clinical outcome after infection with *Helicobacter pylori* does not appear to be reliably predicted by the presence of any of the genes of the *cag* pathogenicity island. *Gut* 1998;43:752-8.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarım Prof Dr Kaya Kılıçturgay'a, Prof Dr Feridun Gökırmak'a ve Prof Dr Okan Töre'ye, her zaman deneyimlerinden yararlandığım, tezimin oluşumu ve yürütülmesinde büyük emeği olan tez danışmanım Prof Dr Safiye Helvacıya, uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin her aşamasında ilgisini ve desteğini esirgemeyen Doç Dr Cüneyt Özakin'a, yetişmemde büyük emekleri olan Prof Dr Güher Göral'a, Prof Dr Reşit Mıstık'a Prof Dr Beyza Ener'e, Prof Dr Halis Akalın'a, Doç Dr Barbaros Oral'a, Yrd Doç Dr Yasemin Heper'e, Yrd Doç Dr Melda Sınırtaş'a, Yrd Doç Dr Emel Yılmaz'a, Uzm Dr Sevim Akçağlar'a, Uzm Dr Oktay Alver'e, Uzm Dr Canan Evc'i'ye, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma, tez çalışmam sırasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Binnaz Güngör'e ve tüm teknisyen arkadaşlarıma, tezimin çalışılması sırasında desteklerini esirgemeyen Prof Dr Macit Gülten'e, Doç Dr Tahsin Yakut'a, Uzm Dr Murat Keskin'e, Uzm Dr Hüseyin Uslusoy'a, Dr Mutlu Korkucak'a, tezimin istatistiklerini yapan Dr Gökhan Ocakoğlu'na ve tüm Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji çalışanlarına teşekkür ederim. Ayrıca sevgilerini, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme, özellikle de büyük fedakarlıklara katlanarak bugünlere gelmemi sağlayan canım anneme, bana hep destek olup sevgisini ve yardımını her zaman yanımda bulduğum sevgili eşim Kürşat Özbey'e, hayatımın anlamı biricik kızım Elif'e teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

12.10.1975 yılında Tokat'ın Çamlıbel beldesinde doğdum. İlk ve ortaöğrenimimi Çamlıbel'de tamamladıktan sonra Lise öğrenimimi Tokat Gazi Osman Paşa Lise'sinde tamamladım. 1992 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde öğrenime başlayıp 1998 yılında mezun olduktan sonra 1998-2002 yılları arasında Tokat 112 Acil Yardım Servisinde pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2002 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları ABD'da uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evliyim ve bir çocuk annesiyim.