

Helicobacter pylori infeksiyonu tanısında yeni yaklaşımlar

Dr. Cemile SÖNMEZ

Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü

TARİHÇE

Gastrik mukozada sarmal gövdeli bakterilerin mikroskopik olarak görülmesi 1900'lü yıllara kadar uzanır. Mukus tabakasının hemen altında, mukozaya ile temas halinde görülen bu bakteriler 1980'li yıllara kadar kommensal olarak kabul edilmiştir.

1975 yılında Steer mide mukozasında görülen basillerin gastritis oluşumunda etkin olabileceğini bildirdi. 1982'den itibaren iki Avustralyalı araştırmacı Warren ve Marshall tarafından bakteri kültürde üretilene kadar, spekülatif tartışmalar devam etti. Uzun bir tatil nedeniyle kültür plaklarının etüvde bırakılması bilim dünyasının sarmal gövdeli bu bakteri ile tanışmasına sebep olmuştur. İlk kez Nisan 1982 tarihinde izole edilen bakteri, Gram negatif ve sarmal gövdeli yapısı ile Campylobacter genusundaki bakterilere benzediği için Campylobacter pyloridis olarak tanımlanmıştır. Bu tanımlama 1987 yılında nomenklatür kurallarına göre Campylobacter pylori olarak değiştirilmiştir. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalar bakterinin ultrasütrüktürünün ve yağ asidi bileşiminin Campylobacterlere benzemediğini ve genomik analizler, bakterinin Campylobacter genusuna dahil olmadığını göstermiştir. Bakteri, 1989 yılında yeniden adlandırılarak Helicobacter pylori (H. pylori) adını almıştır. Bugün Campylobacteriaceae ailesinde, Helicobacter cinsi içinde incelenen türlerden, insanlar için en önemli tür, H. pylori'dir.

EPİDEMİYOLOJİ

H. pylori infeksiyonları dünyada oldukça yaygındır. Sosyoekonomik koşullar bozuk, aile birey sayısı fazla olan gelişmekte olan ülkelerde populasyonun %70-90'ı H. pylori taşımakta; hemen hemen hepsi infeksiyonu 10 yaşından önce almaktadır. Gelişmiş ülkelerde infeksiyon prevalansı %25-50'dir. Ülkemizde asemptomatik bireylerde H. pylori seroprevalansı; 0-5 yaş grubunda %28, 6-10 yaş grubunda %44, 11-15 yaş grubunda %69, 16-20 yaş grubunda %68, 21-30 yaş grubunda %72 olarak bulunmuştur. Türk toplumunda H. pylori infeksiyonunun erken yaşlardaki prevalansının yüksek oluşu, sosyoekonomik durum ve geleneksel yaşam koşullarına bağlanmıştır.

H. pylori'nin insan dışında rezervuarı bulunmamaktadır. Konak dışındaki yaşamı sınırlıdır. Çevre koşulları uygun olmadığında H. pylori basıl formundan metabolik olarak aktif ancak kültürde üretilmeyen kokoid forma döner. Bulaş iki şekilde olmaktadır. Kişiden kişiye bulaş; oral oral ve fekal oral yol ile gerçekleşmektedir. Dental plaktan PCR ile H. pylori tespit edilmiş olması, Afrikalı annelerin çiğnedikleri besinleri çocuklarına vererek H. pylori bulaştırması oral oral yolu desteklerken, Hepatit A virüsü prevalans eğrisinin H. pylori ile paralel olması, fekal oral yol ile olan bulaş desteklemektedir. Fekal oral yol ile bulaş gelişmekte olan ülkelerde daha fazla iken, gelişmiş ülkelerde oral oral bulaş daha sıktır. İkinci bulaş şekli olan iatro-

jenik bulaş ise endoskopik aletler veya gastrik mukozaya örnekleri ile temas sonucunda oluşmaktadır. Gastroendoskopi ünitesinde çalışan sağlık personelinde H. pylori prevalansı %32.9 iken diğer sağlık çalışanlarında %11.3 olarak tespit edilmiştir.

ANTİJENİK YAPI

H. pylori'de özgün lipopolisakkarit(LPS) antijenleri vardır. Bakteri bu LPS antijenlerine dayanılarak tiplendirilir. Flajeller antijenleri ise hem Campylobacter'lerle hem de tür içinde ortak yapıdadır.

PATOGENEZ

H. pylori, asitle birlikte ülser oluşumunda rol oynayan en güçlü etken olarak saptanmıştır. H. pylori hem koruyucu faktörleri azaltarak, hem de mide asitinin gücünü artırarak mide ülserine neden olmaktadır.

Mide mukozasını örten mukus tabakasındaki nötrale yakın pH, mukozanın primer savunmasını sağlamakla birlikte mikroorganizmanın yaşamını olanaklı kılar. Bakterinin motilitesi, üreaz aktivitesi mide mukozasına ulaşması için önemlidir. Üreaz enzimiyle açığa çıkan amonyak bakteriyi sararak gastrik asitin lokal nötralizasyonunu sağlar. Bakteri motilitesi sayesinde mide mukus tabakasını geçip spesifik adhezinleriyle mukus tabakasının hemen altında mukozal yüzeye yerleşir. Mukus hücrelerinin sekretuar yanıtını proteaz, katalaz, fosfolipaz A2, C2 sayesinde ve ayrıca lipopolisakkaritleri ile pepsinojen sekresyonunu artırarak azaltmakta, mukus tabakasını zayıflatarak, epitel hücrelerinin asitle temasına neden olarak yüzeyel epitel hücrelerini hasara uğratmaktadır. Üreaz aktivitesi sonucu oluşan amonyak mide epitel hücreleri için toksik olup; hücreler arası tutunmayı azaltır ve etkenin salgıladığı sitotoksinlerin etkisini artırır. VacA (vacuolating toxin A) ile ilişkili VacA geni H. pylori türlerinin tamamında bulunmasına rağmen suşların ancak %50'si vakuolizasyon yapan sitotoksin (tox+) sentezler. Vakuolizasyon yapan tox+ türler daha çok peptik ülserli kişilerden izole edilmiştir. CagA geni ise H. pylori türlerinin yaklaşık %60-80'inde bulunmaktadır. CagA geni taşıyan kişiler peptik ülser, atrofik gastrit ve gastrik kanser ile ilişkili bulunmuştur. CagA IL8 üretimini indükler. Bu ve diğer sitokinler nötrofillerin ve diğer inflamatuvar hücrelerin migrasyonuna ve aktivasyonuna neden olur. Diğer yandan epitel hücre mem-

branındaki mikroorganizma antijenleri MHC sınıf II yardımıyla, yardımcı T hücreleri ve sitotoksik T hücreleri tarafından tanımlanır. Böylece ortama daha çok sitokin salınır ve B lenfositleri spesifik antikor üreten plazma hücreleri haline dönüşür. IgG ve IgA yapısındaki antikorlar antijenlerle reaksiyona girerek otoimmün bir cevap ve doku yıkımı başlar. Diğer yandan aktif nötrofillerden salınan reaktif O2 metabolitleri ve proteazlar gibi sitotoksik maddeler, epitel yıkımına yardım eder. Sonuçta epitel hücre erozyonu ve ülserasyon meydana gelir.

HELICOBACTER PYLORI'NİN BELİRLİ HASTALIKLAR İLE İLİŞKİSİ

H. pylori ile infekte bireylerin tümünde kronik gastrik inflamasyon gelişmekte fakat genellikle asemptomatik seyretmektedir. Peptik ülser hastalığı idiyopatik veya aspirin, NSAİD veya seyrek olarak Zollinger Ellison sendromu , Crohn hastalığı veya bazı inflamatuvar bozukluklara bağlı olarak gelişmektedir. Peptik ülserin idiyopatik formları, tüm vakaların %60-95'ini temsil etmektedir; hemen hepsinden H. pylori sorumlu tutulmaktadır. H. pylori gastrik ülserin %70-90'ını, duodenal ülserin ise %90-100'ünü oluşturmaktadır. Ayrıca epidemik karakterde hipoklorhidrilere de neden olduğu bildirilmiştir.

Antral gastrit ve peptik ülserlerin yıllar sonra, özellikle, gastrik kanser prekürsörü olan atrofik gastrit gelişmesi, bu etkenin yaptığı enfeksiyonların en önemli sonuçlarından biridir. Bu hastalarda adenokarsinomlar, en sık rastlanan kanser türüdür.

Ülseriz dispepsi birçok faktöre bağlı bir sendromdur ve H. pylori bu hastaların belirtilerinden sorumlu faktörlerden biridir. H. pylori ile infekte ve aşırı asit salgılanımı olan kişiler mide ülseri, mide kanseri ve duodenum ülseri için büyük risk taşırlar.

Son zamanlarda gastroenteroloji dışında H. pylori'nin şeker hastalığı, koroner damar hastalığı, baş ağrısı, Reynaud fenomeni, safra taşı ve boy kısalığına neden olduğuna dair yayınlar bulunmasına rağmen sonuçlar henüz doğrulanmamıştır.

H. pylori'ye bağlı gelişen enfeksiyonun edinsel, kalıcı, yaşam boyu devam eden bir enfeksiyon olduğu ve antimikrobiyal tedavi ile eradike edilebileceği belirlenmiştir.

TANI

H. pylori enfeksiyonunun tanısında çok sayıda invaziv ve invaziv olmayan yöntem kullanılmaktadır. İdeal yöntem sensitivite ve spesifitesi yüksek, ucuz ve kolay uygulanabilen, hemen sonuç veren, minimal invaziv olan yöntemdir. Henüz böyle ideal bir test bulunamamıştır fakat dezavantajlarına karşın mevcut tanı yöntemleri, H. pylori enfeksiyonu hakkında önemli bilgi sağlamıştır.

Tanıda kullanılan testler iki ana grupta toplanmaktadır:

a. İNVAZİV TESTLER

- **Direkt Mikroskopik İnceleme ve Direkt Floresan Antikor (DFA) Yöntemi**
- **Kültür**
- **Hızlı Üreaz Testi**
- **Histolojik İnceleme**
- **Moleküler Yöntemler**

b. İNVAZİV OLMAYAN TESTLER

- **Serolojik Testler**
- **Üre nefes Testi**
- **İdrarda veya Kanda C13 Ölçümü**
- **Fekal Antijen Testi**

ÖRNEKLERİN ALINMASI VE TRANSPORTU

Üst gastrointestinal sistem endoskopisiyle, farklı alanlardan birden çok biopsi örneği alınmalıdır. Toplam mide yüzey alanının 800 cm² olduğu düşünüldüğünde, invaziv testler mide mukozasının çok küçük bir alanını inceleyebilmektedir. H. pylori'nin gastrik antrumdaki yamasal dağılımı biopsiye dayalı tanı yöntemlerinde örnekleme hatalarından kaynaklanan yalnızca negatifliklere sebep olduğundan, antrum ve korpustan en az ikişer biopsi örneği alınmasını gerektirir.

Endoskopi yapılırken kullanılan kimyasal ajanlar H. pylori için toksiktir. Bu yüzden lokal anestezi ajan olarak inhibitör etkisi olan benzokain yerine inhibitör etkisi olmayan lidokain seçilmelidir. Serolojik testler dışında diğer bütün testler için, hastanın son bir ay içinde antibiyotik, antiasit, H₂ reseptör blokleri, proton pompa inhibitörü kullanmamış olmasına dikkat edilmelidir. Bunların dışında biopsi forseps temizliğinde kullanılan gluteraldehit ile kontamine forsepsler de H.

pylori'nin canlılığını yitirmesine neden olabilir.

Gastrik biopsi alırken, ilk önce kültür için alınmalı; diğer testler bunu takip eden örneklerden yapılmalıdır.

Biopsi örneklerinden invaziv testlerin hemen uygulanamadığı durumlarda, taşıyıcı besiyeri olarak; %4 glukozlu izotonik salin, %20 glukoz solüsyonu, beyin kalp infüzyon buyyonu(BHI), tioglikolatlı sıvı besiyeri, nutrient sıvı besiyeri, Brucella broth ve Stuart'ın taşıyıcı besiyeri kullanılabilir. Serum fizyolojik içine alınan biopsi örneğinde bakteri canlılığını 2 saat sürdürür. İnceleme, 3-24 saat sonra yapılacaksa Stuart transport besiyeri, 24 saatten sonra yapılacaksa %10 gliserollü buyyonda -70 derecede veya sıvı nitrojende biopsi dondurulmalıdır. Gliserol içeren besiyerleri diğer besiyerlerinin aksine hem transport hem de saklama amaçlı kullanılmaktadır. En fazla 4 gün sürecek uçakla posta transportu için, örnekler çikolata ağara ekimleri yapılarak, mikroaerofilik atmosferli ortamda taşınmalıdır. Taşıma ısısı mutlaka 4C° olmalıdır. H. pylori oda ısısında canlılığını 2 saat sürdürebilir.

H. pylori spesifik olarak gastrik mukoza epiteline kolonize olup, noninvaziv gastrik inflamasyona neden olduğundan nadiren kandan izole edilir. H. pylori, lenfomalı bir hastanın kanından izole edilmiş ancak anlamı belirlenememiştir. H. pylori için testler gastrik sıvı, tükürük ve feçes üzerinde de uygulanabilir ancak bu metodlar rutin tanı için henüz onaylanmamıştır.

a. İNVAZİV TESTLER: İnvaziv testler endoskopi ve biopsi üzerine kurulmuştur. Gastrik kanser, tedaviye rağmen anoreksi, disfaji, gastrointestinal kanama, açıklanamayan anemi, kilo kaybı ve ciddi kusma gibi persistant semptomları olan hastalar için ayrılmıştır.

DİREKT MİKROSKOPİK İNCELEME VE DİREKT FLORESAN ANTİKOR YÖNTEMİ

Direkt mikroskopik inceleme H. pylori'nin hızlı tanısında kullanılan yöntemdir. Biopsinin bir parçası laboratuvarında kesilerek ayrılır, bir miktar sıvıyla birlikte bir lama aktarılır ve bistüri ile ezilerek boyama için yayma oluşturacak şekilde lamın üzerine yayılır. (Gram, Giemsa, Akridin oranj, Leifson boyaları kullanılmaktadır.) Direkt mikroskopik incelemenin, kullanılan boya yöntemine bağlı olarak; duyarlılığı %70-100, özgüllüğü %42-100 arasında değişmektedir.

Faz kontrast mikroskopisi: Boyalı yaymalardan

daha iyi sonuç verebilir. Biopsi örneği bir miktar serum fizyolojikle 2 lam arasında ezilir ve faz kontrast objektifi ile değerlendirilir. H. pylori oda ısısında, nemli ortamda 5 saat süreyle morfolojisini korur.

H. pylori'ye karşı hazırlanmış monoklonal antikorlar kullanılarak uygulanan direkt immunofloresan yöntemi tanıda denenmiş ancak diğer tanı yöntemleriyle karşılaştırıldığında çok etkin bulunmamıştır. Bununla birlikte bir indirekt immunofloresan yöntemi kültür ve histolojik incelemeyle (Warthin-Starry boyama) karşılaştırıldığında %93 spesifite ve %95 sensitiviteye ulaşmıştır.

KÜLTÜR

H. pylori tanısında kullanılan en spesifik yöntem olmakla birlikte, duyarlılığının düşük ve üremenin geç olması en önemli dezavantajdır. Bakterinin kültürde üretilmesi ile kesin tanı konması yanı sıra, üretilen bakterinin antibiyotiklere karşı in vitro duyarlılığı, moleküler tiplendirme yöntemleri ile virulans faktörleri araştırılabilir ve reenfeksiyon, relaps veya mikst enfeksiyon ayırımı yapılabilir. Özellikle antibiyotik allerjisi olan, antimikrobiyal sağaltıma yeterli yanıt alınamayan ve antibiyotik direnci yüksek olan ülkelerde yaşayanlarda mutlaka kültür yapılmalıdır. Deneyimli laboratuvarlarda kültürün duyarlılığı %95'ten fazladır. H. pylori tanısında kullanılan diğer testlere göre kültür daha az değişkenliğe sahiptir.

Kültürün başansı besiyerine ekim yapmadan önce biopsi örneğinin hazırlanma yöntemine, transport koşullarına ve seçilen besiyerinin özelliğine bağlıdır. Son zamanlarda orofarengeal floranın gastrik biopsi örneklerinden uzaklaştırılması için, örneğin serum fizyolojikle yıkanması önerilmektedir. Cam zemin üzerinde ezilerek hazırlanan örnek, steril bistüri ile parçalanarak örnekte daha iyi sonuç verir. Biyopsinin yanısıra fırça sitolojiden toplanan örnekler ile de iyi sonuçlar alınmaktadır. Histolojide olduğu gibi organizmanın midede düzensiz dağılımı kültürün yanlış negatif olmasına neden olabilir, bununla birlikte bu büyük sorun yaratmaz çünkü tek bir bakteri bile kültürde üreyebilir. Kültür histoloji gibi invaziv bir sistem gerektirir ve oldukça masraflı bir yöntemdir.

Son zamanlarda H. pylori kültürü için nonendoskopik gastrik string test önerilmiştir. Hastalara ip yutturulduktan 1 saat sonra ipe yapışan organizmalar kültüre edilir. String test kültürü endoskopik biopsi kültürü ile karşılaştırıldığında sonuçların tutminkar olduğu gözlenmiştir.

Feçes kültürü ile H. pylori izolasyonu denenmiş ancak bakteri gaitada büyük çoğunlukla kültüre olmayan (kokoid) formda bulunduğundan sınırlı başarı elde edilmiştir.

Materyal seçici olmayan kanlı agar ekilebilir. Bunun için Brucella beyin kalp infüzyon ve triptik soy agar %5 koyun veya at kanı eklenmiş besiyerleri kullanılır. Antibiyotik eklenmiş seçici besiyerleri kullanılabilir. Skirrow'un besiyeri genellikle önerilmez; çünkü izolatların %14'ünün nalidiksik asitle, %5'inin polimiksine inhibe olduğu gösterilmiştir.

En iyi performans vankomisin, amfoterisin B, trimetoprim ve kolistin veya sefsuladin eklenmiş %5-10 at veya koyun kanlı veya odun kömürlü besiyeri ile alınmıştır. Pylori agar da ilk izolasyonda başanlı bulunmuştur.

Biyopsi örneklerinden H. pylori'nin ilk izolasyonunda seçici ve seçici olmayan besiyerlerinin birlikte kullanılmasının başarı oranını artırdığı gösterilmiştir.

Kültürler 35-37 °C'de, nemli, mikroaerofilik ortamda inkübe edilmelidir. Primer kültürde üreme 3-12 günde gerçekleşirken, subkültürde üreme daha hızlı olup 2-4 günde gerçekleşir. Primer kültür 12 gün inkübe edilmeli ve 3. Günden itibaren günlük incelenmelidir. Bazı kültürler hızla dejenere olur bundan dolayı subkültürler, koloniler görülür görülmez yapılmalıdır. Mikroaerofilik atmosfer %5-7 O₂, %5-10 CO₂, %85 N₂ li ortam içerir; anaerobik jar ve mikroaerofilik gas generating kit ile bu ortam sağlanabilir. Bulunamadığı takdirde polietilen torbalarda soluk havası yöntemi kullanılabilir.

İdentifikasyon: H. pylori'nin kolonileri küçük, gri, şeffaf ve zayıf beta hemolizlidir. Gram boyamada soluk boyanır, karakteristik martı kanadı ve "U" şeklinde görülür. Oksidaz, katalaz, üreaz testleri pozitif, hippurat hidrolizi, nitrat redüksiyonu, indoksil asetat ve arilsülfataz aktivitesi negatiftir. Nalidiksik asite dirençli, sefalotine duyarlıdır.

BIOPSİ ÜREAZ TESTİ

Biopsi üreaz testi basit, güvenilir ve hızlı sonuç vermesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Test, H. pylori'nin bol miktarda üreaz (Proteus vulgaris'ten 20-70 kez aktiftir) oluşturması esasına dayanmaktadır. Üreaz enziminin üreyi hidrolize etmesi sonucu ortaya çıkan amonyak ve bikarbonat, ortamın pH değerini yükseltir. pH yükselmesinin fenol kırmızısı tarafından renk

değişikliği şeklinde belirlenmesi, dolaylı olarak ortamda üreaz enzim aktivitesinin varlığını gösterir.

Bu amaçla:

1. Christensen'in %2'lik sıvı üre besiyeri veya Stuart'ın sıvı üre besiyeri

2. Ticari Testler:

CLO (Campylobacter Like Organism) Testi: Marshall tarafından H. pylori araştırması için amaçlanan ilk ticari biopsi üreaz testidir. Mevcut biopsi üreaz testleri içinde en fazla kullanılanıdır. Biyopsi örneği üre ve pH indikatörü içeren agar jele ekildikten sonra 24 saat içinde değerlendirilir.

Hp fast: CLO testine benzer bir jel testidir.

Pylori Tek: Strip testi olup, 1 saat içerisinde sonuç verir. Biopsi örneği üre ve pH indikatörü içeren strip arasına yerleştirilerek 1 saatte sonuç alınır. Hızlı sonuç gerekiyorsa Pylori Tek ilk seçim olmalıdır. Hızlı sonuç gerekmiyorsa Pylori Tek ile 1 saatte alınan sensitivite ve spesifite, agar jel testleri ile 24 saatte alınanla eşdeğerdir. Duyarlılık %88-93 özgüllük %99-100'dür.

2. Hızlı Üreaz Testi: Üre ve pH indikatörünün konsantrasyonu yüksek olduğundan 1 dakikada sonuç alınır.

3. String test: Bu yöntem ile üst solunum yolundan kaynaklanan kontaminant flora nedeniyle, yüksek oranda yalancı pozitif sonuçlar alınmıştır.

Biyopsi üreaz testinin duyarlılığı ve özgüllüğü değerlendirme süresine bağlıdır. Değerlendirme 1 saatten az bir sürede yapıldığında özgüllük yüksek iken, duyarlılık optimal değildir. Artmış inkübasyon süresi sensitiviteyi artırır ancak üreaz enzimine sahip diğer kontaminant bakteriler yalancı pozitiflik oluşturacağından testin özgüllüğünü azaltır. Hızlı üreaz testinin duyarlılığı biopsi örneğindeki bakteri sayısına bağlıdır. Pozitiflik 104 bakteri varlığında görülür. Tedavi izleminde kullanılmak için uygun bir test değildir. Yöntemin dezavantajı endoskopi gerektirmesidir; bununla birlikte sensitivitenin yüksek olması, kültür ve histolojik incelemelerle karşılaştırıldığında maliyetinin düşük olması nedeniyle, H. pylori infeksiyon tanısında seçilecek endoskopik yöntem, üreaz testi olabilir.

HİSTOLOJİK İNCELEME

Histopatolojik inceleme invaziv yöntemler içerisinde altın standart olarak kabul edilen, en

yaygın kullanılan yöntemdir. Bu yöntemin en büyük avantajı; hem gastritisin tipini hem de H. pylori'nin histolojik varlığını tespit etmesidir. Preparatlar geriye dönük incelenebilir. Histolojinin duyarlılığı ve özgüllüğü biopsi örneğinin uygunluğu, patoloğun deneyimi, bakteri yoğunluğu ve boya türüne bağlıdır. H. pylori karakteristik morfolojisini kaybedip, kokoid forma dönüşürse histolojik değerlendirme yapılmaz. H. pylori'nin histolojik incelemesinde, epitel hücreleri yüzeylerinde, özellikle lümen ve mukus tabakası içinde kümeler halinde kalın spiral basiller izlenmektedir. Kullanılan boyaların hiçbirisi H. pylori için spesifik değildir; daha çok bakterinin görünümü ve kolonizasyon bölgesi fikir vermektedir. Organizma Gram (-), koyu pembe, spiral bakteriler olarak görülür. Gram boyama bakteriyel yoğun kolonize spesimenlerde hızlı tanı olanağı sağlar. Rutinde kullanılan Hematoksilen-Eozin boyayla H. pylori saptanabilir fakat bu tekniğin sensitivitesi büyük oranda deneyimli bir gözlemciye bağlıdır. Hematoksilen-Eozin boyamada H. pylori görülmemişse fakat varlığından kuşkulaniyorsa başka bir yöntemle boyama uygun olur. Hematoksilen-Eozin ile H. pylori soluk pembe boyanmış spiral bakteriler olarak görülür. Hematoksilen-Eozin en kolay metod olmakla birlikte 24 saat gerektirir ve yalancı negatif sonuçlar oluşabilir. Warthin-Starry gümüş boyası organizmaları olduğundan büyük göstererek daha belirgin hale getirir. Pahalı ve teknik olarak zor olmasına karşın kabul görmektedir. Bakteriler san zeminde siyah spiral organizmalar olarak görülür. Genta ve Giemsa boyaları daha komplekstir. Genta yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu için yalnız başına tatminkar bir şekilde tanı koydurur. Rutin Giemsa boyama ise bazı araştırmacılar tarafından Warthin-Starry boyamaya eşdeğer bulunmuştur. Giemsa ile doku kesitlerinde H. pylori koyu mavimsi spiral bakteriler olarak görülür. Floresan boya akridin oranla da yaklaşık aynı sonuçlar alınmaktadır fakat floresan mikroskop gerektirir. Ayrıca frozen kesitlerde de H. pylori hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlanabilmektedir. Ülseri olmayan dispepsili hastalar, omeprazol yada antibiyotiklerle sağaltılanlar, H. pylori yoğunluğu düşük olan hastalarda ve özellikle kanama bozukluğu olanlarda fırça sitoloji oldukça duyarlı bir yöntem gibi görünmektedir.

Duyarlılığı %80-90, özgüllüğü %95-100 olmakla birlikte kesitlerde bakterinin saptanması incelemeyi yapan kişiden etkilenir. Bu nedenle en iyi sonuç

histopatoloji ile birlikte diğer tanı yöntemlerinden birinin birlikte uygulanması ile elde edilir.

MOLEKÜLER YÖNTEMLER

Moleküler çalışmaların;

1. Biopsi örneklerinde H. pylori'nin hızla saptanması veya biopsi dışı örneklerde epidemiyolojik amaçlarla H. pylori'nin araştırılması,
2. İzole edilen mikroorganizmanın moleküler tiplendirmesi yapılarak reenfeksiyon, relaps veya mikst infeksiyon ayırımının yapılması gibi amaçları vardır.

α. Moleküler Tanı yöntemleri: H. pylori için hibridizasyon ve amplifikasyon tekniklerinin kullanıldığı değişik moleküler yöntemler uygulanmaktadır. Bu yöntemler değişik tanı yöntemleriyle şüpheli sonuçların alınması durumunda ve sağaltımın etkinliğinin izlenmesinde çok yararlıdır. Bu yöntemlerin bir diğer üstünlüğü de kalitesinin fazla etkilenmemesi ve bakterinin canlı kalmasına gerek duyulmamasıdır.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) H. pylori tanısında kullanılan özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek bir tekniktir. Testin etkinliği; örneğin hazırlanması, bakteri yoğunluğu, primer ve hedef DNA'nın seçimine bağlıdır. Yapılan araştırmalarda, gastrik mukozal biopsi örneklerinde H. pylori tanımlanmasında testin duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur. PCR'in bir diğer avantajı da tükürük, dış plağı, feçes gibi gastrik olmayan örneklerden H. pylori DNA'ini saptamada invaziv olmayan bir yöntem olarak kullanılmasıdır. Bir çalışmada, tükürükten H. pylori saptamada PCR sensitivitesi %84 olarak bulunmuştur. PCR'unun duyarlılığı kültürün duyarlılığına yakın değerdedir. H. pylori eradikasyonunun doğrulanmasında PCR biraz daha üstün bulunmuştur. Bu amaçla uygulanacaksa tedavi bitiminden 12 hafta sonra uygulanmalıdır. Tedavi etkinliğinin erken monitorizasyonunda uygun değildir. PCR'unun en büyük dezavantajı, kontaminasyon riskinin yüksek olmasıdır.

Son zamanlarda geliştirilen kitler (Invigene H. pylori genotyping kit) H. pylori araştırması ve patojenite tiplendirmesinde sensitiv bulunmuştur. Invigene H. pylori genotyping kit dışı örnekleri için kullanılan ilk ticari kitledir. Aktif infeksiyon varlığını saptaması yanında H. pylori cag A genotipinin varlığını saptayarak H. pylori ile ilişkili hastalıkların monitorizasyonuna katkıda bulunmaktadır.

b. Moleküler Tiplendirme Yöntemleri: Bu konuda yapılan çalışmalar H. pylori'nin genetik çeşitliliğini ve H. pylori infeksiyonunun az sayıdaki tiplere sınırlı olmadığını göstermiştir. Değişik amaçlarla randomly amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR), restriksiyon fragment length polimorfizm(RFLP) analizi ve repetitif ekstrasjenik palindromik PCR gibi farklı moleküler tiplendirme yöntemleri uygulanabilmektedir. Makrolid antibiyotiklere karşı direncin araştırılmasında da moleküler yöntemler kullanılabilir.

İNVAZİV OLMAYAN TESTLER

İnvaziv olmayan testler, bakterinin indirekt olarak saptanması temeline dayanan, tüm gastrik mukozayı araştıran, global metodlar olarak tanımlanmaktadır. Sensitif ve spesifik olup, infeksiyonun takibine olanak tanır. En büyük dezavantajı, indirekt metot olmasına bağlı olarak bakterinin izole edilmesine ve antibiyotik duyarlılık testlerine izin vermemesidir. Bundan dolayı başlangıç tanı için iki yöntemin birlikte kullanılması tavsiye edilir. Ülser benzeri dispepsi veya diğer gastrointestinal bulguları olan ve H. pylori veya peptik ülser düşünülen hastalar için noninvaziv testler uygundur.

ÜRE NEFES TESTİ

1996 ve 1997 yıllarında H. pylori tanısı için US Food and Drug Administration C13 üre (meretek diagnostics) ve C14 üre (PY test) nefes testlerini geliştirmiştir. Üre nefes testleri noninvaziv testler içerisinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Tedavi almamış hastalarda aktif infeksiyonun başlangıç tanısı için ve tedaviden 6 hafta sonra tedavi takibi için kullanılır. H. pylori'nin üreyi hidroliz etme özelliğine dayanan test, işaretleme karbon atomu kullanılarak yapılır. Bu amaçla yanlanma ömrü uzun C14 radyoizotopu veya stabil C13 nonradioaktif izotop kullanılır. Test C13 veya C14 işaretli ürenin H. pylori'nin yaptığı üreaz enzimi ile parçalanması sonucu açığa çıkan CO₂'in ekspiryum havasında saptanması esasına dayanır.

α. C13 Üre Solunum Testi: Hastalar 6 saat süreyle aç bırakılarak testten önce bazal nefes örneği bir tüp içerisine alınır ve midenin erken boşalmasını önlemek için hastaya yüksek kalorili yiyecek verilir. Daha sonra C13 üre içeren solüsyon içirilerek 20, 40 ve 60. dakikalarda alınan ekspiryum havasında C13 araştırılır. C13 radyoaktif olmayan bir izotoptur ve normal ekspiryum havasındaki

CO2'nin %1.11'ini oluşturur. Ekspiryum havasında %0.11 oranındaki bir artışın varlığı testi pozitifleştirir. Test yaklaşık olarak 26 dakikada sonuçlanmaktadır.

b. C14 Üre Solunum Testi: Hasta gece yansından sonra yaklaşık 6 saat aç kalarak 1 microCi C14 üre içeren kapsül aldıktan 10-20 dakika sonra, balon veya küçük bir şişeye ekspiryum havası vererek C14 araştırılır. Gebelerde ve çocuklarda önerilmemektedir.

Bu iki testin birbirlerine üstünlükleri çok fazla değildir. C14 üre solunum testinin daha hızlı sonuç vermesi ve ucuz olması, C13 üre solunum testinin ise daha emniyetli ve kolay uygulanabilir olması tercih nedenidir. C13 izotopunun radyoaktif olmaması avantaj olmakla birlikte, dezavantajı temini güç ve pahalı mass spektrofotometreye gereksinim duymasıdır. C14 radyoaktif izotop test sırasında az miktarda kullanıldığından maruz kalınan radyoaktivite bir günde doğadan alınan miktardan azdır. C14 scintillation counter ile kolaylıkla ölçülür. Ancak takip amacıyla testin birkaç kez tekrarlanması gerekli olduğu durumlarda; gebe ve çocuklarda C13 üre nefes testi kullanılmaktadır. Üreaz pozitif başka mikroorganizmaların varlığında veya aklorhidride yalancı pozitif sonuçlar alınabilmektedir. Yine yakın zamanda antibiyotik, antiasit, bizmut ve antisekretuar ajan alanlarda, mide ameliyatı geçirenlerde midenin erken boşalması nedeniyle yalancı negatif sonuçlar alınabilir.

C13 üre nefes testinin duyarlılık ve özgüllüğü %90'nın üzerinde olup, C14 de yakın değerlere sahiptir. Serolojik ve fekal antijen testlerinden daha pahalı fakat invaziv testlerden ucuzdur.

SEROLOJİK TESTLER

H. pylori enfeksiyonu, hem lokal, hem sistemik antikor yanıtı oluşturur. Sistemik yanıt, tipik olarak IgM'in geçici yükselişini takiben enfeksiyon süresince devam eden spesifik IgA ve IgG artışı şeklindedir. H. pylori enfeksiyonunda serokonversiyon yaklaşık 3 hafta sonra gelişir. Enfeksiyon süresi, kişinin yaşı ve immun durumu, bakteri yoğunluğu, immun yanıtı etkileyen önemli parametrelerdir.

Serolojik tanıda lateks aglutinasyon, kompleman fiksasyon, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Western blot ve immunofloresan yöntemler kullanılmaktadır. ELISA en yaygın kullanılan testtir. Serumda spesifik IgG ve IgA, midede sekretuar

IgA ve IgM düzeylerinin artışı bakterinin serolojik tanısını sağlamaktadır. Yapılan araştırmalarda IgG sınıfı antikorların IgA sınıfı antikora göre daha ayırt ettirici ve daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu ortaya konmuştur. IgA gerekli sensitiviteden yoksun olduğundan, primer tarama testlerinde kullanılmamakta ancak enfeksiyon şüphesi yüksek olup serum IgG sonuçları negatif veya sınırdaki vakalarda anlamlı bulunmuştur.

Serolojik yöntemler özellikle epidemiyolojik çalışmalarda çok sayıda bireyin taranmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Sadece başlangıç enfeksiyonu saptamak için uygundur. Hasta H. pylori ile infekte olduktan sonra antikorlar serumda belirsiz bir zaman kalarak serolojik sekel oluşturur. Bundan dolayı serolojik testler H. pylori enfeksiyon eradikasyonunu doğrulamak için veya önceden infekte kişilerde kullanılmaz. Bu nedenle pozitif serolojik test aktif enfeksiyon için gösterge değildir. Tedavi uygulanmadıkça ömür boyu antikor düzeyi yüksek kalarak enfeksiyonun devam ettiğini gösterir. H. pylori eradikasyonundan sonra spesifik IgG ve IgA düzeylerinde azalma görülür; tipik olarak 6 ay sonra tedavi öncesi değerin yaklaşık yansına düşer. H. pylori eradikasyonundan sonra spesifik IgG düzeyleri aylarca düşük düzeyde kalır. Yapılan bir çalışmada IgG antikor titresinin 3. 5 yıl cut off değerinin üzerinde kaldığı saptanmıştır. Serolojik testler hızlı ve kolay olup, endoskopi gerektiren testlere göre daha ucuzdur. Bakteri yoğunluğu ve antibiyotik, proton pompa inhibitörü, bizmut bileşenleri kullanımından az etkilenmektedir.

H. pylori spesifik antikorların saptanmasında kullanılan serolojik testler antijen hazırlanmasına bağlı olarak farklılık gösterir. Genelde 3 tip antijen kullanılmaktadır. Bunlar tüm hücre ve tüm hücre sonicates gibi işlenmemiş antijenler, glisin ekstraktları ve ısı stabil antijenler gibi zenginleştirilmiş antijenler kapsamaktadır. ELISA kitlerinde tüm hücre komponentlerini içeren işlenmemiş antijenler ile Cag A, üreaz alt grupları olan hsp A, hspB, high-molecular-weight cell associated protein(HMCAP) antijenleri kullanılmaktadır. En yüksek duyarlılık üreaz bileşimi ile bulunmuştur. Kullanılan antijene göre duyarlılık ve özgüllük %80-100 arasında değişmektedir.

Seroepidemiyolojik çalışmalara göre, farklı etnik gruplarda enfeksiyon prevalansı değişkenlik gösterdiğinden cut off değeri topluma göre belirlenmelidir. Çocukluk yaş grubunda yapılan

çalışmalarda; kültür ve histoloji ile karşılaştırıldığında serolojinin duyarlılığı düşük bulunmuş; malnütrüsyona bağlı immün yetmezlik ile açıklanmıştır.

CagA Serolojisi: Anti CagA antikorlarının serumda saptanması sitotoksik türlerin neden olduğu enfeksiyonların tanımlanmasında kullanılan invaziv olmayan bir yöntemdir. Virulans marker olarak CagA serolojisinin kullanımıyla ilgili problemler vardır. CagA+ türler bazı kişilerde peptik ülser neden olurken, diğer kişilerde ülser oluşturmaz. Bu durumda CagA seropozitifliği gereksiz tedavi alınmasına neden olabilmektedir. Anti H. pylori IgG antikör pozitifliğine eşlik eden Anti CagA IgG antikör pozitifliği olan hastalar gastrik adenokarsinoma erken tanısı yönünden takip edilmelidir. H. pylori tespit edilmemiş hastalarda yüksek düzeyde anti-CagA IgG varlığı kişinin daha önce CagA+ H. pylori ile infekte olduğunu gösterir. CagA seronegatif hastalarda tedavi uygulamamak güvenli olabilir. CagA negatif H. pylori ile infekte olmayan bireylerde gastrik karsinoma gelişme riski düşük olmakla birlikte daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

İmmunodot Blot: Spesifik antijenlerin ve epitoplarnın identifikasyonunda kullanılan spesifik bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda, immunodot blot'un EİA'den daha sensitif ve spesifik olduğu saptanmıştır. Özellikle Cag A proteini gibi spesifik antijenlere karşı oluşan antikör cevabını saptayarak bazı antikör paternleri ve gastrik kanser arasındaki ilişkinin kurulmasına olanak sağlamaktadır. Şüpheli durumlarda ELİSA ile negatif veya cut off değere eşit değerler alındığında doğrulayıcı yöntem olarak kullanılmaktadır.

Tam Kan Testleri: Son zamanlarda laboratuvarda uygulanan kantitatif ELİSA kitlerinin dışında, hasta başında uygulanabilen ticari testler geliştirilmiştir. Parmak ucundan alınan kan ile test edilen, kolay, relatif olarak ucuz ve 5-15 dakikada sonuç verebilen testlerdir. H. pylori'nin başlangıç tanısında, bu testlerin daha pahalı laboratuvar testlerinin yerini alıp almayacağı tartışmalıdır.

Tam kan testi olan Pyloriset Screen IgG ve IgA (Orion Diagnostics), H. pylori'ye karşı oluşan antikörleri saptayan son yıllarda geliştirilmiş kantitatif, kolay, özel aletler gerektirmeyen, 5-15 dakikada sonuç veren hızlı membran strip testidir. H. pylori'ye karşı oluşan spesifik antikör H. pylori ile kaplı partiküller ile reaksiyona girer daha sonra antijen antikör kompleksi kromotografik olarak

strip boyunca ilerleyerek immobilize anti-human IgG ile birleşerek strip üzerinde renkli bantlar oluşturur. Diğer hızlı serolojik testlerle kıyaslandığında spesifite daha yüksek bulunmuştur (sensitivite %95, spesifite %94). Yüksek spesifite özellikle H. pylori enfeksiyon prevalansı düşük olan bölgelerde ve ayrıca tedaviden önce sadece tek tanı testinin kullanılacağı durumlarda önemlidir. Test kantitatif olduğundan tedavi takibinde kullanılmaz, kullanılacaksa tedaviden önce bir serum örneği, tedaviden 4-6 ay sonra ikinci serum örneği alınmalıdır. Özellikle kantitatif serolojik test imkanı olmayan küçük laboratuvarlar için kullanımı önerilmektedir. Aynı mekanizma ile çalışan diğer ticari tam kan testleri; Bio-Rad GAP, HELİSAL, Trinity Uni-Gold H. pylori, Flexsure Hp, Quick view One Step, Flexpack immunochromotographic'tir.

FEKAL ANTİJEN TESTİ

Fekal antijen testi Mayıs 1998'de US Food and Drug Administration tarafından semptomatik kişilerde H. pylori enfeksiyon tanısı için geliştirilmiştir. Dışkı örneğinde H. pylori antijenini ELISA yöntemiyle belirleyen tanı testidir. Seroloji kadar basit ve non-invazivdir. Fekal antijen testi üre nefes testi kadar elverişli biçimde aktif enfeksiyonu saptar (üre nefes testine göre daha az yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuç verir). Hem tarama testi olarak epidemiyolojik çalışmalarda asemptomatik kişilerde H. pylori enfeksiyon prevalansının saptanmasında, hem de tedavi sonu kontrol amacıyla kullanılabilir. Eradikasyonun doğrulanması için kullanılacaksa, tedavinin sonlandırılmasından 4 hafta sonra uygulanmalıdır. H. pylori fekal antijenlerinin eradikasyondan sonra uzun süre persistans göstermesi; eradikasyondan sonra H. pylori antijenlerinin feçes ile atılmasına ve ayrıca ölü bakterilerin dejenere kalıntılarının eliminasyonunun uzun sürmesi ile açıklanmıştır. Özellikle çocuklarda üre nefes testi uygulaması zor olduğundan avantajlı bir yöntemdir. Serolojiden farklı olarak tekrarlanarak kullanılabilir. Üre nefes testine benzer olarak, H₂ bloker ve proton pompa inhibitörü kullanımından etkilenmez. Dışkı örneğinin alınması ve transportunda özel teknik gerektirmemekte teste taze veya dondurulmuş, korunmuş dışkı örneği kullanılabilir. Testten önce dışkı 2-8 derecede 3 gün, -20 derecede sınırsız saklanabilir. Bu da hasta kapasitesi düşük olan laboratuvarlarda tüm örneklerin toplu olarak çalışılmasını sağlamaktadır.

Son zamanlarda Meridian Diagnostics İnc. tarafından geliştirilen "Premier Platinum Hpsa", fekal örneklerden H. pylori antijenini saptamak için geliştirilen ticari kitlerden biridir. Hızlı (90 dk.) deneyimli eleman gerektirmeyen, kolay uygulanabilir, sensitif, spesifik ve noninvaziv bir testtir. Testte poliklonal anti H. pylori antikorları kullanılmaktadır. Sample diluentle dışkı örneği dilue edildikten sonra poliklonal antikor kaplı godelere eklenir. Bir damla enzimle işaretli poliklonal H. pylori antikorları dilue dışkıya eklenerek inkübe edilir. Son olarak substrat eklenerek görsel veya spektrofotometrik olarak renk değişimine göre sonuç değerlendirilir. Duyarlılığı ve özgüllüğü %95'tir.

Yine son zamanlarda monoklonal antikorlar üzerine kurulmuş kantitatif EİA, "FemtoLab H. pylori", Almanya'da yapılan bir çalışmada tedavi sonu olgularda Premier platinum kitinden daha spesifik bulundu (%98). Yapılan çalışmalarda Femtolab ve premier platinum kitlerinin erken tedavi sonu kontrollerde üre nefes testinin yerini tutabilecek uygun alternatifler olduğu ortaya konmuştur.

Fekal antijen saptamaya yönelik diğer bir yöntem olan "Hızlı İmmunokromotografik Dışkı Testi" ise %95 sensitivite ve spesifiteye sahip, özel klinik, hastane ve hatta evlerde kullanım için uygun, pahalı aletler gerektirmeyen, laboratuvarında mevcut aletlerle gerçekleştirilebilen bir metottur. Test mini lab adında bir alet içermektedir. Bu alet örnekleme, işlem ve analizi tek bir test ünitesinde gerçekleştirerek hijyen ve kolaylık sağlaması açısından önem teşkil etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Graham DY, Doyle J, Evans J et al. H. pylori detected non-invasively by the C urea breath test. *Lanset* 1987; 1: 1174-7.
2. Buck GE. H. pylori: New organism involved in gastritis and possibly peptic ulcers. *Labmedica* 1988;50: 25-8.
3. Athanasios M, Wolfgang B, Eva P et al. Two Enzyme Immunoassay and Pcr for Detection of H. pylori in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38 : 3710-4.
4. Bruce E, Hartley C, Martin J. H. pylori. *Clinical Microbiology Rewiews* 1997; 10: 720-41.
5. Kinderman A, Nikolauos K, Norbart L et al. Evaluation of two commercial enzyme immunoassay, testing immunoglobulin G and IgA responses for diagnosis of H. pylori infection in children. *Journal of Clinical Microbiology* 2001; 39: 3591-6.
6. Thomas J, Dale A, Weaver L. Isolation of H. pylori from human faeces. *Lancet* 1992;340: 1194-5.

DİĞER TESTLER

Diğer testler tükrük ve idrarda anti H. pylori IgG antikorlarını saptamaya yöneliktir.

Son yıllarda Japonya'da 112 hasta üzerinde yapılan çalışmada tükrüğün H. pylori'ye karşı oluşan IgG antikorlarının saptanmasında kullanılabileceği gösterilmiştir. Sensitivite %93, spesifite %82 olarak rapor edilmiştir.

Yine Japonya'da geliştirilen idrar bazlı EİA (URINELİSA H. pylori Antibody) H. pylori'ye karşı oluşan antikor cevabının saptanması için amaçlanmıştır. İdrar örneklerinin noninvaziv olarak elde edilmesi yanında testin kolay ve güvenilir olması avantaj sağlamaktadır. Serum bazlı ELİSA sonuçları ile kıyaslandığında alınan sonuçların ümitlendirici olduğu gözlenmiştir. Sensivite %97. 7, spesifite %95. 6 olarak kaydedilmiştir. Bu testin H. pylori taramasında serum bazlı ELİSA yerine alternatif olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAN VEYA İDRARDA C13 ÖLÇÜMÜ

H. pylori'nin substrat metabolizmasının kan veya idrarda gösterilmesidir. Hastaya C13 işaretli üre verildikten 30 dakika sonra kan örneği alınır. Üre nefes testinde olduğu gibi işaretli serum bikarbonat konsantrasyonu hastaların H. pylori durumunu yansıtır. Örnek analizleri mass spektrofotometre gerektirir. Sensivite ve spesifite yüksek olup, üre nefes testiyle kıyaslandığında yanlış pozitif sonuçlar nadirdir.

7. Trevisani L, Galvani E, Caselli M. Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting H. pylori in feces: a prospective pilot study. *Am. J. Gastroenterol.* 1994; 126: 1830-1833.
8. Samuels A, Windsor M, Marshall J. culture of H. pylori from a gastric string may be an alternative to endoscopic biopsy. *J. CLİN. Microbiol.* 2000;38:2438-2439.
9. Oksanen A, Veijola L, Sipponen P et al. Evaluation of Pyloriset Screen, a rapid whole blood test for H. pylori infection. *Journal of Clinical Microbiology* 1998;36: 955-957.
10. Corvaglia L, Bontems J, Devaster P ET ALL. Accuracy of serology and C13 urea breath test for detection of H. pylori in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1999;18:976-979.
11. Kinderman A, Demelmaire B, Koletzko S et al. Influence of age on C13 urea breath test results in children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000;30:85-91.
12. Javier P, PajaresM. Diagnosis of H. pylori infection by stool antigen determination: A systematic review. *American Journal of Gastroenterol.* 2001; 96:

-
13. Cordwells, Cooms W, Bradly J et al. Proteome analysis of *H. pylori*: Major proteins of type strain NCTC 11637. *Pathology* 2001; 33: 365-74
 14. Cooms W, Foster M, Pearman W et al. Detection of *H. pylori* antigen in faeces by enzyme immunoassay. *Pathology* 2001; 33: 496-7.
 15. Kabir S. Detection of *H. pylori* in faeces by culture, PCR and enzyme immunoassay. *J Med Microbiol* 2001;50: 1021-9.
 16. Menevşe S, Tınaz C, Görgül A. Detection of *H. pylori* in dental plaque and gastric biopsy samples of Turkish patients by PCR-RFLP. *Acta Gastro- Enterologica Belgica* 2001; 94:150-2.
 17. Trallero P. String test for *H. pylori*. *Journal of Clinical Microbiology* 2000;38:4303.
 18. Abigale A, Salyers and Dixie D. Gastric and duodenal ulcers: An infectious Disease. *Bacterial Pathogenesis* 1994;p:273-81.
 19. Çakır N. *H. pylori*. *Başlıca Bakteriyel, Paraziter ve Mikotik Enfeksiyon Hastalıkları* 2000; s:276-80.
 20. Willke A, Söyletir G, Doğanay M. *Helikobakter İnfeksiyonları*. *İnfeksiyon Hastalıkları* 1996;s :1005-9.
 21. www.google.com web sayfası
 22. Ustaçelebi Ş. *H. pylori*. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* 1999;s:531-41.