

## HELICOBACTER PYLORI TANISINDA ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

### IDENTIFICATION OF *HELICOBACTER PYLORI*: COMPARISON OF DIAGNOSTIC METHODS

Muhammet Hamidullah UYANIK<sup>1</sup>, Osman AKTAŞ<sup>1</sup>, Ahmet ÖZBEK<sup>1</sup>, Ömer YILMAZ<sup>2</sup>, Ahmet AYYILDIZ<sup>1</sup>

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Erzurum

<sup>1</sup>Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**Anahtar Sözcükler:** *Helicobacter pylori*, PCR, mide biyopsisi, dışkı

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, PCR, gastric biopsy, stool

Geliş: 05 Nisan 2007

Kabul: 22 Mayıs 2007

## ÖZET

Bu çalışmada; üst gastro-intestinal yakınmalı olguların endoskopi ile alınan mide biyopsi (MB) örneklerinde kültür, Gram boyama ve PCR; dışkı örneklerinde ise PCR yöntemiyle *Helicobacter pylori* araştırılması ve kullanılan yöntemlerden elde edilen sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır. Hastaların antrum bölgesinden iki biyopsi örneği alınmış, birisi kültür ve Gram boyama diğeri de PCR çalışmalarında kullanılmıştır. *Helicobacter pylori* izolasyonunda % 5 koyun kanlı Brucella (Biolab®, BAB20500) agar besiyeri, MB örneklerinden *H. pylori* DNA eldesinde "NucleoSpin® Genomic DNA" ve dışkı örneklerinden *H. pylori* DNA eldesi için de "Invisorb® Spin Stool DNA kit (Invitex)" kullanılmıştır. DNA örneklerinde PCR "Applied Biosystem 5700 Real Time PCR" cihazı kullanılarak yapılmıştır. Uygulanan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri biyopsi kültür sonuçlarına göre "Receiver Operating Characteristic (ROC)" eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. *Helicobacter pylori* varlığını belirlemede biyopsi kültür sonuçları "altın standart" olarak alındığında, MB PCR'nin duyarlılığı % 92.0, özgüllüğü % 72.7, dışkı PCR'nin duyarlılığı % 68.0, özgüllüğü ise % 72.7 ve MB'den direkt olarak yapılan Gram boyamanın duyarlılığı % 88.0, özgüllüğü % 63.6 olarak bulunmuştur. Daha kolay uygulanabilen, çabuk sonuç veren ve diğerlerine göre maliyeti çok daha ucuz olan ve duyarlılığı MB PCR'ye yakın bulunan Gram boyama yönteminin, klinik bulgularla birlikte değerlendirildiğinde *H. pylori* tanısında tercih edilebileceği kanısına varılmıştır.

## SUMMARY

This study was planned in order to investigate the presence of *H. pylori* by culture, Gram stain and PCR in gastric biopsy specimens obtained by endoscopy, and by PCR in stool specimens from the patients with upper gastrointestinal tract complaints and to compare the results obtained from the used methods. Two biopsy specimens were taken from the antrum of the patients, one of which was used for culture and Gram stain, and the other for PCR. Brucella agar (Biolab®, BAB20500) enriched with 5% sheep blood media was used for isolation of *H. pylori*. To obtain the DNA of *H. pylori* "NucleoSpin® Genomic DNA kit from biopsy specimens and "Invisorb® Spin Stool DNA kit (Invitex)" from stool specimens were used. PCR was performed by using Applied Biosystem 5700 Real Time PCR machine. The sensitivity and specificity of the used methods were calculated using Receiver Operating Characteristic (ROC) curve according to biopsy cultures results. Using the biopsy cultures as the "gold standard" test for determining *H. pylori* presence, the sensitivity and specificity of PCR was measured as 92.0 % and 72.7 % in the biopsy specimens, as 68.0% and 72.7% in the stool specimens and as 88.0% and 63.6% for Gram stain of biopsy specimens, respectively. It is concluded that Gram staining when it is evaluated with endoscopical findings of patients may be preferable for the diagnosis of *H. pylori* because it is easily applicable, rapidly conclusive, more inexpensive than the others, and has specificity as in PCR in the biopsy specimens.

## GİRİŞ

*Helicobacter pylori*, insan midesine yerleşen spiral şeklinde, Gram-negatif, mikro-aerofilik bir bakteridir (1-3). *Helicobacter pylori*, kronik gastrite, gastroduodenal ülser, günümüzde halen kanser ölümlerinin en sık nedenlerinden biri olan gastrik adenokarsinomuna ve MALT (mukozayla ilişkili lenfoit doku) lenfomasına neden olan bir bakteri olarak değerlendirilmektedir (4-6). Bakteri ile infeksiyon riski düşük sosyo-ekonomik durum, sağlık önlemlerinin yetersizliği, toplu yaşam koşulları ve su kaynaklarındaki sorunlarla ilişkili olarak artmaktadır.

Önemli toplum sağlığı problemlerine neden olan *H. pylori* infeksiyonlarını güvenilir ve etkin olarak tanımlamak için birçok yöntem kullanılmaktadır. *Helicobacter pylori* infeksiyonunu tanımlamada invazif girişim (endoskopi) gerektiren hızlı üreaz testi, histoloji, kültür, PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayanan testler ve mide dokusunun faz-kontrast mikroskopisi gibi incelemelerin yanı sıra invazif işlem gerektirmeyen seroloji, üre nefes testi (ÜNT), "Helicobacter pylori Stool Antigen Test (HpSA)" gibi çeşitli yöntemlerin yanı sıra dışkı, tükürük ve dental plak gibi materyallerden moleküler yöntemlerle etkeni aramak için yararlanılmaktadır (7-9).

*Helicobacter pylori* tanısında kesin olarak belirlenmiş altın standart bir test olmayışı nedeniyle günümüzde hala tanı ve tedavi başarısının izlenmesinde endoskopi gerektiren testler referans olarak alınmaktadır (10).

Bu çalışma, üst gastro-intestinal yakınması olan olguların dışkı örneklerinde PCR yöntemiyle; endoskopi ile alınan mide biyopsi örneklerinde de kültür, Gram boyama ve PCR yöntemiyle *H. pylori* pozitifliğinin araştırılması ve kullanılan yöntemlerden elde edilen sonuçların karşılaştırılması amacıyla planlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yakutiye Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniği'ne üst gastro-intestinal sistem yakınmaları ile başvuran, daha önce *H. pylori* eradikasyon tedavisi almamış, son bir ay içerisinde herhangi bir nedenle antibiyotik ve en az bir hafta öncesine kadar antiasit kullanmamış 36 yetişkin olgu alındı.

Hastadan alınan mide biyopsisi örneklerinin taşınmasında Brain Heart Infusion Broth (BHIB); *H. pylori* izolasyonunda Brucella agar (Biolab®, BAB20500) kullanıldı.

Mide biyopsisi (MB) örneklerinden *H. pylori* DNA eldesi amacıyla "NucleoSpin® Genomic DNA" ve dışkı örnekle-

rinden *H. pylori* DNA eldesi için de "Invisorb® Spin Stool DNA kit (Invitex)" kullanıldı. Mide biyopsisi ve dışkıdan izole edilen DNA örneklerine uygulanan PCR işleminde "Applied Biosystem 5700 Real Time PCR aygıtı" kullanıldı.

Gastro-enterolog tarafından özofagogastroduodenoskopi (EGD) yardımıyla hastaların antrum bölgesinden her bir hasta için ikişer biyopsi örneği alınarak hasta başında BHIB içeren 2 ml'lik Eppendorf tüp içerisine aktarıldı. Kısa sürede laboratuvara ulaştırılan örneklerden birisi -20° C'de dondurularak PCR için DNA eldesi işlemine kadar saklanırken, diğerinden bakteriyolojik kültür ve Gram boyama yapıldı.

Çalışma kapsamındaki hastaların dışkıları petri kutuları içine alınarak -20° C'da dondurularak *H. pylori*'nin DNA eldesi işlemi öncesine kadar saklandı.

**Biyopsi örneklerinden *H. pylori* izolasyonu:** BHIB içerisinde laboratuvara ulaştırılan MB örneklerinin Skirrow selektif supplement (Oxoid) katılan ve % 5 oranında koyun kanı ilave edilen selektif Brucella agar besiyeri yüzeyine steril öze ile sürüldükten sonra tek koloni düşürme yöntemine göre ekimleri yapıldı. Ekimi yapılan plaklar mum-kavanoza yerleştirilerek 37° C'lik etüvde inkübe edildi (11). Kültürler 4-7 gün boyunca üreme yönünden takip edildi. Besiyerlerinde üreyen *H. pylori* şüpheli koloniler Gram boyama yapıp incelendi. Katalaz, oksidaz ve üreaz pozitifliği saptanan kolonilerin varlığında kültür sonuçları *H. pylori* açısından olumlu olarak kabul edildi (12).

Ekim işleminden hemen sonra biyopsi parçaları temiz bir lam üzerine aktarılarak diğer bir lam yardımıyla ezilmek suretiyle hazırlanan preparat Gram yöntemiyle boyanarak Gram-olumsuz tipik kıvrık çomakların varlığı *Helicobacter* cinsi yönünden olumlu olarak değerlendirildi.

**Biyopsi örneklerinden *H. pylori* DNA'sının elde edilmesi:** Alınan biyopsi örnekleri içerisinde BHIB bulunan iki ml'lik Eppendorf tüplere aktarıldı ve DNA eldesi yapılabilmek için -20° C'da saklandı. DNA eldesi amacıyla "NucleoSpin® Genomic DNA" kiti kullanıldı. Uygulanan işlemler kitin üretici firması tarafından kullanma klavuzunda belirtilen şekliyle uygulandı.

**Dışkı örneklerinden *H. pylori* DNA'sının elde edilmesi:** "Invisorb® Spin Stool DNA kit" isimli ticari ürün dışkı örneklerinden *H. pylori* DNA'sının elde edilmesi için kullanıldı. Petri kutuları içinde -20° C'da saklanmış olan 36 hastaya ait dışkı örneklerinden *H. pylori* DNA eldesi iş-

lemi için yapılan tüm uygulamalar, üretici firma tarafından kullanma klavuzunda belirtilen şekilde yapıldı.

Biyopsi ve dışkı örneklerinden elde edilen her bir örneğe ait DNA içeriği, PCR yapıldı kadar -20° C'da saklandı.

#### Örneklerde *H. pylori* varlığının PCR ile saptanması:

Biyopsi ve dışkı örneklerinden elde edilen DNA örneklerinde PCR, Applied Biosystem 5700 Real Time PCR aygıtı kullanılarak yapıldı. İçerisinde özgül primerler, prob, taq polimeraz enzimi, bu enzimin çalışması için gerekli MgCl<sub>2</sub> başta olmak üzere diğer içerikler cihaz için optimize edilmiş, firma tarafından sağlanan "PCR master mix" kiti, reaksiyon için kullanıldı. *Helicobacter pylori* için özgül primerler ve prob, firma tarafından 23S rRNA üzerinden hazırlanmış ve master miks solüsyonu ile birlikte sağlanmıştır. Bu master miks solüsyonundan 20 µl ve her bir örneğe ait DNA eldesinden 5 µl alınarak toplam 25 µl'lik hacimlerde, aygıtta ait ve firma tarafından *H. pylori* için hazırlanmış program kullanılarak PCR yapıldı. *Helicobacter pylori* NTCC 11637 standart suşu pozitif kontrol olarak kullanıldı. Sonuçlar; özgül primerlerin 5'-ucuna bağlanmış floresan boyaların, aygıtta ait kamera tarafından okunmasıyla aygıt tarafından otomatik olarak kaydedildi. PCR sonucunda her bir örneğe ait sonuçlar, polimeraz zincir reaksiyonunun bitimini takiben *H. pylori* için özgül DNA çoğalmalarının olup olmadığına göre değerlendirildi.

**İstatistiksel analizler, uygulanan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin hesaplanması:** MB PCR, dışkı PCR ve MB Gram boyama yöntemlerinin duyarlılık ve

özgüllüklerinin hesaplanmasında ise (MB kültür sonuçları geçerli kabul edilerek) metodolojik araştırma yöntemlerinden "Receiver Operating Characteristic (ROC)" eğrisi kullanıldı.

## BULGULAR

Üst gastro-intestinal yakınmaları olan ve endoskopik bulgulara göre 28 gastrit, altı peptik ülser, iki mide kanseri öntanısı konulan toplam 36 olgunun endoskopi ile alınan MB örneklerinde kültür, PCR ve Gram boyama yöntemleriyle ve alınımında herhangi bir invazif işlem gerektirmeyen dışkı örneklerinde PCR ile *H. pylori* varlığı araştırılmıştır.

*Helicobacter pylori* yönünden olguların 31 (% 86.1)'sinde yapılan testlerin en az birinden pozitif sonuç alınırken beş (% 13.9) olguda tüm testlerden negatif sonuç alınmıştır.

*Helicobacter pylori* varlığı saptanan 31 olgunun 16 (% 51.6)'sında yapılan tüm testlerden pozitif sonuç alınmıştır. Mide biyopsisi kültürlerinde 25 (% 69.4) örnekte *H. pylori* izole edilmiş, MB PCR ile 26 (% 72.2), Gram boyama ile 27 (% 75.0) ve dışkı PCR ile 20 (% 55.6) olguda *H. pylori* pozitifliği saptanmıştır (Tablo 1).

Geçerli test olarak kültür pozitifliği alındığında, yapılan testlerden elde edilen duyarlılık ve özgüllük oranları ile pozitif ve negatif prediktif değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Uygulanan testlere göre saptanan *H. pylori* dağılımı

| Yapılan inceleme        | <i>H. pylori</i> pozitif |      | <i>H. pylori</i> negatif |      | Toplam |       |
|-------------------------|--------------------------|------|--------------------------|------|--------|-------|
|                         | Sayı                     | %    | Sayı                     | %    | Sayı   | %     |
| Endoskopi gerektiren    |                          |      |                          |      |        |       |
| MB Kültür               | 25                       | 69.4 | 11                       | 30.6 | 36     | 100.0 |
| MB PCR                  | 26                       | 72.2 | 10                       | 27.8 | 36     | 100.0 |
| Gram boyama             | 26                       | 72.2 | 10                       | 27.8 | 36     | 100.0 |
| Endoskopi gerektirmeyen |                          |      |                          |      |        |       |
| Dışkı PCR               | 20                       | 55.6 | 16                       | 44.4 | 36     | 100.0 |

**Tablo 2.** MB PCR, dışkı PCR ve Gram boyama yöntemlerinin karşılaştırılması

|             | Duyarlılık (%) | Özgüllük (%) | PPD* (%) | NPD** (%) |
|-------------|----------------|--------------|----------|-----------|
| MB PCR      | 92.0           | 72.7         | 88.5     | 80.0      |
| Gram boyama | 88.0           | 63.6         | 84.6     | 70.0      |
| Dışkı PCR   | 68.0           | 72.7         | 85.0     | 50.0      |

\* PPD: Pozitif prediktif değer, \*\* NPD: Negatif prediktif değer

## TARTIŞMA

*Helicobacter pylori*'nin etken olduğu infeksiyonların tanısında kullanılan non-invazif yöntemlerinin başında ÜNT ve serolojik testler gelmektedir. Ayrıca, dışkı, ağız içi sekresyonları gibi örneklerden moleküler yöntemler kullanılarak da *H. pylori*'nin varlığı araştırılabilmektedir (9). Endoskopi işlemine gereksinim duyulan invazif tanı yöntemleri arasında histolojik inceleme, bakteriyolojik kültür, PCR ve hızlı üreaz testi sayılabilir. Her iki grup tanı yönteminin her birinin uygulama, hasta seçimi, sonuç alma süresi ve maliyetleri açısından avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. *Helicobacter pylori*'nin mikrobiyolojik kültürü, şüpheli olguların tanısında "altın standart" olmasına rağmen rutin bir tanı tekniği olarak kullanılması zordur. Kültür, özellikle ilaç direncinin yüksek olduğu popülasyonlarda antimikrobiyal direnç paternlerinin gösterilmesi amacıyla tercih nedeni olabilmektedir (13).

Yapılan çalışmalarda, gastro-intestinal yakınmalı olguların MB örneklerinden yapılan kültürlerde bildirilen *H. pylori* pozitiflik oranları genellikle yüksek olmasına rağmen geniş sayılabilecek bir aralıkta farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar büyük ölçüde bakterinin tanısında kullanılan yöntemlerin duyarlılıklarıyla ilişkili olarak ortaya çıkabileceği gibi *H. pylori*'nin dağılımında etkin olabilen değişikliklerin biraz önce belirtilen bölgesel ve sosyo-ekonomik özelliklerin farklılıklarından da ileri gelebilir. Üst gastro-intestinal yakınmalı hastalardan yapılan kültürlerde, Helvacı ve ark. (14) % 37.6, Kaklıkkaya ve ark. (15) %39.5 oranında bakteriyi izole etmişlerdir. Bu çalışmaların ilkinde duyarlılık % 64.0, özgüllük % 100.0, ikincisinde ise duyarlılık % 87.1, özgüllük % 99.0 oranında bulunmuştur.

Çalışmada ise aynı grup hastalarda % 69.4 oranında kültür pozitifliği saptanmıştır. Bu farklı oranların elde edilmesinde; çalışmaların yapıldığı bölgelerdeki *H. pylori* infeksiyon insidansının, sosyo-ekonomik ve sosyo-kültürel yaşam koşullarının, kullanılan bakteriyolojik tanı yöntemlerinin farklılıklarının, örneklerin alındığı mide bölgesindeki bakteri yoğunluğunun rol oynayabileceği söylenebilir.

Noninvazif testler *H. pylori* varlığı veya yokluğu konusunda bilgi vermesine rağmen, genotipik özellikler ve bakterinin antimikrobiyal direnç profili gibi bilgileri öğrenmeye olanak vermez. Gerek kültür sonucu üretilen mikro-organizmaya uygulanacak duyarlılık testleri, gerekse moleküler yöntemlerle direnç genlerinin saptanması (9) eradikasyonda uygun protokolün seçiminde klinisyene yol gösterecektir.

*Helicobacter pylori* infeksiyonunun sıklıkla yama tarzındaki seyirinden dolayı birçok testten yalancı negatif sonuç alma olasılığı vardır. Endoskopik olarak gastroduodenal lezyonun incelenmesi tanıda önemli yere sahiptir (16). Histolojik olarak MB örneğinin incelenmesi *H. pylori* infeksiyonuna bağlı gastrik inflamatuvar lezyonun tanımlanmasına olanak sağlamaktadır (17).

Kültür, antimikrobik duyarlılık testlerine fırsat vermesi mikro-organizmanın tür tayininin yapılabilmesine fırsat vermesi ve tanıda duyarlılığının yüksek olması nedeni ile tercih edilebilecek tanı yöntemidir. Fakat üremesi için mikro-aerofilik ortama ihtiyaç duyan *H. pylori*'nin bakteriyolojik kültürünü uygulamada güçlüklerle karşılaşmaktadır. Kültür sonuçlarındaki başarı uygun üreme koşullarının sağlanmasının yanı sıra materyalin alınması ve laboratuvara ulaştırılmasında uyulması gereken koşulların yerine getirilmesine bağlıdır.

Polimeraz reaksiyonu testi hastalık etkeni mikro-organizmanın tanınmasında kullanılan en yaygın moleküler yöntemdir. *Helicobacter pylori*'nin taranmasında ve tanımlanmasında ureA, ureB, ureC, cagA, adezin ve bu çalışmada kullanılan 23S rRNA geni gibi farklı gen dizileri kullanılabilir (7, 18). Testin doğruluğunu etkileyen faktörler arasında primer ve hedef DNA seçimi, örneğin hazırlanması, bakteri yoğunluğu, PCR uygulaması ile ilgili teknik konular yer almaktadır (19). Farklı hedef bölge ve primerlerin tercih edildiği değişik protokollerin uygulandığı PCR yöntemlerinde duyarlılık ve özgüllük değişmektedir (9). Li ve ark. (20) MB örneklerinden PCR ile *H. pylori* taranmasında duyarlılığın % 100 olduğunu bildirmişlerdir. Polimeraz reaksiyonu testi mide sıvısı, safra, dışkı ve ağız içi sekresyonlarındaki az sayıda bakterinin tespit edilmesine ve tedavi başarısının takibine olanak sağlamaktadır (8, 20, 21).

Polimeraz reaksiyonu testi bakterinin saptanması ve direnç profilinin yanısıra epidemiyolojik çalışmalarda *H. pylori* türleri arasındaki genetik farklılıkların taranması infeksiyonun yayılım yolları ve risk faktörlerini tanımlamada yardımcı olur (13, 19, 20, 22). Geniş ölçekli yapılacak genotipik çalışmalar bazı epidemiyolojik sorulara yanıt verebilecek olmasına rağmen *H. pylori* DNA'sının kolay elde edilememesi nedeniyle uygulanabilirliği kolay değildir (22). Polimeraz reaksiyonu testi uygulanması sırasında DNA izolasyon basamağında gerçekleştirilecek kontaminasyon, cansız mikro-organizmaların veya bunlardan arda kalan kromozomal DNA'nın bulunması yalancı pozitif sonuçlara neden olabilmektedir (9,23).

*Helicobacter pylori* DNA'sının eldesini mümkün kılacak materyallerden biri de dışkıdır. Dışkıdan *H. pylori* DNA'

sının taranması esasına dayalı çalışmalarda başarı % 25-100 arasında değişen oranlarda rapor edilmiştir. Bu değişiklikler muhtemelen dışkıdaki PCR inhibitörlerinin varlığına bağlıdır. İnsan dışkısı DNA eldesini inhibe edecek kompleks polisakkaritler gibi inhibitörler içermektedir (9, 24). Monteiro ve ark. (24) bakteri DNA'sının dışkıda aranması sırasında karşılaşılan inhibitörlerin olasılıkla diyetteki sebzelerden kaynaklanan kompleks polisakkaritler olduğunu belirtmişlerdir. MacKay ve ark. (22) *H. pylori* DNA'sının dışkıda PCR ile aranmasının çocuklar için uygulanmasının uygun olabileceğini belirtmektedirler. Makristathis ve ark. (25) dışkı örneklerinden PCR ve antijen arayarak yaptıkları çalışmada her iki yöntem ile başarılı sonuçlar almışlar fakat eradikasyon tedavisini takipte bir aylık dönemin yeterince etkili olmadığını belirtmişlerdir.

Dışkıdan *H. pylori* DNA'sının elde edilebilmesi endoskopi uygulanması gibi invazif bir işleme ihtiyaç duyulmadan tanıda materyal olarak MB örnekleri yerine direkt dışkı örneklerinin tercih edilebilirliğini düşündürmektedir. Kurokawa ve ark. (26) dışkı ve MB örneklerinden PCR yöntemi ile etkenin araştırıldığı bir çalışmada, duyarlılığı sırasıyla 68.1 ve 97.2 bulmuşlar ve gastrik biyopsi örneğinin alınmasında güçlüklerle karşılaştığı durumlarda dışkının tercih edilebileceğini belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışmada (7) dışkıdan DNA aranmasının, histoloji seroloji MB örneklerinden DNA aranması ile karşılaştırıldığında duyarlılığının % 73, özgüllüğünün ise % 100 olduğu bulunmuştur. Mide biyopsi örneklerinden *H. pylori* aranmasında kültür ve PCR yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada (27) kültürdeki duyarlılığın PCR'deki kadar olduğu sonucuna varılmıştır. Lage ve ark. (28) PCR'yi diğer invazif yöntemlere kıyasladıkları çalışmalarında,

duyarlılığı % 100, özgüllüğü ise % 97 bulmuşlar, PCR'in en az kültür kadar duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. He ve ark.'ları (23) yaptıkları çalışma sonrası MB örneklerinde kültür ve histopatolojik inceleme sonucu negatif olan birçok örnekte PCR ile pozitif sonuç bulmuşlar, kontaminasyon riskine de değinerek diğer tanı yöntemlerine oranla önemli bir teknik olduğunu belirtmişlerdir.

Matsukura ve ark. (29) yaptıkları çalışmalarında elde ettikleri sonuçlara göre gerek operasyon yapılmayan olgularda gerekse operasyon geçiren olgularda en yüksek tanı değerine sahip yöntemin kültür olduğuna karar vermişlerdir.

Sonuç olarak, MB kültürlerinden olumlu sonuç alınabilmesi özgün, zenginleştirilmiş ve seçici besiyerleri kullanılmasına ve klinik ve laboratuvar koordinasyonuna bağlıdır. Bu çalışmada duyarlılığı en yüksek test MB-PCR bulunmuştur. Mide biyopsisi-PCR maliyetinin yüksek oluşu ve uygulanması özel deneyim ve laboratuvar donanımı gerektirmesi bu testi dezavantajlı kılan durumlarıdır. *Helicobacter pylori* dışkı örneklerinden yapılan PCR'in duyarlılığı diğer testlere oranla düşük ancak özgüllüğü MB-PCR ile aynı oranda bulunmuştur. Dışkı-PCR'nin, örnek alınımı invazif bir işlemi gerektirmediği için özellikle çocuklarda, yaşlılarda ve endoskopi için uygun olmayan hastalarda tercih edilebilecek bir yöntem olarak değerlendirilmesi olasıdır. Bu çalışmada, Gram boyamanın özgüllüğü diğer testlere oranla düşük ancak duyarlılığı MB-PCR'ye yakın bulunmuştur. Bu inceleme yönteminin *H. pylori* tanısında kolay uygulanır olması, çabuk sonuç vermesi ve diğer tanı yöntemlerine göre maliyetinin çok daha düşük olması nedenleriyle tercih edilebileceği kanısına varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-5.
2. Warren JR. Spiral bacteria of the gastric antrum. *Med J Aust* 1984; 141: 477-8.
3. Marshall BJ, McGeachie DB, Rogers PA, Glancy RJ. Pyloric *Campylobacter* infection and gastroduodenal disease. *Med J Aust* 1985; 142: 439-44.
4. Peterson WL. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1043-8.
5. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1127-31.
6. Peterson WL. Review article: *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 40-6.
7. Gramley WA, Asghar A, Frierson HF Jr, Powell SM. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in fecal samples from infected individuals. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2236-40.
8. Bonamico M, Strappini PM, Bonci E, et al. Evaluation of stool antigen Test, PCR on tral samples and serology for the noninvasive detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter* 2004; 9: 69-76.
9. Kabir S. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in feces and saliva by polymerase chain reaction: a review. *Helicobacter* 2004; 9: 115-23.
10. Laheij RJ, de Boer WA, Jansen JB, van Lier HJ, Sneeberger PM, Verbeek AL. Diagnostic performance of biopsy-based methods for determination of *Helicobacter pylori* infection without a reference standard. *J Clin Epidemiol* 2000; 53: 742-6.

11. Fan XG, Li TG. Growth of *Helicobacter pylori* in candle jar. *J Med Microbiol* **1997**; 46: 354–5.
12. Erdem B. *Campylobacter* ve *Helicobacter*. Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*'de. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, **1999**: 531–40.
13. Huynh HQ. Invasive tests for *Helicobacter pylori* in children. *Can J Gastroenterol* **2005**; 19: 429–32.
14. Helvacı S, Güllten M, Yerci Ö, Akdiş C. Gastroduodenal patolojilerde *Helicobacter pylori* insidansı ve farklı tanı yöntemlerinin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* **1992**; 22: 6–9.
15. Kaklıkkaya N, Çubukçu K, Yazıcı Y ve ark. Gastrointestinal yakınması olan hastalarda Gram boyama, üreaz ve kültür testleri ile *Helicobacter pylori* varlığının belirlenmesi. *İnfek Derg* **2003**; 17: 329–32.
16. Bonamico M, Strappini PM, Bonci E, et al. Evaluation of stool antigen test, PCR on oral samples and serology for the noninvasive detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter* **2004**; 9:69–76.
17. De Korwin JD. Advantages and limitations of diagnostic methods for *H. pylori* infection. *Gastroenterol Clin Biol* **2003**; 27: 380–90.
18. Lim CY, Lee KH, Cho MJ, et al. Detection of *Helicobacter pylori* in gastric mucosa of patients with gastroduodenal diseases by PCR-restriction analysis using the RNA polymerase gene (rpoB). *J Clin Microbiol* **2003**; 41: 3387–91.
19. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* **1997**; 10: 720–41.
20. Li C, Ha T, Ferguson DA Jr, et al. A newly developed PCR assay of *H. pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces. Evidence of high prevalence of *H. pylori* in saliva supports oral transmission. *Dig Dis Sci* **1996**; 41: 2142–9.
21. Kabir S. Review article: Clinic-based testing for *Helicobacter pylori* infection by enzyme immunoassay of faeces, urine and saliva. *Aliment Pharmacol Ther* **2003**; 17: 1345–54.
22. MacKay WG, Williams CL, McMillan M, Ndip RN, Shepherd AJ, Weaver LT. Evaluation of protocol using gene capture and PCR for detection of *Helicobacter pylori* DNA in feces. *J Clin Microbiol* **2003**; 41: 4589–93.
23. He Q, Wang JP, Osato M, Lachman LB. Real-time quantitative PCR for detection of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 3720–8.
24. Monteiro L, Gras N, Vidal R, Cabrita J, Megraud F. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in human feces by PCR: DNA stability and removal of inhibitors. *J Microbiol Methods* **2001**; 45: 89–94.
25. Makrithatis A, Pasching E, Schutze K, Wimmer M, Rotter ML, Hirschl AM. Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* **1998**; 36: 2772–4.
26. Kurokawa M, Minamide M, Nukina M, et al. Usefulness of *Helicobacter pylori* detection from feces specimens of the patients with peptic ulcer by polymerase chain reaction. *Kansenshogaku Zasshi* **1997**; 71: 1168–71.
27. van Zwet AA, Thijs JC, Kooistra-Smid AM, Schirm J, Snijder JA. Sensitivity of culture compared with that of polymerase chain reaction for detection of *Helicobacter pylori* from antral biopsy samples. *J Clin Microbiol* **1993**; 31: 1918–20.
28. Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of cagA gene in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol* **1995**; 33: 2752–6.
29. Matsukura N, Tajiri T, Kato S, et al. Diagnostic value of culture, histology and PCR for *Helicobacter pylori* in the remnant stomach after surgery. *Aliment Pharmacol Ther* **2004**; 20: 33–8.

## İLETİŞİM

Dr. Muhammet Hamidullah UYANIK  
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
ERZURUM  
e-posta: mhuyanik@hotmail.com