

HELICOBACTER PYLORI'NİN İZOLASYONUNDA DÖRT FARKLI TAŞIMA ORTAMININ KARŞILAŞTIRILMASI

COMPARISON OF FOUR DIFFERENT TRANSPORT MEDIA FOR THE ISOLATION OF *HELICOBACTER PYLORI*

Fetiye KOLAYLI¹ Aynur KARADENİZLİ¹ Altay ÇELEBİ² Ömer ŞENTÜRK² Recep BİNGÖL¹

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmit / Kocaeli

¹ Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

² Gastroenteroloji Bilim Dalı

Anahtar Sözcükler: *Helicobacter pylori*, taşıma ortamı, triptik soya buyonu, %10 at serumu eklenmiş triptik soya buyonu, %0.9'luk NaCl, hipertonic glukoz

Key Words: *Helicobacter pylori*, transport medium, trypticase soya broth, trypticase soya broth supplemented with 10% horse serum, 0.9% NaCl, hypertonic dextrose

ÖZET

Helicobacter pylori'nin izolasyonu ve duyarlılık testlerinin yapılabilmesi için canlılığını sürdürebildiği uygun ortamlarda taşınması önemlidir. Bu çalışmada *H. pylori*'nin taşınması için hazırlanmış olan dört farklı ortamda 24 saat boyunca canlı kalabilmesinin araştırılması amaçlanmıştır. Taşıma ortamı olarak triptik soya buyonu (TSB), %10 at serumu eklenmiş TSB, %0.9'luk NaCl ve hipertonic glukoz (%20'lik) kullanılmıştır. Bu ortamlardan birinci ve 24. saatte yapılan ekimler sonucunda TSB, %10 at serumu eklenmiş TSB, %0.9'luk NaCl arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($X^2 = 4.28$, $p: 0.11$). *Helicobacter pylori* kültürü için gastrik biyopsilerin transportunda kolay hazırlanması ve ucuz olması nedeniyle güvenilir bir ortam olarak serum fizyolojinin kullanılabileceği düşünülmüştür. Hipertonik glukoz ise bu amaç için başarısız olarak değerlendirilmiştir.

SUMMARY

Transportation of *Helicobacter pylori* under appropriate conditions is important for isolation and antibiotic susceptibility tests. The purpose of this study was to compare four different media used in the transport of *H. pylori*. The viability of *H. pylori* for 24 hours were tested in four different media, namely, trypticase soya broth (TSB), TSB supplemented with 10% horse serum, 0.9% NaCl and 20% hypertonic dextrose. There was no statistically significant difference in the viability of the bacterium between TSB, TSB supplemented with 10% horse serum and 0.9% NaCl at the end of one and 24 hour(s) ($X^2 = 4.28$, $p: 0.11$). It is suggested that 0.9% NaCl, inexpensive and easily prepared, is a reliable medium for transportation of gastric biopsies for culturing of *H. pylori*. Hypertonic dextrose was evaluated as an inappropriate transport medium for the bacterium.

GİRİŞ

Helicobacter pylori kronik yüzeysel gastrit etkenidir. Ayrıca peptik ülserasyon, gastrik adenokarsinoma ve gastrik lenfoma gelişimi için bir risk faktörü oluşturmaktadır (1).

Helicobacter pylori nazlı üreyen bir bakteri olması nedeniyle kültürü zordur. Bu nedenle invazif bir girişim sonucu alınan gastrik biyopsi örneğinin hızlı ve uygun koşullarda transportu gerekir.

Transport amaçlı ortamlarda *H. pylori*'nin canlılığını sürdürrebilmesi, izolasyon ve duyarlılık testlerinin yapılabilmesi için önem taşımaktadır (2).

Bu çalışmada, transport amacıyla hazırlanmış olan dört farklı ortamda *H. pylori*'nin 24 saat boyunca canlı kalabilme özelliği araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Mayıs-Kasım 2001 tarihleri arasında Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda gastrit ya da duodenal ülser tanısı alan 57 hastadan endoskopi sırasında antrumdan alınan dörder biyopsi örneği alınmıştır. Hastalardan alınan biyopsi örnekleri hemen dört farklı transport ortamına konulmuştur. Bu amaçla triptik soya buyonu (TSB), %10 at serumu eklenmiş TSB, %0.9'luk NaCl ve hipertonic glukoz (%20'lik) ortamları kullanılmıştır.

Biyopsi örneklerini transport ortamlara konulduktan sonra steril koşullarda ikiye bölüp birini birinci saatte ve diğerini 24. saatte %5 koyun kanlı Mueller-Hinton besiyerine ekilmiştir. Besiyerleri mikro-aerofilik atmosferde (Campy-Gen, Oxoid), 37° C'de 72 saat inkübe edilmiştir. Biyopsi örneklerini içeren transport besiyerleri +4° C'de bekletilmiştir. *Helicobacter pylori* suşları Gram boyanma özelliği, oksidaz, katalaz ve üreaz reaksiyonları ile identifiye edilmiştir.

Transport amacıyla kullanılan ortamların karşılaştırılmasında istatistiksel analiz için χ^2 testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 57 hastanın 31'inde kültürde üreme saptanmıştır. İki hastanın Gram boyamasında *H. pylori* morfolojisinde bakteri görülmesine rağmen kültürde üretilmemiştir. Üremenin olmadığı ilk saat ekimlerinde, aynı hastaya ait biyopsilerin 24. saatteki kültürlerinde de üreme saptanmamıştır.

Otuzbir hastadan transport besiyerlerine alınan biyopsi örneklerinin birinci saatte yapılan kültürlerinden en az birinde *H. pylori* üretilmiştir. Yüzde 10 at serumu içeren TSB ortamından yapılan birinci saat ekimlerinde tüm biyopsi örneklerinden *H. pylori* izole edilmiş, TSB ve %0.9'luk NaCl'de taşınan biyopsilerin ise 29'unda üreme saptanmıştır. Hipertonik glukoz ortamında ise sadece 21 biyopsi örneğinden *H. pylori* izole edilmiştir. Transport ortamlarından 24. saatte yapılan ekimlerde; %10 at serumu içeren TSB ortamında bulunan 31 biyopsi örneğinin tümünden, TSB'daki biyopsilerin 29'undan, %0.9'luk NaCl içerisindeki biyopsi örneklerinin 27'sinden *H. pylori* üretilmiştir (Tablo 1).

Yüzde 20'lik dekstroz içerisine alınan biyopsi örneklerinden birinci saatte yapılan kültürlerde bakterinin üretilmemesi nedeniyle birinci saat ve 24. saatteki ekim sonuçları istatistiksel olarak değerlendirme kapsamına alınmamıştır.

Hipertonik glukoz dışındaki transport ortamları birinci ve 24. saat kültür sonuçları değerlendirildiğinde, üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($\chi^2 = 4.28$, $p = 0.11$).

TARTIŞMA

Helicobacter pylori insanlarda gastrik mukozadan izole edilen, gastrit, ülser ve adenokarsinoma oluşumuna neden olabilen Gram-negatif, spiral morfolojide bir bakteridir (3, 4). Mikro-aerofilik olup brusella buyonu, tioglikolatlı buyon, serum fizyolojik, hipertonic glukoz ve Stuart'ın transport besiyeri gibi ortamlarda yaşamını sürdürebilir (5).

Helicobacter pylori kültürü için örneğin taşınmasında standart olarak kabul edilen bir transport ortamı yoktur. Biyopsi örneklerinin kültürü için transport ortam olarak kullanılmış çeşitli besleyici ve tampon ortamlar kullanılmaktadır (6-8). Bu çalışmada da triptik soya buyonu (TSB), %10 at serumu eklenmiş TSB, %0.9'luk NaCl ve hipertonic glukoz transport ortamları kullanılmıştır. İnvazif bir

Tablo 1. Transport ortamlarında 1 ve 24. saatlerde yapılarak kültürlerde üretilen *H. pylori* suş sayısı

Transport ortamı	Biyopsilerin ekildiği saat			
	1. saat		24. saat	
	Üreme var	Üreme yok	Üreme var	Üreme yok
TSB	29	2	29	2
TSB+%10 at serumu	31	-	31	-
%0.9'luk NaCl	29	2	27	4
%20'lik glukoz	21	10	12	19

TSB: Triptik soya buyonu

girişim sonucu alınan gastrik biyopsi örneklerinden *H. pylori*'nin izolasyonunun zor ve uzun zaman alması nedeniyle bakteriyi kaybetmemek amacıyla TSB ortamı ve TSB+%10 at serumunun kullanılmasına karar verilmiştir. Yaygın olarak kullanılan serum fizyolojik ve hipertonic glukoz ile karşılaştırıldığında, sadece iki biyopsi örneğinde TSB ve serum fizyolojikte üreme görülmemiştir. Yüzde 10 at serumu ile zenginleştirilmiş ortamdan yapılan tüm kültürlerde hem birinci saat hem de 24. saatte *H. pylori* üretilmiştir. Üç ortam karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bazı yayınlarda transport ortam olarak hipertonic dekstroz solü-

yonu kullanıldığı bildirilmiştir (9). Bu çalışmada; hipertonic glukoz, biyopsilerin birinci saat ekimlerinde bakteriyi üretememesi nedeniyle bakterinin taşınmasında başarısız olarak değerlendirilmiştir.

Yüzde 10 at serumu eklenmiş olan TSB ortamından hem birinci saat hem de 24. saatte yapılan ekimlerde tüm biyopsi örneklerinden *H. pylori* izole edilmesine karşır TSB ve serum fizyolojikle arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Serum fizyolojik, kolay hazırlanması ve ucuz olması nedeniyle güvenilir bir transport ortamı olarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 720-41.
2. Deltenre M, Glupczynski Y, DePerez C, et al. The reliability of urease tests, histology and culture in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. Scand J Gastroenterol 1989; 24 (Suppl 160): 19-24.
3. Buckley MJ, O'Morain CA. *Helicobacter* biology-discovery. Br Med Bull 1998; 54: 7-16.
4. Farthing MJG. *Helicobacter pylori* infection: an overview. Br Med Bull 1998; 54: 1-6.
5. Soltrez V, Zeeberg B, Weadstrom T. Optimal survive of *Helicobacter pylori* under various transport conditions. J Clin Microbiol 1992; 30: 1453-6.
6. Xia HX, Keane CT, O'Morain CA. Determination of the optimal transport system for *Helicobacter pylori* cultures. J Med Microbiol 1993; 39: 334-7.
7. Veenendaal RA, Lichtendahl-Bernards AT, Pena AS, Endtz H, van Boven CPA, Lamers CBHW. Effect of transport medium and transportator time on culture of *Helicobacter pylori* from gastric biopsy specimens. J Clin Pathol 1993; 46: 561-3.
8. Heep M, Scheibl K, Degrell A, Lehn N. Transport and storage of fresh and frozen gastric biopsy specimens for optimal recovery of *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol 1999; 37: 3764-6.
9. Fallone CA, Barkun AN, Friedman G, et al. Is *Helicobacter pylori* eradication associated with gastroesophageal reflux disease. Am J Gastroentero 2000; 95: 914-20.