

Gastroduodenal Patolojileri Olan Hastaların Antrum ve Korpus Biyopsi Örneklerinde *Helicobacter pylori* Aranmasında Kültür ve GLMM-PCR Yöntemlerinin Karşılaştırılması

A Comparison of Culture and GLMM-PCR Methods for Detecting *Helicobacter Pylori* in Antral and Corpus Biopsy Specimens in Patients with Gastroduodenal Disorders

Dr. Toğrul NAĞIYEV,^a
Dr. Fatih KÖKSAL,^a
Dr. Bahri ABAYLI,^b
Dr. Erkan YULA^a

^aMikrobiyoloji AD,
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Adana

^bGastroenteroloji Kliniği,
Sağlık Bakanlığı Adana Çukurova
Devlet Hastanesi, Adana

Bu çalışmanın bir kısmı 21-25 Ekim 2008 tarihinde Bodrum'da gerçekleşmiş olan XXXIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde "Helicobacter pylori ilişkili gastroduodenal hastalıkların tanısında kullanılan kültürde izolasyon ve ureC(glmM)-PCR yöntemlerinin karşılaştırılması" başlığı ile poster özeti olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi/Received: 03.11.2008
Kabul Tarihi/Accepted: 08.05.2009

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Toğrul NAĞIYEV
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dekanlığı, Mikrobiyoloji AD, Adana,
TÜRKİYE/TURKEY
togrulbey@yahoo.com

ÖZET Amaç: *Helicobacter pylori* (*H.pylori*)'nin in vitro şartlardaki üreme güçlüğü, bakteri izolasyonuna dayalı tanı yöntemlerinin duyarlılığını düşürmektedir. Buna karşılık, bakterinin glmM (eski ureC) genini hedef alan PCR yöntemi birçok çalışmada kültüre alternatif olarak gösterilmiştir. Çalışmamızda bu iki yöntemin karşılaştırılması, ayrıca *H.pylori*'nin gastrik lokalizasyonunun bu testlerin duyarlılık ve uygulanabilirliğine olan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmaya daha önce *H.pylori* için tedavi almamış olan toplam 231 hastadan (158'i gastrit ve/veya mide ülserli, 73'ü duodenal ülserli) alınan ikişer antrum ve ikişer korpus biyopsi örneği dahil edildi. Antrum ve korpus örneklerinden birer tanesi *H.pylori* izolasyonu için, %7 at kanı ve antibiyotik içeren modifiye Columbia Agar besiyerlerine ekildi. Kalan örnekler *H.pylori* glmM gen dizilerine özgül primerler kullanılarak PCR yöntemi ile incelendi. **Bulgular:** *H.pylori*, kültür yöntemi ile 231 antrum biyopsi örneğinden 163'ünde (%70.6) ve glmM-PCR yöntemi ile 201'inde (%87.0) tespit edildi ($p < 0.001$, χ^2 testi). *H.pylori*-pozitif olan korpus örnek sayıları sırası ile 97 (%42.0) ve 154 (%66.7) olarak bulundu ($p < 0.001$, χ^2 testi). *H.pylori* tanısında daha yüksek pozitiflik elde edilen glmM-PCR yöntemi tanı için altın standart olarak kabul edildiğinde, kültürün özgüllüğünün her iki örnek grubu için %100, duyarlılığının ise antrum örnekleri için %81.1 ve korpus örnekleri için %63.0 olduğu belirlendi. **Sonuç:** Bulgularımız, *H.pylori* ile ilişkili gastroduodenal hastalıkların tanısında kültür yönteminin daha az duyarlı olduğunu, özellikle korpus predominant gastrit ve/veya mide ülserli hastalardan alınan korpus biyopsi örneklerinde duyarlılığının %58.4'e düştüğünü göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*; kültür; polimeraz zincir tepkimesi; fosfoglukozamin mutaz; biyopsi

ABSTRACT Objective: The difficulty of growing of *Helicobacter Pylori* (*H.pylori*) under in vitro conditions decreases sensitivity of diagnostic methods based on bacterial isolation. However, the PCR method targeting glmM (formerly ureC) gene of bacteria was shown as an alternative to culture in many studies. The aim of our study was to compare these two methods, as well as to determine the effect of gastric localization of *H.pylori* on sensitivity and applicability of these methods. **Material and Methods:** This study included two antral and two corpus biopsy samples obtained from 231 patients (158 with gastritis and/or gastric ulcer and 73 with duodenal ulcer) without prior treatment for *H.pylori*. One antral and one corpus sample were cultivated in modified Columbia agar media containing horse blood (7%) and antibiotics for *H.pylori* isolation. The other samples were investigated by PCR assay using specific primers for *H.pylori* glmM gene sequences. **Results:** *H.pylori* was detected by culture method in 163 (70.6%) and by glmM-PCR method in 201 (87.0%) of 231 antral biopsy samples ($p < 0.001$, χ^2 test). The numbers of *H.pylori*-positive corpus samples were found as 97 (42.0%) and 154 (66.7%), respectively ($p < 0.001$, χ^2 test). Assuming glmM-PCR method which have higher positivity on the diagnosis of *H.pylori* as the gold standard, specificity of culture for both sample groups were 100%, however, its sensitivity was detected as 81.1% for antral samples and 63.0% for corpus samples. **Conclusion:** Our results indicate that culture method is less sensitive for diagnosis of *H.pylori*-related gastroduodenal diseases; its sensitivity decreases to 58.4% in corpus biopsy samples obtained from the patients with corpus predominant gastritis and/or gastric ulcer.

Key Words: *Helicobacter Pylori*; culture; polymerase chain reaction; phosphoglucoamine mutase; biopsy

H*elicobacter pylori* (*H. pylori*) insanlar ve primatlarda mide mukozasına kolonize olarak, non-ülser dispepsiden gastrik adenokarsinomaya kadar değişen gastroduodenal patolojilerden sorumlu olan gram negatif, mikroaerofilik bir mikroorganizmadır. Dünya nüfusunun yaklaşık olarak %50'sinden fazlasını infekte eden *H. pylori*, infekte kişilerin %10-15'inde semptomatik infeksiyon oluştururken, eradike edilemeyen olguların %2-4'ünde gastroduodenal patoloji intestinal veya diffuz tip mide kanseri ile sonuçlanmaktadır.¹⁻³

H. pylori'nin mide mukozasında lokalizasyonu ile hastalığın prognozu arasındaki ilişkiyi açıklayan çok sayıda klinik çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda, *H. pylori*'nin neden olduğu antral predominant gastritte artan mide asit sekresyonu nedeniyle duodenal ülserin, korpus predominant gastritte de aklorhidria ile atrofik gastrit ve bağlantılı olarak gastrik karsinomanın gelişebildiği ifade edilmektedir.⁴⁻⁸ Diğer taraftan, gerbillerde yapılan çalışmalarda *H. pylori* suşlarının mide korpusuna kolonizasyonunda cagPI ve CagA'nın gerekli ya da çok önemli faktörler olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, endoskopik muayenenin, tanı amaçlı biyopsi materyali almanın dışında bakterinin lokalizasyonunun klinik prognoza etkisini tespiti için de önemli olduğu vurgulanmıştır.^{9,10}

H. pylori'nin mide mukozasındaki kolonizasyonunu tespit için bakterinin kültür ortamında izolasyonu altın standarttır. Ancak, mikroorganizmanın %10 ve üzerindeki oksijene duyarlılığı ve genomunda regülatör genlerinin azlığı nedeni ile in vitro şartlardaki üreme güçlüğü, izolasyon yönteminin duyarlılığını düşürmektedir. Klinik materyalde *H. pylori* tanısında, bu bakteriye ait *16S rRNA* geni, *23S rRNA* geni, 26-kDa'luk türe özgül antijen (*SSA*) geni, *ureA*, *ureB* ve *glmM* (eski *ureC*) gibi genler içerisindeki özgül ve korunmuş dizilerin çoğaltılmasını hedefleyen PCR bazlı teknikler kültürün en önemli alternatifidir.^{11-20,23} Son yıllarda bir çok araştırmacı tarafından, en az *16SrRNA*-PCR kadar sensitif ve kültür kadar özgül olduğu ileri sürülen *glmM* genini hedef alan PCR yönteminin tanı amaçlı kullanımı önerilmiştir.^{13,14,17,19}

Gastroduodenal patolojisi olan hastalardan alınan antrum ve korpus biyopsi örneklerini değerlendirdiğimiz bu çalışmada kültür ve *glmM*-PCR yöntemlerinin tanıda kullanılabilirlik ve duyarlılıkları ile gastrik lokalizasyonun bu testlerin duyarlılığına olan olası etkisinin tespiti amaçlanmıştır. Bu çalışma ülkemizde antrum ve korpus örneklerinin bu iki yöntemle eş zamanlı olarak değerlendirildiği ve gastroduodenal patoloji ile kıyaslandığı ilk çalışmadır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınarak yapılan bu çalışmaya, Ocak 2005 – Ocak 2006 tarihleri arasında kalan toplam 12 aylık süre içerisinde Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Anabilim Dalı ile Sağlık Bakanlığı Adana Çukurova Devlet Hastanesi Gastroenteroloji polikliniklerine gastroduodenal yakınmalarla başvuran hastalardan alınan biyopsi örnekleri dahil edildi. Daha önce *H. pylori* için tedavi almamış olan ve endoskopik muayenede; 158'ine gastrit ve/veya mide ülseri (G/MÜ), 73'üne de duodenal ülser (DÜ) tanısı konulan toplam 231 hastadan, ikisi antrum ve ikisi de korpus bölgelelerinden olmak üzere toplam 924 biyopsi örneği alındı. Biyopsi örnekleri %3 gliserin içeren beyin kalp infüzyon buyyonu (OXOID LTD. CM0225) içerisinde, kuru buz içeren taşıyıcı kaplarda en geç iki saatte laboratuvara ulaştırıldı. Antrum ve korpus örneklerinden birer tanesi *H. pylori*'nin kültür ortamında izolasyonu için kullanılırken, ikinci örneklerden ekstrakte edilen DNA *glmM*-PCR testi için kalıp olarak kullanıldı.

KÜLTÜR

Biyopsi örnekleri steril cam baget yardımı ile mekanik olarak parçalandıktan sonra *H. pylori* izolasyonu için %7 eskitilmiş at kanı ve %1 isovitalax ile 10 mg/l vancomycin (Sigma), 5 mg/l trimethoprim lactate (Sigma), 10 mg/l seftriaxone (Sigma) ve 6 mg/l amphotericin B (Sigma) içeren modifiye Columbia agar (DIFCO LAB. 0792-01-1) besiyerine ekildi. Besiyerleri %80 N, %15 CO₂ ve %5 O₂ içeren mikroaerofilik atmosfer sağlayan Campy Pak Plus (BD-BBL Microaerophylic system 271045-5235591) ilaveli kavanozda 37 °C'de 4-7 gün süre

ile inkübe edildi. İnkübasyon periodu sonunda, besiyerlerinde üreyen 0.3-0.5 mm çaplı, gri, opak, non-hemolitik, S tipi koloni oluşturan gram negatif vibriolar oksidaz ve üreaz enzim aktiviteleri yönünden araştırılarak *H. pylori* tanısına gidildi.

PCR

İkinci biyopsi örnekleri QIAGEN doku DNA ekstraksiyon kiti (QIAGEN QIAamp DNA Mini Kit - Lot No: 11872534, Kat No: 51306) ile ekstrakte edildikten sonra, elde edilen DNA örnekleri PCR yönteminde kalıp olarak kullanıldı. *H. pylori glmM* gen dizisinin tespitinde bu gene ait 294 bp uzunluğundaki özgül fragmenti hedef alan glmM1-F (5'-AAG CTT TTA GGG GTG TTA GGG GTT T-3') ve glmM2-R (5'-AAG CTT ACT TTC TAA CAC TAA CGC-3') primerleri kullanıldı.^{19,21} Amplifikasyon; 10 mM Tris-HCl (pH= 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, herbir dNTP'den 200 µM, herbir primerden 25 pmol, 2.5 U *Taq* polimeraz ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon için APPLIED BIOSYSTEMS-2720 Termal Döngü cihazı kullanıldı.

Amplifikasyon aşamaları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

1. 94 °C'de 4 dak. - ilk denaturasyon
2. 93 °C'de 1 dak. - denaturasyon
55 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing) 35 döngü
72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)
3. 72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü %2'lik agaroz jel elektroforezi ile araştırıldı ve jel görüntüleme sistemi (DNR Bio-Imaging Systems Visible & Ultraviolet Transilluminator, MiniBIS Bi-

o-Imaging System) ile görüntülenerek kaydedildi.

Bulguların istatistiksel analizi için Ki Kare Fisher Exact Test kullanıldı ve karşılaştırmalarda istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

BULGULAR

Kültür yöntemi ile 163 (%70.6) hastanın antrum örneğinden *H. pylori* izole edilirken, *glmM* genini hedefleyen PCR testi ile 201 (%87.0) antrum örneğinde *H. pylori* için özgül DNA dizilerinin varlığı tespit edildi ve bu fark anlamlı bulundu (p< 0.001). Korpus biyopsi örneklerinde ise kültür yöntemi ile 97 (%42.0), *glmM*-PCR testi ile 154 (%66.7) *H. pylori* pozitifliği elde edildi. Korpus biyopsi örneklerinde de *glmM*-PCR'ın pozitiflik oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p< 0.001) (Tablo 1).

H. pylori suşları için son derece özgül ve duyarlı olduğu bilinen *glmM*-PCR sonuçları altın standart olarak kabul edildiğinde, kültürün özgüllüğünün her iki lokalizasyon için %100, duyarlılığının ise antrum örnekleri için %81.1, korpus örnekleri için %63.0 olduğu, özellikle de G/MÜ'li hastalardan alınan korpus örneklerinde kültürün duyarlılığının %58.4'e düştüğü belirlenmiştir (Tablo 2 ve 3).

TARTIŞMA

Mide biyopsisi örnekleri ve mide sıvısı gibi klinik örneklerden *H. pylori* tanısı amacı ile modifiye besiyerlerinin kullanıldığı kültür bazlı yöntemler ile bakteri genomundaki özgül ve korunmuş dizilerin çoğaltılmasını hedefleyen PCR bazlı tekniklerin karşılaştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmıştır.¹¹⁻¹⁹ Bu çalışmalar sonunda *16S rRNA* genini hedef alan

TABLO 1: Endoskopik tanıya göre antrum ve korpus biyopsi örneklerinde kültür ve *glmM*-PCR ile saptanan *H. pylori* pozitifliğinin dağılımı.

Endoskopik Tanı	Klinik Örnek	Kültür (+) Sayı (%)	glmM-PCR (+) Sayı (%)	p Değeri
G/MÜ (n=158)	Antrum	101 (63.9)	131 (82.9)	<0.001
	Korpus	66 (41.8)	113 (71.5)	<0.001
DÜ (n=73)	Antrum	62 (84.9)	70 (95.9)	0.046
	Korpus	31 (42.5)	41 (56.2)	0.136
Toplam (n=231)	Antrum	163 (70.6)	201 (87.0)	<0.001
	Korpus	97 (42.0)	154 (66.7)	<0.001

G/MÜ – Endoskopik olarak gastrit ve/veya mide ülseri tanısı almış hastalar.

DÜ – Endoskopik olarak duodenal ülser tanısı almış hastalar.

TABLO 2: Antrum biyopsi örneklerinde *H.pylori* varlığına göre kültür ve *glmM*-PCR test sonuçlarının karşılaştırılması

Endoskopik Tanı		<i>glmM</i> -PCR (+)	<i>glmM</i> -PCR (-)
		Sayı (%)	Sayı (%)
G/MÜ	Kültür (+)	101 (77.1)	-
	Kültür (-)	30 (22.9)	27 (100)
DÜ	Kültür (+)	62 (88.6)	-
	Kültür (-)	8 (11.4)	3 (100)
Toplam	Kültür (+)	163 (81.1)	-
	Kültür (-)	38 (18.9)	30 (100)

G/MÜ – Endoskopik olarak gastrit ve/veya mide ülseri tanısı almış hastalar.

DÜ – Endoskopik olarak duodenal ülser tanısı almış hastalar.

TABLO 3: Korpus biyopsi örneklerinde *H.pylori* varlığına göre kültür ve *glmM*-PCR test sonuçlarının karşılaştırılması.

Endoskopik Tanı		<i>glmM</i> -PCR (+)	<i>glmM</i> -PCR (-)
		Sayı (%)	Sayı (%)
G/MÜ	Kültür (+)	66 (58.4)	-
	Kültür (-)	47 (41.6)	45 (100)
DÜ	Kültür (+)	31 (75.6)	-
	Kültür (-)	10 (24.4)	32 (100)
Genel	Kültür (+)	97 (63.0)	-
	Kültür (-)	57 (37.0)	77 (100)

G/MÜ – Endoskopik olarak gastrit ve/veya mide ülseri tanısı almış hastalar.

DÜ – Endoskopik olarak duodenal ülser tanısı almış hastalar.

PCR bazlı yöntemlerin yüksek duyarlılık, ancak düşük özgüllüğe sahip olmasına karşılık, *glmM* ve *SSA* genini hedef alan PCR uygulamalarının en az *16S rRNA*-PCR kadar duyarlı ve kültür yöntemi kadar özgül olduğu gösterilmiştir.¹¹⁻¹⁹

Moncayo JI ve ark.¹³ yaptıkları bir çalışmada, *H.pylori* tanısı için hastalardan alınan antrum, korpus ve fundus biyopsi örneklerini kültür yöntemiyle, antrum ve korpus biyopsi örneklerini histolojik yöntemlerle, sadece antrum biyopsi örneklerini de *glmM*-PCR ve HÜT (Hızlı Üreaz Testi) ile değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada antrum biyopsi örneklerinde %79.5'i hem histolojik yöntemlerle, hem de HÜT ile, %75.4'ü ise kültür ile *H. pylori* yönünden pozitif bulunmuşken, *glmM*-PCR pozitifliği %86.3 olarak bildirilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak *glmM*-PCR'in duyarlılığının %89 olduğu vurgulanmıştır. Ancak, bu araştırmacılar histolojik incelemede antrum ve korpus örneklerini birlikte değerlendirdikleri zaman histolojik yöntemlerin da-

ha güvenilir olduğunu bildirmiş, diğer taraftan PCR ile sadece antrum örneklerini çalışmışlardır.¹³ Bu bulgular antrum biyopsi örneklerinden *glmM*-PCR ile elde ettiğimiz sonuçla benzerdir.

Buna karşılık, Mishra KK ve ark. dispeptik yakınmalı hastaların gastrik biyopsi örnekleri ile yaptıkları ve tanıda yine *glmM*-PCR, HÜT, kültür ve histolojik yöntemleri kullandıkları çalışmalarında; *H.pylori* pozitiflik oranları sırası ile %53, %43, %48 ve %50 olarak tespit etmişlerdir.¹⁴ Bu çalışmada gastrik biyopsi örneklerinde tüm yöntemlerle beklenen oranların altında *H. pylori* pozitifliği bildirilmiştir. Bu durum kullanılan yöntemlerin duyarlılığının yanısıra, uygulayıcının tecrübesi, biyopsi örneklerinin alınışı ve taşınması ile sosyal çevreden kaynaklanabilir. Ancak sonuç olarak bu araştırmacılar, *glmM*-PCR testinin sensitivitesinin %95, spesifitesinin de %100 olduğunu belirterek, *glmM*-PCR yönteminin histolojik değerlendirme de dahil olmak üzere diğer üç yöntemle göre daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.¹⁴

Lage AP ve ark. gastrik biyopsi örneklerinde *glmM*-PCR, kültür, HÜT ve histolojik olarak değerlendirmişler; testlere göre pozitiflik oranları sırası ile %38.5, %36.5, %34.6 ve %33.7 olarak belirlenmiş ve *glmM*-PCR'in en az kültür kadar spesifik, ancak kültürden daha duyarlı olduğu belirtmişlerdir.¹⁵ Bu araştırmacılar, Moncayo ve ark.'nın aksine histolojik muayenenin tanı değerinin diğer yöntemlerden düşük olduğunu vurgulamışlardır.^{13,15}

Benzer bir çalışmada da, Bickley J ve ark. 62 gastrik biyopsi örneğinde kültür ve PCR'in tanı değerlerini karşılaştırmışlar, *glmM*-PCR'in kültür kadar özgül olmasına karşılık, %96 kadar yüksek bir duyarlılık oranına sahip olduğunu belirtmişlerdir.¹⁶

Lee ve Hong, *glmM*-PCR yönteminin duyarlılığını kültür ile kıyasladıkları çalışmalarında kronik gastrit, GÜ'li ve DÜ'li 81 hastaya ait gastrik biyopsi örneğini değerlendirmişlerdir.¹⁷ Çalışma sonunda testlerin sensitivite, spesifite pozitif ve negatif anlamlılık değerleri ile tanı değerlerini; sırası ile kültür için %85, %100, %100, %58 ve %88, *glmM*-PCR için ise %96, %100, %100, %82 ve %96 olarak bildirilmiştir. Sonuçta da, *glmM*-PCR'in duyarlılığının, negatif anlamlılık değeri ve tanı değerinin kültürden daha yüksek olduğu rapor

edilmiştir.¹⁷

Romero-Lopez C ve ark. da, *ureA*, *ureA+B* ve *glmM* genlerini hedef alan primerlerin kullanıldığı üç PCR modifikasyonunu duyarlılık yönünden karşılaştırdıkları çalışmalarında, çalışmamızda da hedeflenen *glmM* genine ait 294 bp'lik gen parçasını amplifiye etmek üzere tasarlanan PCR'in diğer iki teste göre daha duyarlı olduğu sonucuna ulaşmışlardır.¹⁸

Lu JJ ve ark. *H. pylori* tespitinde kullanılan 16S *rRNA* geni, rastgele kromozom dizisi, *SSA* geni, *ureA* geni ve *glmM* genini hedef alan beş farklı PCR yöntemini karşılaştırmışlardır.¹⁹ Bu çalışmada, gastrik biyopsi örneklerinde *H. pylori glmM* genine ait 294 bp'lik gen parçasınının araştırılmasının en duyarlı ve özgül yöntem olduğu ve *glmM*-PCR'in pozitif ve negatif anlamlılık değerlerinin de sırası ile %100 ve %96 olduğu bildirilmiştir.¹⁹

Yukarıdaki bilgilerden de anlaşılacağı gibi, *H. pylori* tanısında bakterinin genomundaki özgül ve korunmuş gen bölgelerinin amplifikasyonunu esas alan PCR bazlı yöntemler histokimyasal boyama, kültür veya serolojik temelli klasik tanı yöntemlerine göre hızlilik, yüksek duyarlılık ve özgüllük gibi önemli avantajlara sahiptir. Çalışmamızda da PCR testi için, Lu ve ark. ile Romero-Lopez ve ark.nın hedef olarak seçtiği *glmM* genine ait 294 bp uzunluğundaki DNA bölgesini hedef alan primerler kullandık.^{18,19} Her iki çalışmada da belirtildiği gibi, kullanılan *glmM*-PCR protokolü, kültür de dahil tanı için kullanılan bütün yöntemlerden daha duyarlı ve özgüldür. Tablo 1'de verilen sonuçlardan da anlaşılacağı gibi, çalışmamızda da *glmM*-PCR yönteminin tanı değerinin kültür yöntemine göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda gerek PCR ile gerekse kültür ile korpus biyopsi örneklerinden elde edilen pozitiflik oranlarının düşük bulunması dikkat çekicidir. Korpus örneklerinden elde edilen düşük pozitiflik, *H. pylori*'nin gastrik mukozadaki ilk kolonizasyonunda antrumu tercih etmesi ve ilerleyen dönemde mikroçevre, hasta ve bakteriye ait virulans farklılıklarına bağlı olarak korpusa da göçü ile açıklanabilir. Nitekim Tablo 1'de görüldüğü gibi, gerek G/MÜ'li gerekse DÜ'li hasta gruplarında, referans yöntem olarak kabul ettiğimiz *glmM*-PCR ile an-

trum pozitifliği aynı hasta gruplarındaki korpus pozitifliğine oranla daha yüksek bulunmuştur. Bu beklenen oransal farklılık arasında, özellikle duodenal ülserli hastalara ait korpus örneklerindeki çok düşük oran, *H. pylori* gastrik kolonizasyonu ile gastroduodenal patolojinin prognozu arasındaki olası ilişkiyi desteklemektedir. Nitekim Bolek ve ark. *H. pylori* antrum kolonizasyonu ile gastroduodenal patoloji arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında; gastritli, DÜ'li ve MÜ'li hastalarda *H. pylori* için elde ettikleri yüksek pozitiflik oranları ile ilişkilendirilerek ilk kolonizasyon ve patolojik değişimin antrumda başladığını rapor etmişlerdir.²²

H. pylori gastrik kolonizasyonu ile gastroduodenal patoloji arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda bildirilen önemli sonuçlardan biri de bakterinin korpus kolonizasyonunun gastrik adenokarsinomalara giden yolda ilk adım oluşudur.⁴⁻¹⁰ Bu nedenle, her ne kadar antrum kolonizasyonu infeksiyon için bir delil sayılsa bile, kuşku halinde *H. pylori*'nin korpus kolonizasyonunun gösterilmesi eradikasyon çalışmalarının takibi açısından önemlidir. Özellikle korpus predominant G/MÜ'li hastalarda *H. pylori*'nin korpus kolonizasyonunu göstermek amacı ile alınan biyopsi örneklerinde, *glmM*-PCR'a göre kültür yönteminin duyarlılığının daha düşük olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, *H. pylori*'ye bağlı gastroduodenal patolojisi olan hastalara ait biyopsi örneklerinde *H. pylori* tanısında, mikroorganizmanın *glmM* genine ait özgül ve korunmuş dizilerin amplifikasyonuna dayalı yöntemin mikroorganizmanın izolasyonuna yönelik selektif kültür yöntemlerine göre daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu görülmüş ve özellikle endoskopik muayenede korpus lezyonu tespit edilen hastalarda kültür yerine *glmM*-PCR'ın tanı yöntemi olarak tercih edilmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışmayı Araştırma Fonu TF. 2004D3 numaralı proje olarak destekleyen Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve BAYG-NATO PC-A2 Doktora Bursu (2002-2005) ile destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na teşekkür ediyoruz.

KAYNAKLAR

- Köksal F. *Helicobacter Pylori*. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editörler. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002. p. 1643-7.
- Forman D. The prevalence of *Helicobacter Pylori* infection in gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9 Suppl 2:71-6.
- Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter Pylori* infection. *N Engl J Med* 2002;347(15):1175-86.
- Magalhães AF, Almeida JR, Guerrazzi F, Yamanaka A, Mesquita MA, Trevisan MA, et al. [Chronic gastritis associated to *Helicobacter Pylori* in patients with non-ulcerating dyspepsia and with duodenal ulcer]. [Article in Portuguese] *Rev Paul Med* 1991;109(5):197-203.
- Fiocca R, Villani L, Luinetti O, Gianatti A, Perego M, Alvisi C, et al. *Helicobacter* colonization and histopathological profile of chronic gastritis in patients with or without dyspepsia, mucosal erosion and peptic ulcer: a morphological approach to the study of ulcerogenesis in man. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1992;420(6):489-98.
- Nguyen TN, Barkun AN, Fallone CA. Host determinants of *Helicobacter Pylori* infection and its clinical outcome. *Helicobacter* 1999;4(3):185-97.
- Blaser MJ, Atherton JC. *Helicobacter Pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 2004;113(3):321-33.
- Bahmanyar S, Ye W, Dickman PW, Nyrén O. Long-term risk of gastric cancer by subsite in operated and unoperated patients hospitalized for peptic ulcer. *Am J Gastroenterol* 2007;102(6):1185-91.
- Moran AP. Pathogenic properties of *Helicobacter Pylori*. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996;31 (Suppl 215):22-31.
- Hatakeyama M, Brzozowski T. Pathogenesis of *Helicobacter Pylori* infection. *Helicobacter* 2006;11 Suppl 1:14-20.
- Tiveljung A, Borch K, Jonasson J, Mårdh S, Petersson F, Monstein HJ. Identification of *Helicobacter* in gastric biopsies by PCR based on 16S rDNA sequences: a matter of little significance for the prediction of *H. pylori*-associated gastritis? *J Med Microbiol* 1998;47(8):695-704.
- Casazza S, Tunesi G, Marinaro E, Caruso F, Canepa M, Michetti P, et al. [Detection of *Helicobacter Pylori* in 201 stomach biopsies using the polymerase chain reaction, histological staining (H&E/Giemsa) and immunohistochemistry]. [Article in Italian] *Pathologica* 1997;89(4):405-11.
- Moncayo JI, Santacruz JJ, Alvarez AL, Franco B, Lopez MA, Angel A, et al. Comparison of methods in the diagnosis of *Helicobacter Pylori* infection in Quindío, Colombia. *Revista Colombia Medica* 2006;37(3):203-12.
- Mishra KK, Srivastava S, Dwivedi PP, Prasad KN, Ayyagari A. *UreC* PCR based diagnosis of *Helicobacter Pylori* infection and detection of *cagA* gene in gastric biopsies. *Indian J Pathol Microbiol* 2002;45(1):31-7.
- Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A, Burette A, Butzler JP, Bollen 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(10):2752-6.
- Bickley J, Owen RJ, Fraser AG, Pounder RE. Evaluation of the polymerase chain reaction for detecting the urease C gene of *Helicobacter Pylori* in gastric biopsy samples and dental plaque. *J Med Microbiol* 1993;39(5):338-44.
- Lee MA, Hong KS. Detection of the *cagA* Gene of *Helicobacter Pylori* Using PCR from Gastric Biopsy Specimens. *Korean J Clin Pathol* 1997;17(3):473-80.
- Romero Lopez C, Owen RJ, Banatvala N, Abdi Y, Hardie JM, Davies GR, et al. Comparison of urease gene primer sequences for PCR-based amplification assays in identifying the gastric pathogen *Helicobacter Pylori*. *Mol Cell Probes* 1993;7(6):439-46.
- Lu JJ, Perng CL, Shyu RY, Chen CH, Lou Q, Chong SK, et al. Comparison of five PCR methods for detection of *Helicobacter Pylori* DNA in gastric tissues. *J Clin Microbiol* 1999;37(3):772-4.20.
- Karasu Z, Akarca US, Ersöz G, Kızılkant M, Aydın A, Özütemiz, et al. [The incidence of *Helicobacter Pylori* infection among gastric carcinoma patients; detection of the bacteria in cancer tissue by pcr]. *Türkiye Klinikleri Gastroenterohepatol* 2001;12(1):1-7.
- Sozzi M, Tomasini ML, Vindigni C, Zanussi S, Tedeschi R, Basaglia G, et al. Heterogeneity of *cag* genotypes and clinical outcome of *Helicobacter Pylori* infection. *J Lab Clin Med* 2005;146(5):262-70.
- Bolek BK, Salih BA, Sander E. Genotyping of *Helicobacter Pylori* strains from gastric biopsies by multiplex polymerase chain reaction. How advantageous is it? *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;58(1):67-70.
- Ozdemir E, Karabacak NI, Degertekin B, Cirak M, Dursun A, Engin D, et al. Could the simplified (14)C urea breath test be a new standard in noninvasive diagnosis of *Helicobacter Pylori* infection? *Ann Nucl Med* 2008; 22(7):611-6.