

HELICOBACTER PYLORI ENFEKSİYONU BELİRLENMESİNDE ÜREAZ TESTİ, HISTOKİMYASAL VE SEROLOJİK YÖNTEMLERİN KİYASLANMASI

Dr. Enver VARDAR (*), Dr. Hakan POSTACI (*), A. Rıza KANDİLOĞLU (*), Dr. M. Akif DEMİR (*), Dr. Sermin KÜÇÜKA (**), Dr. Mine ERDENİZMENLİ (***)

ÖZET: Bu çalışmada gastroduodenal yakınmaları olan 40 erişkin olguda histolojik görünüm yanısıra çeşitli yöntemlerle *Helicobacter pylori* (HP) görülme sıklığı araştırıldı. Bu olguların antrum mukozasında histopatolojik değişiklikler ve Toluidine Blue (TB) boyama yöntemi, üreaz testi ve serolojik yöntem ile HP varlığı incelendi. Histopatolojik olarak kronik gastrit tanısı alan olguların % 71'inde (24/34) TB ve üreaz testi ile HP pozitifliği. TB ve üreaz normal histolojik görünüme sahip olanların ise % 25'sinde (1/4) pozitifliği. Tüm olgular söz konusu olduğunda üreaz % 63 (25/40), TB % 66 (25/38) oranında pozitiflikten ELISA yöntemi ile anti-HP IgG çalışılan 30 olgunun tümünde (% 100) pozitiflik gösterdi.

ANAHTAR KELİMELEER: *Helicobacter pylori*, gastrit.

SUMMARY: Besides histologic pictures of the *Helicobacter pylori* infection and the rate of positivity for the pathogene detected by means of various techniques in 40 adults having gastrointestinal symptoms were determined. In these cases histopathologic findings in antral mucosa and the presence of *Helicobacter pylori* which is detected by toluidine blue staining, urease test and serological methods have been noted. In 71% of cases having chronic gastritis *Helicobacter pylori* was demonstrated by toluidine blue staining and urease test while in cases with normal histologic picture this rate was only 25%. All in all, urease test gave a positivity of 63% and toluidine blue staining had a near rate (66%). All cases (100%) whose sera we had the opportunity to work with had significant levels of IgG antibody against *Helicobacter pylori*. It was concluded that toluidine blue staining, urease test and serological techniques gave comparable and consistent results in the detection of *Helicobacter pylori* infection.

KEY WORDS: Gastritis, *Helicobacter pylori*.

GİRİŞ-GENEL BİLGİLER

Helicobacter pylori (HP) midede varlığı uzun süredir bilinen gram (-), spiral şeklinde, mukoza ile mukus tabakası arasında yer alan bir bakteridir (1,2). Ancak ilk kez Marshall ve Warren(2) tarafından 1983 yılında mideden izole edilip, gastrit ile ilişkisini tanımlanması ile o tarihten bugüne değin gastrit, duodenit, peptik ülser ile ilişkilerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. HP'nin gastrit oluşumunda proteolitik, lipolitik, sitotoksik ve hareket aktiviteleri ile üreaz enziminin rol oynadığı ileri sürülmüştür (1, 2, 3, 4).

Gastrik mukozada HP belirlenmesi kültürde üretim (5), histolojik olarak Gimenez (6), modifiye Giemsa, gram, Wart-

hin Starry, hemotoksilen-eosin⁽¹⁾ ve TB⁽⁷⁾ gibi histokimyasal boyalar yanısıra poliklonal veya monoklonal antikorlarla immunohistokimyasal boyama yöntemi^(8,9), bakterinin üreaz aktivitesinin yüksek olmasına dayanan CLO test, hızlı üreaz testi, üre soluk testi ve serolojik yöntemler kullanılmaktadır⁽¹⁾.

Çalışmamızda antrumdan biopsi alınan 40 olguda HP saptanması amacı ile üreaz, seroloji ve TB boyası uygulandı. Histolojik gastrit varlığı ile HP pozitifliği ilişkisi araştırıldı.

GEREÇ-YÖNTEM

Çalışma Mayıs 1993-Nisan 1994 zaman diliminde S.S.K. Buca Hastanesi 1. Dahiliye Kliniğinde gastroduodenal yakınmalar nedeniyle klinik ve/veya radyolojik muayene sonucu endoskopi uygulanan 40 olguda yapıldı. Olguların 29'u erkek, 11'i kadındı.

Olgularda Pentax FG 32X endoskopi cihazı kullanılarak, pilordan 3-4 cm uzaklıkta, normal görünümlü antral alanlar-

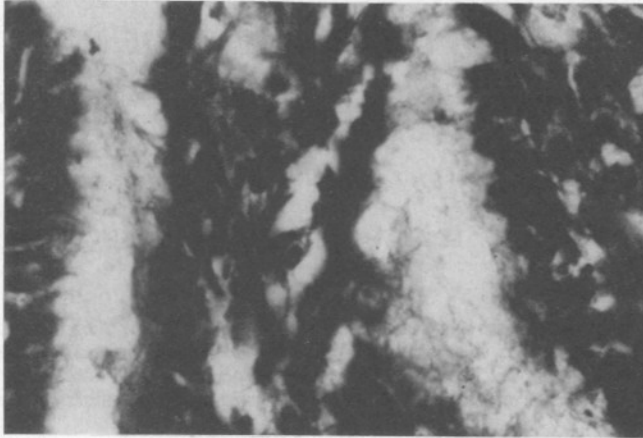
* S.S.K. İzmir Buca Hastanesi Patoloji Servisi

** İzmir Buca Hastanesi Dahiliye Kliniği

*** S.S.K. İzmir Buca Hastanesi İntaniye Kliniği



Resim 1: Yüzey epitelinde düzensizlik ve foveolar bölgede yangısal mononükleer hücreler. Tabidin Etme 200 x.



Resim 2: Aynı alanın büyük büyütmesinde Helicobacter Pylori benzeri mikroorganizmalar. 800 x.

dan 4 adet biopsi alındı. Örneklerden biri, içine 2 damla % 1'lik fenol kırmızısı damlatılmış 1 ml % 10'luk üre solüsyonu içinde 1 dakika bekletilip, bakılarak üreaz aktivitesi araştırıldı. Bir dakika sonunda pembe renk oluşumu pozitif olarak kabul edildi. Diğer biopsi örnekleri ise klasik doku takibi sonrası parafin blok kesitlerine hemotoksilen-eosin (H-E) ve Toluidin blue O boyaları uygulanarak histopatolojik yorum ve HP saptanması amacı ile incelendi.

Olguların 30'undan 5 cc düz kan alınarak ELISA testi ile HP'e özgül IgG antikorları araştırıldı (BIOMERICA, GAP-IgG ELISA Test). Kalitatif nitelikteki test sonucunda 20 ü/ml üstündeki sonuçlar pozitif, 12.5 ü/ml altındaki sonuçlar negatif. İstatistiksel değerlendirme Fisher kesin X2 testi ile yapıldı.

SONUÇLAR

Çalışmaya alınan tüm olgularda üreaz testi ve H-E boyası uygulandı. TB 38 olguda, serolojik yöntem ise 30 olguda çalışıldı. Olguların yaşları 19-91 arasında ve ortalama yaş 47.9'dur. Ortalama yaş HP pozitif olgularda 49.68 (+/-13.38), negatif olgularda ise 45.34 (+/-15.54)'dir.

TB çalışılan 38 olgunun 25'inde (% 66) HP benzeri bakteri izlendi. Üreaz ise 40 olgunun tümünde incelendi ve 25

TABLO 1 : TÜM OLGULARDA ÜÇ TESTİN SONUÇLARI.

TEST	POZİTİF/TOTAL	%
ÜREAZ	25/40	62.5
TB	25/38	66
ANTİHP IgG	30/30	100

TABLO 2 : ELLİ YAŞ-ÜSTÜ VE ALTINDA ÜREAZ VE TB.

	ÜREAZ POZİTİF/TOTAL	%	TB POZİTİF/TOTAL	%
50 YAŞ VE ÜSTÜ	12/16	75	11/14	78
50 YAŞ ALTI	13/24	54	14/24	58

TABLO 3 : GASTRİTİ OLAN VE OLMAYAN OLGULARDA POZİTİFLİK ORANLARI.

TEST	GASTRİT VAR SAYI - %	GASTRİT YOK SAYI - %
ÜREAZ (+)	24/34 71	1/6 17
TB (+)	24/34 71	1/4 25
ANTİ HP IgG (+)	25/34 74	5/6 83
TB ve/veya ÜREAZ (+)	30/34 88	1/6 17
TB ve/veya ÜREAZ ve/veya IgG (+)	33/34 97	5/6 83

TABLO 4 : ÜÇ TESTİN HP BELİRLENMESİNDEKİ ETKİNLİKLERİNİN KIYASLANMASI

	TB	ÜREAZ	ANTİ HP IgG
GERÇEK (+)	20	19	22
GERÇEK (-)	7	7	0
YALANCI (+)	0	0	8
YALANCI (-)	3	4	0
DUYARLILIK	% 85	% 79	% 100
ÖZGÜLLÜK	% 100	% 100	-
GÜVENİLİRLİK	% 90	% 87	% 73

olguda (% 62.5) pozitif. Anti HP IgG çalışılabilen 30 olgunun tümünde pozitif (Tablo I). TB ve/veya üreaz pozitifliği olguların % 77'sinde (31/40) izlendi. TB, üreaz veya anti HP IgG'den en az birisinin pozitif olduğu 38 olgu (% 95) vardı.

Elli ve üstü yaşın üzerindeki olgularda % 78 (11/14) oranında TB ile HP görülürken 50 yaş altı grupta ise % 58.33 (14/24) oranında HP izlenmiş, üreaz testinde ise; 50 ve üstü yaş grubunda % 75 (12/16), 50 yaş altı grupta ise % 54 (13/24) pozitiflik izlenmiş olup bu yaş grupları arasında HP pozitifliği anlamlı fark göstermiyordu ($p>0.05$) (tablo II).

İncelenen 40 olgunun 34'ünde (% 85) kronik gastrit izlendi (Resim 1). Kalan 6 olguda ise gastrit bulunmuyordu. Histolojik gastriti olan olguların % 71'inde (24/34) TB ile HP görüldü (Resim 2). Gastriti olmayan olgularda ise % 25 oranında TB ile HP pozitif bulundu. Gastriti olan ve olmayan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p<0.05$).

Yine histolojik gastriti olanlarda üreaz pozitifliği % 71 (24/34) oranında izlendi. Gastriti olmayanlarda ise üreaz % 17 (1/6) oranında pozitif olup, gastrit olan ve olmayan olgularda üreaz pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı fark gösteriyordu ($p<0.05$). Anti HP IgG'de ise pozitif olan 30 olgunun 25'inde histolojik gastrit vardı. Diğer 5 olguda ise gastrit bulunmuyordu.

Histolojik gastriti olan olgularda TB ve/veya üreaz pozitifliği % 88 (30/34) oranındaydı. Gastriti olmayan olgularda ise % 17 (1/6) oranındadır. İki grup arasında HP varlığı açısından anlamlı farklılık vardı ($p<0.005$) (Tablo III).

Olguların 30'unda HP'ye yönelik olarak üreaz testi, TB boyama ve serolojik anti HP IgG çalışılabilir. Bu otuz olgunun 22'sinde (% 73.3) bu üç yöntemden en az ikisi pozitif. 17 olguda (% 56.6) ise üç yöntem de pozitif.

Duyarlılık ve özgüllük üç yöntemin çalışıldığı 30 olgu için hesaplandı. Uygulanan testlerin gerçek pozitif, negatif ile yalancı pozitif ve negatiflik değerleri ile duyarlılık, özgüllük ve güvenilirlik yüzdeleri Tablo IV'tedir. Bir testin sonucunun değerlendirilmesi diğer iki testin sonuçları baz alınarak yapıldı.

TARTIŞMA

HP ilk kez Warren ve Marshall (2) tarafından mide antrom epitelinde ortaya konulmasından bu yana birçok araştırmaya konu olmuş ve insandaki en sık kronik enfeksiyonlardan biri haline gelmiştir. HP'nin gastrit ve peptik ülser ile olan birlikteliği gittikçe daha geniş kabul görmektedir.

HP'nin gastrit oluşumunda rol oynayan etyolojik bir ajan mı yoksa yangı oluştuktan sonra ortaya çıkan fırsatçı bir bakteri mi olduğu konusunda kuşku olmamakla birlikte, asemptomatik ve gastriti olmayan bireylerde HP prevalansının düşük oluşu; ayrıca sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmalarda HP inokülasyonundan sonra gastrit ve HP kolonizasyonu varlığının ortaya konması bakterinin etyolojik ajan olduğunu düşündürmektedir (1, 3, 4, 10-17). Ayrıca HP'nin mide kanseri ile ilişkisi olduğu da bildirilmektedir (18).

Gastroduodenal yakınmaları olan hastalarda endoskopik görünüm ile histolojik gastrit ve HP varlığı arasında her zaman uyumluluk bulunmamaktadır. Endoskopik görünümleri normal, nonülser dispeptik yakınmaları olanlarda histolojik gastrit ve HP prevalansının yüksek olduğu da kabul edilmektedir (1, 12).

Kronik gastriti bulunan 34 olgunun 33'ünde (% 97) en az bir yöntem pozitif. Ancak gastriti olmayan olgularda da % 83 (5/6) oranında pozitiflik vardı. Anti HP IgG'nin gastriti olmayan olgularda yüksek oranda izlenmesi; Porez'in (19) ile sürdüğü, serolojik yöntemle saptanan antikorun midenin tümünü yansıtmamasına karşın, HP'nin odaksal dağılımı yüzünden üreaz testi ve histolojinin midenin tümünü yansıtmadığı ve yanlış (+) IgG'nin yerine gerçekte yanlış (-) üreaz ve histoloji olabileceği olasılığı akla gelmektedir.

Hastalarda HP kolonizasyonunun ve enfeksiyonun ortaya konmasında çeşitli yöntemler vardır. HP belirlenmesinde her ikisi de "altın standart" olan kültür ve immunohistokimyasal boyama yöntemi teknik güçlük, pahalı oluşları ve deneyimli eleman gereksinimi gibi nedenler yüzünden yaygın kullanılmamaktadır (1, 20). Üreaz testi, serolojik yöntem ve histolojik inceleme ise bu iki yöntemle göre oldukça ucuz ve kolaydır (1, 21).

Çalışmamızda olgularda üreaz testinde duyarlılık % 79, özgüllük % 100, güvenilirlik ise % 87 olarak bulunmuştur. Farklı araştırmacılarca bildirilen duyarlılık ve özgüllük oranları sırasıyla % 65 ile % 99 ve % 74 ile % 100 arasında değişmektedir (1, 11).

Yapılan araştırmalarda histokimyasal yöntemle HP belirlenmesinde duyarlılık % 75-% 96, özgüllük ise % 91-% 100

oranları arasında olup, olgularımızda TB boyama yönteminde duyarlılık % 85, özgüllük ise %100, güvenilirlik ise % 90 olarak bulunmuştur (1,11).

HP'ye karşı oluşan bağışık yanıtı belirleyen pasif hemaglutinasyon, kompleman fiksasyon testi, immunoblot ve ELISA yöntemlerinde; duyarlılık %78-%100, özgüllük ise % 81-% 99 oranları arasında bildirilmiştir (1, 22). Olgularımızda ELISA yöntemi ile araştırdığımız Anti-HP IgG'de ise duyarlılık %100 iken güvenilirlik %73 olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak gerek non-invaziv olan serumda anti HP IgG, gerek biopsi üreaz testi ve gerekse de histokimyasal yöntemlerin kombine kullanımlarının olgularda HP ve gastritin ortaya konmasında kolay, ucuz, güvenilir ve etkili olduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Rauws E.A.J., Tytgat G.N.J. *Campylobacter pylori*. WC den Ouden BV Amsterdam, 1989.
2. Warren J.R., Marshall B.J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 113:76-77.
3. Blaser M.J. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *J. Infect. Disease* 1990; 161:626-633.
4. Thomsen L., Cavin J.B., Jones C. Tasman. Relation of *Helicobacter pylori* to the human gastric mucosa in chronic gastritis of antrum. *Gut* 1990; 31:940-945.
5. Goodwin C.S., Blincow E., Warren J.R. et al. Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. *J. Clin. Pathol.* 1985; 38: 1127-1131.
6. Mc mullen L., Walker M.M., Bain L.A., Karim Q.N., baron J.H. Histological identification of *Campylobacter* using Giemsa technique in gastric antral mucosa. *J. Clin. Pathol.* 1987; 40: 464-465.
7. Slater B. Superior stain for *Helicobacter pylori* using Toluidine-O. *J. Clin. Pathol* 1990; 43:961-968.
8. Barbosa A.J.A., Quieroz D.M.M., Mendes E.N. et al. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1988; 122:423-425.
9. Engstrand L., Pahlson C., Gustavsson S., Schwan A. Monoclonal antibodies for rapid identification of *Campylobacter pyloridis*. *Lancet* 1986; ii:1402-1403.
10. Aydın A. ve ark. Nonülser dispepsi ve *Helicobacter pylori*. *Gastroenterohepatoloji* 1993; 4(1):6-8.
11. Kaya N. ve ark. "*Helicobacter Pylori*" saptanmasında kültür, gram boyama, üreaz ve histoloji. *Gastroenterohepatoloji* 1993; 2 (2):84-87.
12. Aydın A. ve ark. Endoskopik antral gastrit ve *Helicobacter pylori*. *Gastroenterohepatoloji* 1993; 4 (2): 90-92.
13. Turhanoglu M. ve ark. Çeşitli üst gastrointestinal sistem hastalıklarında H.pylori sıklığı. *Klinik sıklığı*. *Klinik* 1992; 5: 19-21.
14. Wyatt J.J. C.Pylori, Duodenitis and Duodenal ulceration. C. Pylori and Gastrointestinal Disease. Blackwell Scientific Publication 1989; 117-124.
15. Aksoy N. ve ark. Sağlıklı ve hasta bireylerde H. Pylori sıklığı. *Gastroenterohepatoloji* 1993; 4 (1): 9-11.
16. Hazell S.L. et al. *Campylobacter pyloridis* gastritis II: Distribution of bacteria and associated inflammation in the gastroduodenal environment. *Am. J. Gastroenterol.* 1987; 82:297-301.
17. Marshall B.J., Armstrong J.A., McGeechie D.B., Glancy R.J. Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric campylobacter. *Med. J. Anst.* 1985; 142:436-439.
18. An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. The EUROGAST Study Group. *Lancet* 1993; May 29;341(8857): 1359-1362 (Abstract).
19. Perez-Perez G.I. et al. C. Pylori antibodies in humans. *Ann. Int. Med.* 1988; 109: 11-17.
20. Brown K.E., Peura D.A. diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol. Clin North Am.* 1993 Mar; 22 (1): 105-115 (Abstract).
21. Haruma K. Okamoto S., Sumii K. Yoshihara M., Tari A., Teshima H., Shimamoto T., Takehara Y., Tanaka S., Yamamoto G. Et al. Hiroshima J. Med. Sci. 1992 Sep; 41(3): 65-70 (Abstract).
22. Goodwin C.S. et al. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for C. Pyloridis: Correlation with presence of C. pyloridis in the gastric mucosa. *J. Infect. dis.* 1987; 155: 488-494.