

## Antral Gastritli Hastalarda Üreaz Testi, Gram Boyaması ve *Helicobacter pylori* Antikorlarının Karşılaştırılması

Birdal Yorgancıgil<sup>1</sup>, Mustafa Demirci<sup>1</sup>, Pınar Taşkın<sup>1</sup>, Mehmet Bahçeci<sup>2</sup>, Canan Ağalar<sup>3</sup>, Mehmet İşler<sup>2</sup>

**Özet:** *Helicobacter pylori* kronik gastrit, gastrik ülser, duodenal ülser, non-ülser dispepsi ve gastrik karsinoma gibi birçok üst gastrointestinal hastalığın patogeneğinde de önemli faktör olarak rol oynamakta ve bu hastalarda yüksek oranlarda saptanmaktadır. Bu çalışmada, antral gastrit tanılı hastaların biyopsi örneklerinden hazırlanan Gram yöntemiyle boyanmış preparatta *H. pylori*'nin gösterilmesi, hızlı üreaz deneyi ile tanısı ve aynı hastaların serumlarında *H. pylori*'ye karşı oluşmuş spesifik IgM, IgA ve IgG antikorlarının araştırılması amaçlanmıştır. Antral gastrit tanısı olan 106 hastanın biyopsi örneğinin 91 (%86)'inde üreaz deneyi pozitif olarak bulunmuştur. İkinci biyopsi örneğinin 71 tanesinin Gram boyaması ile incelenmesi ile de 52 (%73)'inde *H. pylori* morfolojisinde bakteriler görülmüştür. *H. pylori*'ye karşı oluşan spesifik antikorlar ELISA ile araştırılmış ve IgM (%33), IgG (%74), IgA (%41) seropozitiflik saptanmıştır. Üreaz deneyi, Gram boyaması ve IgG seropozitifliği karşılaştırıldığında istatistiki bir fark saptanmamıştır ( $\chi^2=5.616$ ,  $p>0.05$ ).

**Anahtar Sözcükler:** *Helicobacter pylori*, üreaz testi, Gram boyaması, seropozitivite

**Summary:** Comparison of urease test, Gram stain and *Helicobacter pylori* antibodies in patients with antral gastritis. *H. pylori*, plays a considerable role in the pathogenesis of many upper gastrointestinal tract diseases such as chronic gastritis, duodenal ulcer, non-ulcerative dyspepsia and gastric carcinoma. It is isolated from these patients at a high frequency. In this study we aimed to disclose *H. pylori* in Gram stained slides of biopsy specimens of patients with antral gastritis, to diagnose with rapid urease test, and to detect specific IgM, IgA, and IgG antibodies against *H. pylori* in sera of the same patients. Urease test was found to be positive in biopsy specimens of 91 of 106 patients (86%) with antral gastritis. In Gram stain examination of 71 slides of second biopsy specimens, there were 52 slides containing bacteria in the morphology of *H. pylori*. Specific antibodies against *H. pylori* were investigated with ELISA, and seropositivities were found as 33% for IgM, 74% for IgG, and 41% for IgA. There were no statistical differences in comparison of urease test, Gram stain, and IgG seropositivity ( $\chi^2=5.616$ ,  $p>0.05$ ).

**Key Words:** *Helicobacter pylori*, urease test, Gram stain, seropositivity.

### Giriş

*Helicobacter pylori*, midenin mukus salgılayan epitelyal hücrelerinde bulunan Gram-negatif, spiral şekilli, hareketli, bol üreaz üreten ve mikroaerofilik bir bakteridir. 30 yaş altındaki insanların yaklaşık %20'sinin gastrik mukozalarında bulunur. Ancak 60 yaştan sonra prevalans, asemptomatik kişiler de dahil olmak üzere %40-60'lara çıkar. *H. pylori* kronik gastrit, gastrik ülser, duodenal ülser, non-ülser dispepsi ve gastrik karsinoma gibi birçok üst gastrointestinal sistem hastalığının patogeneğinde de önemli faktör olarak rol oynamakta ve bu hastalarda yüksek oranlarda saptanmaktadır. Akut gastrit epidemilerinin, *H. pylori* infeksiyonlarının yayılması için önemli bir kaynak olduğu sanılmaktadır (1-5).

*H. pylori* ile infeksiyonu olan hastalar infeksiyona karşı bir IgM antikor cevabı geliştirirler. Daha sonra IgG ve IgA antikor yanıtı görülür. Bu antikorlar hem sistemik olarak, hem de mukozada bulunur. Bir kere alınan bakteri uzun süre vücutta kalır ve infekte konaklarda uzun sürede immün cevap gelişir. Bakteriye karşı meydana gelen IgA, IgM ve IgG antikorları ELISA ve "immunoblot" yöntemleri ile gösterilebilmektedir. (1,6)

Bu çalışmada, biyopsi örneklerinden hazırlanan Gram yöntemiyle boyanmış preparatta *H. pylori*'nin gösterilmesi, hızlı üreaz deneyi ile tanısı ve aynı hastaların serumlarında *H. pylori*'ye karşı oluşmuş spesifik IgM, IgA ve IgG antikorlarının araştırılması amaçlanmıştır. İstatistiksel değerlendirme  $\chi^2$  testi ile yapılmıştır.

### Yöntemler

Üst gastrointestinal sistem yakınmaları olan hastalardan, bir gece açlığı takiben endoskopik inceleme yapılarak, prepilorik antrum bölgesinden steril biyopsi forsepsi ile 2 adet biyopsi örneği alınmıştır. Bu örneklerden birincisi steril serum

(1) Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta

(2) Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta

(3) Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta

**Tablo 1. 106 Hastanın Serumlarında Saptanan *Helicobacter pylori*-Spesifik IgM, IgG ve IgA Antikorları**

	Pozitif		Negatif	
	n	(%)	n	(%)
IgM	36	(33)	70	(67)
IgG	78	(74)	28	(26)
IgA	43	(41)	63	(59)

**Tablo 2. Değişik Testlerde Saptanan Pozitifliklerin Yaş Grupları Açısından Değerlendirilmesi**

	Üreaz	Boyama	IgG	IgM	IgA
<30 yaş	11	6	8	5	3
30-50 yaş	39	23	32	17	19
>50 yaş	41	23	38	14	21

**Tablo 3. Toplam 106 Hastanın Serumlarında Saptanan *Helicobacter pylori*-Spesifik IgM, IgG ve IgA Antikor Sonuçlarının Üreaz Deneyi Sonucu ile Karşılaştırılması**

	Üreaz Testi			
	Pozitif (n=91)		Negatif (n=15)	
	n	(%)	n	(%)
IgM (+)	32	(35)	4	(26)
IgM (-)	59	(65)	11	(73)
IgG (+)	71	(78)	7	(47)
IgG (-)	20	(22)	8	(53)
IgA (+)	38	(42)	5	(33)
IgA (-)	53	(58)	10	(67)

**Tablo 4. Toplam 71 Hastanın Serumlarında Saptanan *Helicobacter pylori* -Spesifik IgM, IgG ve IgA Antikor Sonuçlarının Gram Boyaması Sonuçları ile Karşılaştırılması**

	Gram Boyaması			
	Pozitif (n=52)		Negatif (n=19)	
	n	(%)	n	(%)
IgM (+)	20	(38)	3	(16)
IgM (-)	32	(62)	16	(84)
IgG (+)	41	(79)	10	(53)
IgG (-)	11	(21)	9	(47)
IgA (+)	25	(48)	4	(21)
IgA (-)	27	(52)	15	(79)

fizyolojik içine konularak laboratuvara ulaştırılmış, ikinci örnek de hemen Stuart'ın %10'luk üre solüsyonuna konularak üreaz aktivitesi değerlendirilmiştir. Beş dakika içerisinde besiyeri renginin pembe veya kırmızıya dönüşmesi ile doku üreaz testi pozitif olarak kabul edilmiştir. Mikrobiyoloji laboratuvarında materyalden Gram boyaması yapılarak preparat ışık mikroskopunda incelenmiştir (5). Gram-negatif, kıvrık,

spiral martı kanadı görünümündeki bakteriler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmeye alınan biyopsi örneklerinin sayısı, yeterli materyal alınmaması gibi nedenler yüzünden diğer örnekler göre daha az sayıda olmuştur. Serolojik inceleme için de aynı hastalardan kan alınarak serumu ayrılmış ve ELISA yöntemi (GAP-IgG, GAP-IgM ve GAP-IgA Biomerica, Newport Beach, USA) ile spesifik IgG, IgM ve IgA antikorları araştırılmıştır. Saptanan absorban değerler kit standartları doğrultusunda negatif ve pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### Sonuçlar

Çalışmaya alınan 106 hastanın yaşları 16-75 arasında ve yaş ortalaması da 49'du. Hastaların endoskopik ve biyopsi örneklerinin histopatolojik değerlendirmesi sonucunda hepsine antral gastrit tanısı konulmuştur. Antral gastrit tanısı olan 106 hastanın biyopsi örneğinin 91 (%86)'inde üreaz deneyi pozitif olarak bulunmuştur. İkinci biyopsi örneğinin 71 tanesinin Gram boyaması ile incelenmesi ile de 52 (%73)'ünde *H. pylori* morfolojisinde bakteriler görülmüştür. Endoskopik inceleme ile antral gastrit saptanan toplam 106 hastanın *H. pylori* spesifik IgM, IgG, ve IgA antikorları sonucu Tablo 1'de gösterilmiştir.

Hastaların yaşları, 30 yaş altı, 30-50 yaş arası ve 50 yaş üstü olarak değerlendirildiğinde, gerek üreaz aktivitesi, gerek Gram boyamasında *H. pylori* kolonizasyonunun saptanması, gerekse de spesifik IgG, IgM ve IgA antikorlarının saptanmasının yaşla artan oranlarda olduğu görülmüştür (Tablo 2). Özellikle 40 yaş üstünde hem *H. pylori* kolonizasyonunun arttığı, hem de başta IgG antikorları olmak üzere spesifik IgG, IgM ve IgA yanıtının arttığı görülmüştür.

Üreaz deneyi pozitif bulunan ve Gram boyaması sonucunda *H. pylori* morfolojisinde bakteriler görülen biyopsi örneği sahibi hastaların serumlarında IgM, IgG ve IgA antikorları, sonucu negatif olan hastalara göre daha yüksek oranda bulunmuştur.

Üreaz deneyi ve Gram boyaması sonucuna göre hastaların serumlarında saptanan *H. pylori*-spesifik IgM, IgG ve IgA antikorları sonuçları karşılaştırması Tablo 3 ve Tablo 4'te gösterilmiştir.

### İrdeleme

*H. pylori*'nin kronik yüzeysel gastrit ve duodenal ülserle kuvvetle ilgisi olduğu histopatolojik, bakteriyolojik ve serolojik çalışmalarla belirlenmiştir (7). *H. pylori* ile infekte hastaların hepsinde kronik gastrit gelişmektedir. Buna karşın olguların çoğu asemptomatik kalmaktadır. *H. pylori* prevalansı kronik gastritli hastalarda %70-100 olarak bildirilmektedir. Erişkin peptik ülserlerinin %60-95'i bugün için idiyopatik olup bunların hemen tümünün *H. pylori* ile ilişkisi kanıtlanmış durumdadır. *H. pylori* taşıyıcılığı atrofik gastrit gelişimi için bir risk faktörü olarak kabul edilmekte ve bu durum mide kanserinin

gelişimine zemin hazırlamaktadır. Ayrıca, midenin distal kısmındaki adenokarsinomlardan da *H. pylori* sorumlu tutulmaktadır (8-10).

*H. pylori* tanısı için özgüllüğü en yüksek olmasına karşın, hem uygulanım zorluğunun bulunması hem de değişik çalışmalarda duyarlılığının diğer yöntemlere göre düşük olduğunun belirtilmesi sonucu çalışmada kültür ile tanıya gidilmedi. *H. pylori* tanısında kullanılan üreaz testi hızlı sonuç vermesi, kolay olarak uygulanması ve yapılan çalışmalarda kültür ile iyi uyum göstermesi gibi nedenlerle tercih edilmektedir. *H. pylori*'nin güçlü üreaz enzimi üretme özelliğinden yararlanılarak geliştirilen, hızlı üreaz testleri klinisyenin tedavi kararı vermesine yardımcı olabilir (1-5,11,12). Bu çalışmada da, antral gastrit tanısı olan 106 hastanın 91'inde (%86) üreaz pozitifliği saptanmıştır. Benzer hasta gruplarında Velai ve arkadaşları (6) yaptıkları çalışmada üreaz pozitifliğini %83, Buke ve arkadaşları (13) da %79 olarak bulmuşlardır. Vahaboğlu ve arkadaşları (14) üreaz testinin kültüre karşı duyarlılığını %87 olarak belirtmişlerdir.

Histolojik incelemenin, gastrit tanısının konulmasının yanı sıra bakterinin boyanarak gösterilmesini de sağlaması, bu yöntemin bazı araştırmacılarca altın standart olarak önerilmesine neden olmaktadır. Biyopsi materyalinden lam üzerine sürülerek hazırlanan preparatın Gram yöntemiyle boyanmasının, doku kesitlerinin Warthin-Starry yöntemi ile boyanarak incelenmesi kadar etkili olduğu da bildirilmektedir (12). Aydın ve arkadaşları (10), kronik gastrit tanısı konulan 104 hastanın 80'inde (%77) Gram boyaması ile *H. pylori* morfolojisinde bakteriler tanımlanmışlardır. Toplam 71 hastanın Gram yöntemi ile boyanan preparatlarının 53'ünde (%74) *H. pylori* morfolojisine benzer morfolojide bakteriler görülmüştür. Üreaz deneyi sonucu ile Gram boyaması sonucu arasında fark olması, *H. pylori*'nin midedeki kolonizasyonunun odaklar halinde olmasından ve farklı yerlerden alınan biyopsi örneklerinin sonuçlarının da farklı olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca, birtakım olumsuzluklar sonucu 106 hastanın sadece 71 tanesinde Gram boyaması ile inceleme yapılması da oranın düşük oluşunu açıklayabilir. Hem Gram boyaması, hem de üreaz deneyi yapılan 71 hastanın 54'ünde her iki yöntem de pozitif, 7'sinde ise her iki yöntem de negatif sonuç vermiştir.

İnfekte kişilerde devamlı bir hümmoral immün yanıt bulunması, serolojik yöntemlerden yararlanabilmeyi sağlamaktadır. Endoskopinin invazif bir yöntem olması nedeniyle uygulamasında bazı problemler olabilmektedir. Ayrıca inflamatuvar olaylar tüm midede homojen olmadığı için alınan biyopsi hatalı sonuçlar alınabilmektedir. Dispeptik hastaların endoskopi öncesi veya tedavi öncesi ilk tarama değerlendirmelerinde serolojik deneyler tavsiye edilmektedir. Mikroorganizmanın midede odaklar halinde bulunmasından dolayı *Helicobacter* enfeksiyonlarının değerlendirilmesinde serolojinin altın standart olabileceğini öne süren araştırmacılar da vardır. Fakat serolojik testlerin standardizasyonu henüz sağlanmadığı için, esas rolü tam belirlenememiştir (7,12,15). Bugüne kadar *H. pylori* sıklığı konusunda yapılan çeşitli çalışmalarda *H. pylori* görülme oranının yaşla orantılı olarak arttığı saptanmıştır (7,16). Bu çalışmada hasta grubu yaş açısından incelendiğinde seropozitifliğin yaş ile doğru orantılı olarak arttığı görülmektedir.

Çalışmada 106 antral gastritli hastanın 78'inde (%74) IgG antikorları pozitifliği, 43'ünde (%41) IgA antikorları pozitifliği

bulunmuştur. Bazı araştırmacılar *H. pylori*'ye karşı oluşan IgG ve IgA antikorlarının duyarlılık ve özgüllüğünü %93'ten fazla olduğunu bildirmekteyler (17). Hastalık kronik seyirli olduğu için IgM antikorlarının aranmasının tanı değeri düşüktür ki, bu çalışmada %33 oranında pozitiflik saptanmıştır. IgA antikorlarının bu çalışmada IgG antikorlarından daha düşük çıkması, bu antikorların daha çok gastrik sıvıda bulunmasından ve serum düzeylerinin düşük olması sonucu yeterli duyarlılıkta saptanamamış olmasından kaynaklanabilir (18). Boldemir ve arkadaşları (7), 7 gastritli hastanın 6'sında (%85.7) IgG antikorlarını, 3'ünde (%42.8) IgA antikorlarını pozitif bulmuşlardır. Bu çalışmadaki benzer oranlar da göstermektedir ki IgA antikorları serumda düşük oranlarda saptanabilmektedir. Weldmuller ve arkadaşları (19), 1294 hastanın 622'sinde (%48) IgG antikorlarını pozitif bulmuşlar ve üst batin şikayetleri ile gelen hastalarda IgG tarama stratejisinin uygulanması ile seropozitif grupta önemli sayıda endoskopinin önlenmesi ile sonuçlanacağını belirtmişlerdir. Sadr ve arkadaşları (20), gastrik ülserli olguların %78.5'inde *H. pylori* IgG antikor yanıtı bulmuşlardır. Rocha ve arkadaşları (21) da 97 hastanın 62'sinde anti-*H. pylori* antikorlarını (%64) saptamışlar ve yaptıkları çalışmanın hem klinik tanıyı doğrulama, hem de epidemiyolojik araştırmalar için kullanılmasına olanak verdiğini bildirmekteyler. Diğer çalışmalarda da görüldüğü gibi tarama amaçlı veya tanıya yardımcı olması bakımından IgG antikorlarının araştırılması önerilebilir. Bu çalışma sonucunda üreaz testi, gram boya ve serolojik olarak saptanan IgG oranları değerlendirildiğinde pozitiflik oranları farklı çıkmasına karşın istatistiksel olarak bir anlam taşımamaktadır ( $\chi^2=5.616$ ,  $p>0.05$ ).

Bu çalışma sonuçları da göstermiştir ki hızlı üreaz testi kullanımı kolaylığı ve klinisyene çabuk sonuç vermesi açısından *H. pylori* enfeksiyonu tanısında oldukça yararlıdır. Gram boyaması sonucunda üreaz testi ile yaklaşık oranlar saptanmasına karşın histopatolojik incelemelerle birlikte daha yararlı olacağı kanısındayız. Biyopsi yapılamayan hastalarda veya tarama yapmak amacıyla IgG antikorlarının araştırılmasının gerek tanıda gerekse epidemiyolojik çalışmalarda uygun olacağı düşüncesindeyiz.

#### Kaynaklar

1. Dun BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10:720-41
2. Megraud F. Epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22:73-88
3. Tytgat GNJ, Noach LA, Rauws EAJ. *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22:127-39
4. Aydın A. Asemptomatik popülasyonda gastrit, ülser ve mide kanserinde *Helicobacter pylori* sıklığı ve patogenez. *In: Çavuşoğlu H. ed. Helicobacter pylori ve Gastrik Ülser İlişkisi*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1995:38-57
5. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott, 1992:244-52
6. Velai F, Bozkaya E, Özdiş S, Badur S, Arıcı S. *Helicobacter pylori* enfeksiyonları tanısında kullanılan hızlı üreaz deneyi, bakteri izolasyonu ve ELISA yöntemlerinin değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cemiyet Derg* 1994; 24:37-40
7. Boldemir A, Özgenç O, Kurutüzüm Z, Erdenizmenli M. *Helicobacter pylori* IgG ve IgA antikorlarının araştırılmasının gastroduodenal hastalıklardaki önemi. *İnfeksiyon Derg* 1995; 9:367-70

8. Köksal H. Peptik Ülser etiyolojisinde *Helicobacter pylori*'nin rolü ve tedavisi. *Mikrobiyol Bül* 1993; 27:266-70
9. Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. Its role in disease. *Clin Infect Dis* 1992; 15:386-92
10. Aydın F, Katarcioglu İ, Köseahmet F, Bakır T, Bingöl R. Antral kronik gastritte *Helicobacter pylori* (HP) izolasyonunun gastrit şiddetine göre sıklığı. *İnfeks Derg* 1995 9:47-8
11. Dooley CP, Cohen H, Fitzgibbons PL, Bauer M, Appleman MD, Perez-perez GI, Blazer MJ. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. *N Engl J Med* 1989; 321:1562-6
12. Karabiber N. *Helicobacter pylori* infeksiyonu tanı yöntemleri. *Klimik Derg* 1992; 5:15-6
13. Büke A.Ç, Günhan C, Günşar F, Alkanat M.B, Aydın A, Özütemiz Ö. Mide ve duodenum hastalıklarında *Helicobacter pylori*'nin doku üreaz, kültür ve histopatoloji yöntemleri ile araştırılması. *İnfeks Derg* 1998; 12:61-4
14. Vahaboğlu H, Arıkan E, Mülazımoğlu-Gezer L, Yenen OŞ. *Helicobacter pylori* infeksiyonunun tanısında üreaz testinin güvenilirliği. *Klimik Derg* 1992; 5:17-8.
15. Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and related organisms. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th ed. New York: Churchill Livingstone, 1995: 1956-64
16. Kalkan A, Bulut V, Bahçecioglu I.H, Demirdağ K, Aral M. Elazığ yöresinde *Helicobacter pylori* infeksiyon prevalansı. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg* 1997; 27:28-32
17. Perez – Perez GI, Lworkin RM, Chodos JE. *Campylobacter pylori* antibodies in human. *Ann Intern Med* 1988; 109:11
18. Talley NJ, Newell DG, Ormand JE, Carpenter HA, Wilson WR, Zinsmeister AR, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: comparison of enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1635
19. Weldmuller BF, V/der Putten AB, Veenendal RA, Lamers CB, Loffeld RJ. Can screening for IgG antibodies against *Helicobacter pylori* be used in clinical practice? Omit endoscopy in seropositive or seronegative patients? *Dig Dis Sci* 1998; 43:2296-300
20. Sadr YE, Köksal F, Sandıkçı M, Yarkin F, İlkit M, Sadr RE, Akan E. Mide hücre metaplazisi ile karakterize hastalarda *Helicobacter pylori* insidensinin kültür ve serolojik yöntemlerle saptanması. *İnfeks Derg* 1995; 9:49-54
21. Rocha GA, Olivera AM, Queiroz DM, Mendes EN, Moura SB, Olivera CA, Ferrari TC.. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection by cobas core ELISA in adults from minas Gerais, Brasil. *Braz J Med Res* 1998; 31:1263-8