



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLUK ÇAĞI GASTRODUODENAL
PATOLOJİLERİNDE *HELICOBACTER PYLORI*
ENFEKSİYONLARININ EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

Dr. Nilgün UYDURAN ÜNAL

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Gökhan TÜMGÖR

ADANA-2017



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLUK ÇAĞI GASTRODUODENAL
PATOLOJİLERİNDE *HELICOBACTER PYLORI*
ENFEKSİYONLARININ EPİDEMİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİ**

Dr. Nilgün UYDURAN ÜNAL

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Gökhan TÜMGÖR

**Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu TTU-
2015- 3550 numaralı proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA-2017

TEŞEKKÜR

Eğitim sürem boyunca bilimsel desteklerini esirgemeyen, her zaman hoşgörülü davranan, her konuda rahatlıkla ulaşıp danıştığım, büyük desteklerini gördüğüm ve engin tecrübelerinden faydalandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gökhan Tümgör'e, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Fatih KÖKSAL'a, kültür ve PCR tetkiklerini başarıyla tamamlayan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd.Doç.Dr. Toğrul NAĞIYEV'e ve tüm Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, araştırma vakalarının histolojik değerlendirmelerini titizlikle gerçekleştiren Sayın Prof. Dr. Figen DORAN'a, sonuçların istatistiki değerlendirilmesini yapan Sayın Prof. Dr. H. Refik BURGUT'a, erişkin hastalardan örneklerin alınmasında yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Oğuz Üsküdar'a, çocuk hastalardan örneklerin alınmasında emeği geçen Sayın Uzm. Dr. Mehmet AĞIN'a ve sevgili eşim Gökhan ÜNAL'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Nilgün UYDURAN ÜNAL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR LİSTESİ.....	IX
ÖZET	XI
ABSTRACT.....	XII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Epidemiyoloji.....	4
2.2.1. Prevalans	4
2.2.2. Enfeksiyonun Bulaşması.....	7
2.3. Sınıflandırma.....	7
2.4. Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri.....	9
2.4.1. Görünüm ve Boyanma Özellikleri	9
2.4.2. Hücre Duvarı Yapısı ve Antijenik Özellikleri	10
2.4.2.1. Lipopolisakkaritler	10
2.4.2.2. <i>H. pylori</i> 'nin Dış Duvar Proteinleri	11
2.5. Patogenez	11
2.5.1. Bakteriye Ait Virulas Faktörleri.....	12
2.5.1.1. Kolonizasyon ve Çevresel Adaptasyon	12
2.5.1.1.1. Hareket ve Flagella.....	12
2.5.1.1.2. Üreaz Enzimi.....	13
2.5.1.1.3. Adhezinler	14
2.5.1.2. Konak Savunmasından Korunma Faktörleri.....	14
2.5.1.2.1. Katalaz ve Superoksit Dismutaz (SOD)	14
2.5.1.2.2. Thioredoxin (CD59)	15
2.5.1.2.3. Polifostat Kinaz (PPK)	15
2.5.1.3. Doku Hasarı Oluşturan Faktörler	15
2.5.1.3.1. <i>Cag</i> Patojenite Adası	15

2.5.1.3.1.1. <i>CagA</i> Geni.....	16
2.5.1.3.2. <i>VacA</i> Geni	17
2.5.1.3.3. <i>IceA</i> Geni (Inducible by Contact with Epithelium Gene)	18
2.5.1.3.4. <i>OipA</i> (Outer Inflammatory Protein) Geni.....	18
2.5.1.3.5. <i>H. pylori</i> 'nin Diğer Gen Bölgeleri	18
2.5.1.4. İmmun Cevaptan Kaçma.....	19
2.6. <i>H. pylori</i> Enfeksiyonunun Yaptığı Hastalıklar	19
2.6.1. Gastrointestinal Sistem Hastalıkları.....	20
2.6.1.1. Gastrit.....	20
2.6.1.1.1. Akut Gastrit	20
2.6.1.1.2. Kronik Gastrit.....	20
2.6.1.2. Peptik Ülser Hastalığı	21
2.6.1.3. Gastroözofagial Reflü Hastalığı (GÖRH).....	21
2.6.1.4. Mide Kanseri ve Mucosa Associated Lenfoid Tissue (MALT) Lenfoma	22
2.6.2. <i>H. pylori</i> 'nin Neden Olduğu Gastrointestinal Sistem Dışı Hastalıklar	22
2.6.2.1. Demir Eksikliği Anemisi.....	22
2.6.2.2. İmmun Trombositopenik Purpura (ITP).....	23
2.6.2.3. Büyüme Geriliği.....	23
2.6.2.4. Non Ülser Dispepsi (NÜD).....	23
2.7. Tanı.....	24
2.7.1. İnvaziv Testler.....	24
2.7.1.1. Endoskopik Tanı.....	24
2.7.1.2. Kültür	24
2.7.1.3. Hızlı Üreaz Testi.....	26
2.7.1.4. Histopatoloji.....	26
2.7.2. Noninvasive Testler.....	27
2.7.2.1. Üre Nefes Testi.....	27
2.7.2.2. Serolojik Testler	28
2.7.2.3. Dışkıda Antijen Testi.....	29
2.7.2.4 Moleküler Tanı Yöntemleri	30

2.7.2.5. Amplifikasyon Bazlı Yöntemler.....	31
2.8. Tedavi Rejimleri.....	31
3. MATERYAL ve METOD.....	35
3.1. Hastalar	35
3.2. Endoskopi İşlemi, Biyopsi Örneklerinin Alınması ve Taşınması	35
3.2.1. Beyin Kalp İnfüzyon Buyyonu	36
3.3. Biyopsi Örneklerinin Patolojik Açidan İncelenmesi	36
3.4. Biyopsi Örneklerinin Mikrobiyolojik Açidan İncelenmesi	37
3.4.1. Kültür Ortamında <i>H. pylori</i> İzolasyonu	37
3.4.2. Antibiyotik Duyarlılık Tespiti	37
3.4.3. Genotipik İncelemeler.....	38
3.4.3.1. Biyopsi örneklerinden DNA ekstraksiyonu	39
3.4.3.1.1. Uygulama	39
3.4.3.2. PCR Yöntemi ile <i>H. pylori</i> ve Genotip Tespiti.....	40
3.4.3.2.1. Amplifikasyon	40
3.4.3.2.1.1. <i>H. pylori</i> <i>GlmM</i> Geninin amplifikasyonu 41	
3.4.3.2.1.2. <i>VacA</i> Geninin Amplifikasyonu.....	42
3.4.3.2.1.3. <i>CagA</i> Geninin Amplifikasyonu.....	42
3.4.3.2.1.4. <i>CagE</i> Geninin Amplifikasyonu.....	43
3.4.3.2.2. Agaroz Jel Elektroforezi	44
3.4.3.2.2.1. 10xTBE Tamponunun Hazırlanması.....	44
3.4.3.2.2.2. Uygulama.....	44
3.4.3.3. Klaritromisin Direncinin PCR-RFLP Yöntemi ile Tespiti	45
3.4.3.3.1. <i>H. pylori</i> 23S rRNA Gen Bölgesinin Amplifikasyonu. 45	
3.4.3.3.2. Restriksiyon Enzimleri ile Muamele ve Görüntüleme 45	
3.4.3.4. Levofloksasin Direncinin DNA Dizi Analizi Yöntemi ile	
Tespiti.....	46
3.4.3.4.1. <i>H.pylori</i> <i>GyrA</i> Gen Bölgesinin Amplifikasyonu	46
3.4.3.4.2. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması.....	46
3.4.3.4.2.1. F. Sanger’ın Dideoksi Zincir Sonlandırma	
Yöntemi.....	48
3.4.3.4.2.2. Dizi Analizi Sonuçlarının	

Değerlendirilmesi.....	49
3.4.3.4.3. Klonal İlişkinin PCR–RFLP Tekniği ile Tespiti.....	49
3.5. İstatistiksel Analizler.....	50
4. BULGULAR.....	51
4.1. Hastaların Başvuru Yakınmalarına Göre Değerlendirilmesi.....	51
4.2. Hastaların Virulans Genlerinin Değerlendirilmesi.....	56
4.3. Hastaların Endoskopik Bulgularının Değerlendirilmesi	58
4.4. Hastaların Histopatolojik Bulgularının Değerlendirilmesi	59
4.5. Hastaların Antibiyotik Duyarlılığının ve A2142G ve A2143G Genetik Mutasyonlarının Değerlendirilmesi	60
4.6. Hastalar ile Ebeveynlerin Virulans Faktörlerinin ve Genetik Mutasyonlarının Değerlendirilmesi.....	63
5. TARTIŞMA.....	65
5.1. <i>H. pylori</i> 'nin Semptomlarla İlişkisi.....	66
5.2. <i>H. pylori</i> Enfeksiyonunun Yaş ve Cinsiyetle İlişkisi.....	68
5.3. <i>H. pylori</i> Varlığının Histopatolojik Görünüm ile İlişkisi	69
5.4. <i>H. pylori</i> Virulans Faktörlerinin Değerlendirilmesi.....	71
5.4.1. <i>H. pylori</i> ve <i>VacA</i> Geni	71
5.4.2. <i>H. pylori</i> ve <i>CagA</i> Geni.....	73
5.4.3. <i>H. pylori</i> ve <i>CagE</i>	75
5.5. <i>H. pylori</i> ve Antibiyotik Direnci	76
5.6. Antibiyotik Dirençlerinin Genetik Mutasyonlarla İlişkisi.....	81
5.7. Ailesel Geçiş ve Çevresel Faktörler ile <i>H. pylori</i> İlişkisi.....	81
6. SONUÇLAR.....	84
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	107
EKLER.....	108
EK 1. Etik Kurul Onay Formu	108

TABLO LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1. Ülkemizde <i>H. pylori</i> prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalar	6
Tablo 2. Gastrik <i>Helicobacter</i> sınıflandırılması (Solnick and schauer 2001).....	8
Tablo 3. Enterohepatik <i>Helicobacter</i> sınıflandırılması (Solnick and Schauer 2001)	8
Tablo 4. <i>H. Pylori</i> 'nin Virulans Faktörleri	12
Tablo 5. <i>H. pylori</i> eradikasyonunda birinci basamak tedavi seçenekleri	32
Tablo 6. <i>H. pylori</i> eradikasyonunda ikinci basamak tedavi seçenekleri	33
Tablo 7. Kullanılan antibiyotikler ile ilgili referans alınan MIC değerleri (EUCAST(European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) 2016).....	38
Tablo 8. Çalışmamızda kullanılan primerler	43
Tablo 9. Cinsiyet yaş gruplarına göre <i>H. pylori</i> pozitif ve negatif hastaların dağılımı	51
Tablo 10. Başvuru yakınmalarına göre <i>H. pylori</i> pozitif ve negatif hastaların dağılımı	52
Tablo 11. Cinsiyete ve yaş gruplarına göre karın ağrısı sıklığının dağılımı.....	52
Tablo 12. Cinsiyete ve yaş gruplarına göre bulantı sıklığının dağılımı.....	53
Tablo 13. Cinsiyete ve yaş gruplarına göre ağza acı su gelmesi sıklığının dağılımı.....	53
Tablo 14. Cinsiyete ve yaş gruplarına göre kusma sıklığının dağılımı	54
Tablo 15. PCR yöntemine göre kültürün tanıdaki önemi	54
Tablo 16. PCR yöntemine göre patolojinin tanıdaki önemi	55
Tablo 17. PCR yöntemine göre kültür ve histopatolojinin <i>H. pylori</i> 'yi saptamada duyarlılık, seçicilik, pozitif ve negatif prediktif değerleri.....	55
Tablo 18. PCR ile <i>H. pylori</i> saptanan 30 hastada virulans genlerinin dağılımı	56
Tablo 19. <i>vacA</i> subtipleri ile <i>cagA</i> birlikteliğinin dağılımı	56
Tablo 20. <i>vacA</i> subtipleri ile <i>cagE</i> birlikteliğinin dağılımı	57
Tablo 21. <i>cagA</i> ile <i>cagE</i> birlikteliğinin dağılımı	57
Tablo 22. <i>H. pylori</i> PCR pozitif hastalarda virulans genlerinin dağılımı.....	58
Tablo 23. Endoskopik bulgulara göre <i>H. pylori</i> negatif ve pozitif hastaların dağılımı..	58
Tablo 24. Endoskopik bulgulara göre <i>H. pylori</i> virulans genlerinin dağılımları	59
Tablo 25. Histopatolojik tanılara göre <i>H. pylori</i> negatif ve pozitif hastaların dağılımı .	59
Tablo 26. Histopatolojik tanılarda <i>H. pylori</i> PCR pozitif ve <i>H. pylori</i> PCR negatif hastaların dağılımı	60

Tablo 27. Histopatolojik bulgulara göre <i>H. pylori</i> virulans genlerinin dağılımları	60
Tablo 28. Cinsiyete göre klaritromisin duyarlı ve dirençli hastaların dağılımı	60
Tablo 29. <i>H. pylori</i> virulans genlerinin klaritromisin direnci ile ilişkisi	61
Tablo 30. Yaş gruplarına göre A2142G negatif ve A2142G pozitif hastaların dağılımı .	61
Tablo 31. Yaş gruplarına göre A2143G negatif ve A2143G pozitif hastaların dağılımı .	62
Tablo 32. A2142G ve A2143G genetik mutasyonun klaritromisin duyarlı ve dirençli hastalardaki dağılımı	62
Tablo 33. PCR pozitif olan hastalar ile ebeveyleerin virulans genleri ile genetik mutasyonlarının karşılaştırması.....	64



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. <i>H. pylori</i> 'nin elektronmikroskopik görünümü.....	9
Şekil 2. <i>H. pylori</i> ve flagellaları.....	13
Şekil 3. <i>H. pylori</i> 'nin patoloji preparatlarındaki görüntüsü.....	36
Şekil 4. <i>H.pylori</i> 'nin besiyerinde yapmış olduğu koloniler.....	37
Şekil 5. Optimum-One UV-VIS spektrofotometre (Chebios, Rome, Italy) cihazı.....	40
Şekil 6. Thermal Cycler (Applied Biosystems, CA, USA 2720 Termal Cycler) cihazı .	41
Şekil 7. ABI Prism 310 Genetic Analyzer otomatize sistemi	48

KISALTMALAR LİSTESİ

Alp	: Adherence-Associated Lipoprotein
Bab	: Blood Group Antigen Binding Adhesin
BHIB	: Beyin Kalp İnfüzyon Buyyonu
cag	: Cytotoxin Associated Gene
cagPAI	: <i>cag</i> Patojenite Adası
CLO	: <i>Campylobacter</i> -Like Microorganism
DNA	: Deoksi Ribonükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleozit Trifosfat
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DGR	: Duodenogastrik Safra Reflüsü
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FAK	: Fokal Adezyon Kinaz
Fla	: Flagellin Proteini
FISH	: Floresan Insitu Hibridizasyon
Fts	: Filamentation-Temperature-Sensitive
glmM	: Phosphoglucosamine Mutaz
GİS	: Gastrointestinal Sistem
GÖRH	: Gastroözofageal Reflü Hastalığı
H&E	: Hematoksilen-Eozin
<i>H. pylori</i>	: <i>Helicobacter Pylori</i>
Hop	: Helicobacter Outer Membrane Protein
Hsp	: Heat Shock Proteins - Isı Şok Proteinleri
IARC	: International Agency for Research on Cancer Working Group
Ice	: Inducible by Contact with Epithelium
IFAT	: İmmun Floresan Antikor Testi
IP	: İmmün Peroksidaz
ITP	: İmmun Trombositopenik Purpura
KÖS	: Kardiyo Özofageal Sfiker
LPS	: Lipopolisakkarid
MALT	: Mucosa-Associated Lymphoid Tissue

NIH	: National Institute of Health
Nod1	: Nucleotide-binding Oligomeration Domain Nod1
NÜD	: Non Ülser Dispepsi
Oip	: Outer Inflammatory Protein
OMP	: Outer Membrane Protein – Dış Zar Proteini
ORF	: Open Reading Frame
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PCR-RFLP	: PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism
PCR-AFLP	: PCR-Amplified Fragment Length Polymorphism
pK	: Proteinaz K
PPI	: Proton Pompa İnhibitörü
PPK	: Polifostat Kinaz
SabA	: Sialic Acid Binding Adhesin
SOD	: Süperoksit Dismutaz
T4SS	: Tip IV sekresyon sistemleri
TLR	: Toll Benzeri Reseptörler
ÜNT	: Üre nefes testi
ureA	: UreazA
vac	: Vacuolating Cytotoxin
WB	: Western Blot

ÖZET

Çocukluk Çağı Gastroduodenal Patolojilerinde *Helicobacter Pylori* Enfeksiyonlarının Epidemiyolojik Özellikleri

Amaç: Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Gastroenteroloji Polikliniği'ne dispeptik yakınmalarla başvuran hastalarda *H. pylori* enfeksiyonunun sıklığını bulmak ve genotip düzeyinde epidemiyolojik özelliklerini tespit edip, virulans faktörlerinin dağılımını, aile içi geçişinin önemini, ayrıca makrolid ve kinolon grubu antibiyotiklere direnç dağılımını göstermek amaçlanmıştır.

Materyal Metod: Bu çalışmaya 13 Şubat 2015-1 Aralık 2016 tarihleri arasında dispeptik yakınmalarla başvuran 110 olgu alınmıştır. *H. pylori* pozitifliği tespit edilen olgulardan dispeptik yakınması olan ve üst gastrointestinal sistem endoskopisi erişkin gastroenteroloji tarafından yapılan 7 ebebeynde çalışmaya dahil edilmiştir. Gastrik biyopsi materyalinden *H. pylori*, histopatoloji, kültür ve glmM-PCR yöntemleri ile araştırılmıştır. PCR pozitif örneklerde *vacA*, *cagA* ve *cagE* genleri yine PCR ile araştırılmış, ayrıca kültürde izole edilen *H. pylori* suşlarının klaritromisin ve levofloksasin dirençlerini belirlemek için E-testi yapılmıştır. PCR-RFLP yöntemi ile de klaritromisin direncinden sorumlu tutulan A2142G ve A2143G nokta mutasyonları araştırılmıştır. *H. pylori* suşlarının olguların kliniklerine etkisi araştırılmış ve aile içi *H. pylori* geçişinin etkisi değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmada, 110 çocuk hastanın 30'unda (% 27,3) *H. pylori* pozitif olarak saptandı. Olguların yaş ortalaması 12,2±4,39 (3-18 yaş) idi. % 65,5'i kız, % 34,5'i erkek idi. *H. pylori* pozitif hasta örneklerinin % 40'ında *vacAs1*, % 56,6'sında *vacAs2*, % 36,7'sinde *cagA*, % 23,3'ünde ise *cagE* pozitif idi. Olguların % 6,6'sında *vacAs1+cagE* birlikteliği, % 16,6'sında *vacAs1+cagA+cagE* birlikteliği ve yine %16,6'sında *vacAs2+cagA* birlikteliği saptandı. Çalışmamızda klinik bulgular ile *H. pylori* suşları arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Kültürde *H. pylori* üretilen hastalardan sadece bir hastada (% 4,3) levofloksasin direnci saptandı. Bu hastada genetik A2142G ve A2143G genetik mutasyonlarının her ikisinde pozitif olarak bulundu. Hastaların 8'inde (% 34,7) klaritromisin direnci saptandı. A2142G mutasyonu pozitif saptananların tamamında, A2143G mutasyonu pozitif saptananların ise % 55'inde klaritromisin direnci gözlemlendi.

Çalışmaya katılan çocukların ebeveynlerinde saptanan *H. pylori* ile suşları ile çocuklardaki *H. pylori* suşları birbirlerinden farklı saptandı.

Sonuç: *H. pylori* enfeksiyonu dispeptik yakınmaları olan çocukların yaklaşık üçte birinde pozitif saptanmıştır. Dispeptik yakınmalar ile başvuran çocuklarda ağırlıklı genotipin *vacAs2* olduğu gözlemlenmiştir. Genetik mutasyonlardan A2142G ve A2143G genetik mutasyonlardan en az birine sahip olmak bile antibiyotiklere direnç potansiyeli taşımaktadır. Çocuklarda *H. pylori* standart üçlü tedavisinde kullanılan klaritromisine karşı yüksek oranda direnç saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *H. pylori*, çocuk, virulans, antibiyotik direnci

ABSTRACT

The Epidemiological Characteristics of *Helicobacter Pylori* Infections in Gastroduodenal Pathologies in Childhood

Aim: In this study, it was aimed to determine the frequency of *H. pylori* infections of patients applied to Çukurova University Medicine Faculty Children Gastroenterology Polyclinic with dyspeptic complaints and indicate the distribution of virulence factors, the importance of intrafamilial transmission, and also resistance to macrolide and quinolon group antibiotics by identifying epidemiological characteristics of them at the genotype level.

Material Method: A total of 110 patients with dyspeptic complaints referred to hospital between 13 January 2015-1 December 2016 were included in the study. Of the cases, those with *H. pylori* positivity and dyspeptic complaint and 7 parents whose upper gastrointestinal system endoscopy was conducted by adult gastroenterology department were also involved in the study. *H. pylori* was searched by means of histopathological, culture and glmM-PCR methods. In the patients whose PCR was identified as positive, the determination of *vacA*, *cagA* and *cagE* genes was performed; in addition, E-test was performed to establish the resistance of clarithromycin and levofloxacin of *H. pylori* strains isolated in culture. A2142G and A2143G point mutations held responsible for clarithromycin resistance were identified with PCR-RFLP method. The effect of *H. pylori* strains on the clinics of cases was investigated and the impact of intrafamilial *H. pylori* transmission was evaluated.

Findings: In the study, *H. pylori* was established as positive in 30 (27,3%) out of 110 pediatric patients. The average age of the cases was 12,2±4,39 (ranging from 3-18). 65,5% were female, 34,5% were male. In 40% of *H. pylori* positive patient samples *vacAs1*, in 56,6% *vacAs2*, in 36,7% *cagA*, in 23,3% *cagE* were positive. In 6,6% of the cases *vacAs1+cagE* association, in 16,6% *vacAs1+cagA+cagE* association and in 16,6% *vacAs2+cagA* association were determined. No significant relationship was identified between clinical findings and *H. pylori* strains in the study.

Levofloxacin resistance was only observed in one (4,3%) of the patients that could produce *H. pylori* in the culture. In the patient involved, both genetic mutations of A2142G ve A2143G were found as positive. In 8 patients (34,7%), clarithromycin resistance was established. In all patients whose A2142G mutation was determined as positive and in 55% those whose A2143G mutation was identified as positive, clarithromycin resistance was observed.

H. pylori strains determined in the parents of pediatric patients involved in the study were established as different from *H. pylori* strains in the children.

Result: *H. pylori* infection was determined as positive in approximately one third of children with dyspeptic complaints. In children applying to hospital with dyspeptic complaints, it was observed that *vacAs2* is the mostly seen genotype. Of the genetic mutations A2142G ve A2143G, even having at least one of them carries a potential for resistance to antibiotics. High resistance was identified for clarithromycin used in the standard triple treatment of *H. pylori* in children.

Keywords: *H. pylori*, child, virulence, antibiotic resistance

1. GİRİŞ ve AMAÇ

H. pylori insanlarda en sık gözlenen bakteriyel patojenlerden birisidir. *H. pylori* ile gastroduodenal patoloji arasındaki ilişki ilk kez Warren ve Marshal tarafından 1983 yılında tanımlanmıştır. Daha sonra yapılan çok sayıdaki çalışmanın sonunda *H. pylori*'nin non-ülser dispepsiden gastrik ülser ve MALT lenfomaya, atrofik gastritten, alt-GİS karsinomalarına kadar değişen gastroduodenal patolojinin en önemli sebebi olduğu gösterilmiştir.¹⁻⁴ Bakteri Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kanser alt grubu "The International Agency for Research on Cancer-IARC" tarafından, 1994 yılında, tip I insan karsinojeni olarak kabul edilmiştir.⁵⁻⁹

H. pylori yavaş büyüyen, spiral şeklinde güçlü flagellar harekete ve üreaz enzim aktivitesine sahip gram negatif bir bakteridir. Gastrik mukozada, özellikle antrumda oksintik kanallara da yerleşmekte, dokudan sıyan bikarbonatı kullanarak etrafında oluşturduğu alkali mikro çevrede hayatını sürdürmektedir.^{10, 11}

Epidemiyolojik çalışmaların sonunda *H. pylori*'nin genellikle çocukluk çağında aileden bulaştığı, ilk bulaşta birden çok suşun enfeksiyonu başlattığı ancak ilerleyen sürede suşlardan birisinin gastrik mukozaya uyum sağlayarak varlığını sürdürdüğü ileri sürülmüştür.³

Toplumumuzda erişkinlerde gastrik kolonizasyon insidansı % 85'in üzerinde olan *H. pylori*'nin kendisine ait virülans faktörleri, konağın immunogenetik özellikleri ve beslenme alışkanlıkları gibi konağa ait tam olarak açıklanamamış faktörlerin de etkisi ile enfekte bireylerde kolonizasyonunu ömür boyu sürdürdüğü ve ciddi gastroduodenal yakınmaların ortaya çıkışına sebep olduğu yine bu çalışmalar sonucunda iddia edilmiştir. Yine son çalışmalar, kanamasız anemi olarak da tanımlanan B₁₂ emilim eksiliğine bağlı anemilerin etiopatolojisinde *H. pylori*'nin önemli rolü olduğunu göstermiştir.¹²

Gastroduodenal patoloji ile *H. pylori* arasındaki muhtemel ilişkiyi ispata yönelik bakteri ve konağa ait farazi bir çok faktör ileri sürülmüşse de, bu bağlamda en önemli delilin, *H. pylori* eradikasyon tedavisi sonrasında görülen klinik kür olduğu söylenebilir. Son yıllarda disipline edilmemiş antibiyoterapiler sonunda bakteride gelişen dirence bağlı reaktivasyonların sık görülmeye başlaması da ilişkiyi güçlendiren ikinci önemli

veri olarak kabul edilebilir. Daha akılcı tedavilerin geliştirilmesi ancak kolonize suşların tanımlanması ve dirençli suşların belirlenerek direncin toplum içerisindeki hareketinin bilinmesi ile mümkün olacaktır.

Bu çalışmanın amacı bölgemizde çocukluk çağı gastroduodenal patolojilerinde *H. pylori* enfeksiyonlarının genotip düzeyinde epidemiyolojik özelliklerinin tespit edilmesidir. Bu çalışma ile *H. pylori*-insan ilişkisinin başlangıç dönemi, kolonize suş/suşların özellikleri ve virulans faktörlerinin dağılımı, aile içi geçişinin önemi, ayrıca makrolid ve kinolon grubu antibiyotiklere primer/sekonder direnç dağılımı sorgulanacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Bilim çevrelerinde 18. ve 19. yüzyılda midenin asidik ortamında mikroskobik varlıkların yaşayamayacağı fikri hakimdi. Mide bakteriyolojisi ile ilgilenen ilk bilim adamları Alman Bottcher G. ve Fransız arkadaşı Letulla M (1853-1929)'dir. Bu araştırmacılar ülser tabanında ve kenarında bakteri kolonilerini göstermiştir. Fakat bu görüş o dönemde fazla ilgi görmemiştir.^{3, 13}

Patolog Klebs 1881'de mide glandlarının, oksintik kanallarının lümeninde serbest basile benzer organizmaları tanımlamasına rağmen bu bakteriyel hipotez için taraftar toplayamamıştır. İlk kez midede spiral mikroorganizma varlığını hayvanlarda gösteren Bottcher'dir.¹⁴

Dr. Jarowski W. 1889'da insan mide suyunda spiral mikroorganizmanın bulunduğunu bildirmiş ve bu bakteriye "*Vibrio regula*" adını vererek bu mikroorganizmanın mide hastalıklarına yol açabileceğini bildirmiştir.^{3, 13}

Bizzozero G. 1893'te köpeklerde, daha sonra da 1896'da Salomon H. köpeklerin, kedilerin ve sıçanların mide mukozasında spiroket varlığını göstermiştir. Krienitz 1906'da kanser bulunan olguda mide içeriğinde spiroket tespit etmiş ancak spiroket ile mide kanseri arasında bir ilişki kurmamıştır. Muhlens P, Luger ve Neuberger birbirinden bağımsız olarak mide kanseri olgularında spiroketleri saptamıştır. Daha sonra birçok araştırmacı sağlıklı kişilerin mide mukozasında bu bakterinin görüldüğünü bildirmişlerdir. Dragstedt 1917'de ülser hastalığının kronik olmasında bakterilerin rolünün olup olmadığını ortaya koymak için çalışmalar yapmış ancak izole ettiği bakterilerin ülsera yol açtığını düşünmeyip, ülserin enfekte olarak kronikleştiğini kabul etmiştir. Hoffman A. 1925'te mide ülserinde gram negatif ince silindirik bir bakteri elde ederek bu mikroorganizmaya "*Bacillus Hoffmani*" ismini vermiştir. James L. Doenges 1938'de insan otopsi materyalinde % 43 olguda spiroket saptamıştır. Susumu Ito 1960'lı yılların başında ve Igor A. Morozov 1974'te elektron mikroskopi çalışmalarında midede spiral bakterinin varlığını saptamış ancak mide hastalıkları ile ilişkili olabileceği konusunda bir yaklaşım ortaya koyamamıştır. Adrian Lee oksijene duyarlı bir bakteri için anaerobik bir kültür ortamı oluşturarak *H. pylori*'yi kültürde üretmeyi başarmıştır. Daha sonra Phillips 1981'de, Marshall'da 1982'de üretmiştir. Bu bakterinin ne

olduğunu, neye neden olduğunu ortaya koyanlar Warren ve Marshall'dır. Bu çalışmalarını 1983 yılında Lancet dergisinde yayınlamışlardır. *H. pylori*'nin virulans çalışmalarında hayvan modeli başarılı olmadığından Koch postulatlarını gerçekleştirmek için bu bakteri ile kendini enfekte etmiş ve bu bakterinin mide dokusunda inflamasyonu arttırdığını da deneysel olarak ispatlamıştır. Böylece bakterinin antral gastrit ve ülser ile etyolojik ilişkisi kesinlik kazanmıştır.^{3, 15, 16}

1994 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün bir kolu olan Uluslar arası Kanser Araştırma Kurumu (International Agency for Cancer Research) *H. pylori*'yi tip I kanserojen olarak sınıflandırmıştır.^{5, 7-9} Aynı yıl National Institute of Health (NIH) konsesusunda *H. pylori*'nin peptik ülser hastalığının en önemli nedeni olduğunu bildirilmiş ve ülserli hastalarda bu mikroorganizmanın eradikasyonu için antibakteriyel tedavi rejimleri önerilmiştir.⁸

2.2. Epidemiyoloji

2.2.1. Prevalans

H. pylori prevalansı coğrafi bölgelere göre değişiklik göstermektedir. Bazı bölgelerde genç yaşlarda bile % 80'den fazla *H. pylori* pozitifliği gösterilmiştir. Tüm dünyadaki prevalansı % 50'nin üzerindedir.^{17, 18}

Batı ülkelerinde erişkinlerin % 80-90'ı enfekte durumdayken, çocuklarda bu oran % 5-10 civarındadır.¹⁹ Gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda ve adolesanlarda yaşlı insanlara göre *H. pylori* prevalansı önemli ölçüde daha düşüktür.²⁰ Bu ülkelerde çocukluk çağında enfeksiyon alınarak adolesan çağa gelmeden toplumun büyük bir kısmı enfekte olmaktadır.^{21,22} Çocukluk döneminde *H. pylori* prevalansı sosyoekonomik durum ile ters orantılıdır.²³

Enfeksiyon prevalansı gelişmekte olan ülkelerde % 100'e kadar ulaşırken, gelişmiş ülkelerde sosyoekonomik düzeye bağlı olarak % 10-50 arasında değişmektedir. Türkiye'de 7-14 yaş arası çocuklarda yapılan çalışmalarda seroprevalans 1990 yılında % 78,5, 2000 yılında % 66,3 olarak bulunmuştur. Seroprevalansdaki bu düşüş çevresel koşulların düzelmesi ve sosyoekonomik düzeydeki artışa bağlanabilir.²⁴ Seroprevalans 6-17 yaş ve 1-18 yaş arasındaki çocuklarda yapılan iki çalışmada, sırayla % 64,4 ve % 53 oranında bulunmuştur.²⁵ Düşük prevalanslı bölgeler yüksek prevalanslı bölgelere kıyaslandığında enfeksiyonun sıklığı % 2'den % 55'e yükseldiği gösterilmektedir.²⁶

Batı ülkelerinde çocukluk çağında insidans yılda % 1-2 olarak bildirilmiştir. Fakir, gelişmekte olan ülkelerde insidans daha yüksektir. Gelişmiş ülkelerde *H. pylori* ile enfekte olma sıklığı yetişkinlerde oldukça düşüktür (% 0,3-% 1-2). Çocuklarda bu oran daha yüksektir.¹

Türkiyede 6 yıllık yapılan prospektif bir çalışmada çocuklarda enfeksiyon oranının % 70 olduğu, % 50'den fazlasının 10 yaşından önce enfekte olduğu ve çocuklarda *H. pylori* kazanımının, eliminasyonundan 2,5 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir.²⁷

Çocuklarda *H. pylori* enfeksiyonu hijyen ve ev şartlarından etkilenmektedir. Erken çocukluk döneminde bulaşta anne, baba ve kardeşler, enfeksiyonun aktarılmasında asıl rolü oynarlar. Aile içindeki enfekte birey ile aynı yatak odasını ve yatağı paylaşmak, kalabalık aile ortamında yaşamak ve yaş *H. pylori* enfeksiyon riskini arttıran diğer risk faktörleridir. Anne sütündeki *H. pylori* üreazına karşı oluşan antikorlar bebekleri enfeksiyondan korur.²⁸⁻³⁰

Ülkemizde *H. pylori* prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalar Tablo 1'de özetlenmiştir.³¹

H. pylori prevalansı gelişmekte olan veya az gelişmiş ülkelerden Brezilya'da % 35 (0-18 yaş), Cezayir'de % 45 (0-10 yaş), Peru'da % 48 (0-12 yaş), Hindistan'da % 69 (10-20), Tayland'da % 75 (5-17 yaş), Nijerya'da % 82 (0-9 yaş) düzeylerinde iken, gelişmiş ülkelerden Tayvan'da % 8 (3-6 yaş), İngiltere'de % 9 (18-30yaş), Almanya'da % 13 (5-8 yaş), Belçika'da % 13 (9-15 yaş), Hollanda'da % 22 (11-25 yaş) Amerika Birleşik Devletleri'nde % 24 (15-20 yaş), Fransa'da % 24,8 (20-30 yaş), Japonya'da % 26 (20-30 yaş) saptanmıştır.³²

Tablo 1. Ülkemizde *H. pylori* prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalar ³¹

Araştırmacı	Merkez	Yıl	Yöntem	Yaş grubu ve özellik	n	Prevalans
Sandıkçı ve ark.	Adana	1993	Endoskopik biyopsi	0-80 yaş Semptomatik	500	%86
Kutlu ve ark.	İstanbul	1994	Seroloji Üreaz, Biyopsi	1-17 yaş 63 Semptomatik	88	%65.1 Hasta %20 Kontrol
Gürakan ve ark.	Ankara	1996	Serum anti-Hp IgG	10-14 yaş 59 Semptomatik 48 kontrol	107	%47.6 Semptomatik:%52.5; Kontrol: %41.7
Öztürk ve ark.	Ankara	1996	Endoskopik biyopsi	1-17 yaş 61 Semptomatik 32 Asemptomatik	93	%48 semptomatik %50 Asemptomatik
Us ve ark.	Ankara	1998	Serum anti-Hp IgG	0-80 yaş Asemptomatik	657	%53
Özden ve ark.	Ankara	1990 2000	Serum anti-Hp IgG	7-14 yaş Asemptomatik	219 (1990) 184 (2000)	%78.5 (1990) %66.3 (2000)
Sökücü ve ark.	İstanbul	2002	Biyopsi ve Üreaz	1-20 yaş Semptomatik	240	%50.4
Selimoğlu ve ark.	Erzurum	2002	Serum anti-Hp IgG	6-17 yaş Asemptomatik	466	%64
Yılmaz ve ark.	Elazığ	2002	Serum anti-Hp IgG	6ay-16yaş Asemptomatik	346	%43.9
Ertem ve ark.	İstanbul	2003	Üre Nefestesti	3-12 yaş Asemptomatik	327	%49.5
Söğüt ve ark.	Zonguldak	2004	Serum anti-Hp IgG	6ay-15 yaş Semptomatik /asemptomatik	301	%19.6
Abasıyanık ve ark.	İstanbul	2004	Serum anti-Hp IgG	1-84 yaş Asemptomatik	309	%70
Gülcan ve ark.	İstanbul	2005	Biyopsi Üreaz Dışkıda Hp antijeni	2-15 Semptomatik	80	%61
Büyükbaba-Oral ve ark.	İstanbul	2005	Dışkıda Hp antijeni	2-48 yaş Semptomatik	445	%36.6
Arslan ve ark.	Kayseri	2006	Serum anti-Hp IgG	8ay-16 yaş Asemptomatik	221	%58.4
Göral ve ark.	Diyarbakır	2006	Serum anti-Hp IgG	0-30 yaş Asemptomatik	267	%46.4
Ceylan ve ark.	Van	2007	Serum anti-Hp IgG ve Dışkıda Hp antijeni	1-15 yaş Semptomatik	275	%23.6
Erbey ve ark.	Van	2010	Dışkıda Hp antijeni	1-18 yaş Semptomatik	1510	%39.9

2.2.2. Enfeksiyonun Bulaşması

H. pylori enfeksiyonlarının bulaşmasında fekal-oral ve oral-oral yol önemlidir. Cinsel yolla bulaşmaya yönelik epidemiyolojik bir veri yoktur.^{33, 34} *H. pylori* dışkıdan, dış plaklarından ve tükürükten izole edilebilir. Ağız içerisinde dış plaklarından gastrik mukozaya göç edebilmektedirler. Oral-oral geçişte öpüşme bir bulaş yolu olabilmektedir.^{17,33,35-37} Yeterli dezenfeksiyon işlemi yapılmadan kullanılan endoskoplar oral-oral geçişe örnek olarak gösterilmekle birlikte fare modeli çalışmalarda, özellikle gelişmekte olan ülkelerde dışkıdaki dormant formlarla fekal-oral bulaşmanın önemli olduğunu düşündürmektedir.³⁴ *H. pylori* enfeksiyonu sıklıkla çocukluk döneminde kazanılır ve diğer aile bireyleri enfekte ise çocuklarda enfeksiyon sıklığı daha yüksek olmaktadır.^{38, 39}

Çocuklarda bulaşta çevresel faktörler önemli yer oynamaktadır.

2.3. Sınıflandırma

H. pylori'nin kültürde üretilmesi ile bakterinin biyolojik özellikleri ve toksonomisine yönelik olarak yapılan çalışmalar yoğunlaşmış, bakterinin morfolojik özellikleri ile kampilobakterlere benzemesi sebebiyle “Campylobacter-like microorganism (CLO)” ve “*Campylobacter Pyloridis*” olarak adlandırılmasına sebep olmuştur.⁴⁰

Ancak 16S rRNA'sının dizi çalışmaları, nükleik asit hibridizasyon profilleri, büyüme özellikleri, yağ asidi profilleri ve enzimatik aktivitelerinin tespitine yönelik çalışmalar sonunda bu mikroorganizmaların Kampilobakter'lerden farklı olduğunu ortaya koymuştur.⁴¹ *H. pylori* 1989 yılında *Campylobacter* cinsinden çıkartılarak, *Helicobacter*ceae ailesi *Helicobacter* cinsi içerisinde bir tür olarak yeniden sınıflandırılmıştır.^{1, 42}

Helikobakter ailesinin bilinen tek cinsi “*Helicobacter*” dir. *Helicobacter*ceae cinsi içerisinde yer alan türlerin çoğu konak ve doku tropizmi gösterir. Türler arasındaki tropizm ve 16S rRNA dizi farklılıkları dikkate alınarak *Helicobacter* cinsi içerisindeki mikroorganizmalar; gastrik türler ve enterohepatik türler olarak iki büyük gruba ayrılırlar (Tablo 2 ve Tablo 3).

Tablo 2. Gastrik Helicobacter sınıflandırılması (Solnick and schauer 2001)

Sınıflandırma	Doğal Konakçı
<i>H. acinonychis</i>	Çita
<i>H. bizzozeroni</i>	Köpek
<i>Candidatus Helicobacter bovis</i>	Sığır
<i>H. mustelae</i>	Yaban gelinciği
<i>H. felis</i>	Kedi, köpek
<i>H. heilmannii</i>	İnsan, insan olmayan primatlar
<i>Candidatus Helicobacter suis</i>	Domuz
<i>H. nemestrinae</i>	Makak maymunu
<i>H. pylori</i>	İnsan, maymun
<i>H. salomonis</i>	Köpek
<i>H. suncus</i>	Kır faresi

Tablo 3. Enterohepatik Helicobacter sınıflandırılması (Solnick and Schauer 2001)

Sınıflandırma	Doğal konakçı
<i>H. bilis</i>	Fare, köpek, insan
<i>H. canis</i>	Köpek, insan
<i>H. cinaedi</i>	İnsan, hamster
<i>H. cholecystus</i>	Hamster
<i>H. fennelliae</i>	İnsan
<i>H. hepaticus</i>	Fare
<i>H. muridarum</i>	Fare, rat
<i>H. pamntensis</i>	Kuş, domuz
<i>H. pullorum</i>	Tavuk, insan
<i>H. canadensis</i>	İnsan
<i>H. rodentium</i>	Fare
<i>H. trogonum</i>	Rat
<i>H. typhlonicus</i>	Fare
<i>H. mesocricetorum</i>	Hamster
<i>Helicobacter</i> sp. Flexispira taxon 5	Koyun, köpek, insan, fare
<i>H. mainz</i>	İnsan
<i>H. westmeadii</i>	İnsan
<i>Helicobacter</i> sp. cottontop	Maymun

Doğada kedi, köpek, domuz ve kemiriciler gibi birçok farklı hayvan türünde farklı intestinal helikobakter türü tanımlanmış ancak en sık görülen helikobakter türlerinin *Gatrosphilium hominis* veya *Helicobacter heilmannii* olduğu bildirilmiştir.⁴¹

2.4. Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri

H. pylori 2-4 µm boyunda, 0.5-1 µm eninde gram negatif bir bakteridir.¹¹ Bakteri virgül, martı, “S” veya spiral şeklinde görülebilen, sporsuz ve kapsülsüz, mikroaerofilik özelliklere sahiptir.¹³

H. pylori 1-6 adet unipolar flagelları sayesinde oldukça hareketlidir.⁴³ Bakteri bir uçta bulunan değişen sayıdaki kılıflı flagellaları ile oldukça hareketli olması, aksiyel flamanının olmaması, visköz bir ortamdaki optimal hareket yeteneğine sahip olması ve düzgün bir hücre duvarının varlığı ve sahip olduğu güçlü üreaz ve katalaz enzimleri ile de *Campylobacter* ailesinden ayrılmaktadır.^{44, 45}



Şekil 1. *H. pylori*'nin elektronmikroskopik görünümü

2.4.1. Görünüm ve Boyanma Özellikleri

H. pylori'yi ışık mikroskopisi ile ayırt etmek güçtür. Hematoksilen-Eozin, Modifiye Giemsa, Warthin-Starry gümüş boyası, Akridin oranj (floresan boya), Cresil-fast Moru, Gimenez ve Brown-Hopps moru gibi çeşitli histolojik boyalarla başarılı bir şekilde boyanabilmektedir.⁴²

Bakteri genellikle spiral hareketler yapan çomak şeklinde bulunurken, antibiyotikler veya dezenfektanlar gibi kimyasal, oksijen veya ısı farkı gibi fiziksel olumsuzluklarla karşılaşması halinde, tedavi başarısızlıklarından sonraki reaktivasyonlardan sorumlu olan, canlı ve metabolik yönden aktif oldukları halde kültür ortamlarında üretilmeyen, hücre duvarları defektli “dormat form”olarak da adlandırılan kokoid formda da görülebilirler.⁴⁶

2.4.2. Hücre Duvarı Yapısı ve Antijenik Özellikleri

H. pylori'nin hücre duvarı diğer gram negatif bakterilerle benzerlik göstermektedir. Hücre duvarı üç katmanlı iç membran, peptidoglikan içeren periplazmik alan ve dış membrandan oluşur. Dış membran glikozillenmiş fosfolipit ve lipopoligosakkarit (LPS) içermektedir.⁴⁷⁻⁴⁹

2.4.2.1. Lipopolisakkaritler

LPS lipit A parçası, hücreye somatik antijenik özelliği kazandıran O yan zincir ve merkez oligosakkaritten oluşmakla birlikte diğer bakterilerin lipit A'sına göre düşük biyolojik aktiviteye sahiptir.⁵⁰ *H. pylori*'nin LPS'nin düşük biyolojik aktivitesinden lipit A'nın yapısında biyolojik yönden daha düşük aktiviteye sahip fosforillenmiş veya açillenmiş yağ asitleri sorumludur.⁵¹

Bakterinin yüzeyinde eksprese edilen LPS'de O spesifik karbon zincirinde diğer gram negatif bakterilerde 6 olan zincir sayısının 5 olması, buna karşılık, zincirlerdeki karbon sayısı artması polisakkaritin antijenik yapısını zayıflatmaktadır. Bu yapısal değişimler bakterinin mide mukozasına yerleşmesine ve mikroçevre ile uyumuna fırsat vermektedir. LPS'nin biyolojik aktivite ve antijenik özelliği *E. coli* ve *Salmonella*'ların LPS'inden 1000 kat daha düşüktür ve bakterinin immün sistemden kaçışı sağlanmıştır.

H. pylori lipopolisakkarit-O yan zincirinde yer alan Lewis tipi karbohidrat antijenleri (Lewis x ve Lewis y) ile insan eritrosit ve gastrik mukoza hücrelerinin yüzeyinde yer alan Lewis antijenler (Lewis a ve Lewis b) ve O grubu insan eritrositlerindeki H-I antijenleri (Bab) ile yapısal olarak benzerdir.⁵² Bu benzerlik ile bakteri konağın immün cevabına karşı korunarak veya otoimmün cevaba yol açıp patolojik olayları başlatarak, enfeksiyon esnasında kendi antijenik yapısını Lewis antijenine uydurmaktadır.^{52, 53}

H. pylori'nin hücre duvarında yer alan peptidoglikan tabakası yüksek oranda muropeptit içerir ve glisinle sonlanan pentapeptit zincire ve anhidro-N-asetilmuramik asit içeriğine sahip olmasıyla diğer gram negatif bakterilerden oldukça farklıdır. Stoplazmik membranda bulunan kolesterol glukozit *H. pylori* türü için spesifiktir.⁵⁴

H. pylori yüzeyinde eksprese edilen ısı şok proteinleri (Hsp) veya stres cevap proteinleri büyük moleküler ağırlığa sahip şaperon proteinlerdendir. Konak immün sistemi tarafından bu proteinler insanlardaki birçok hücre Hsp'leri ile homolog olmaları nedeni ile algılanmazlar fakat kronik enfeksiyonlarda konak immün sistemi tarafından algılanarak gastrik karsinomlara kadar gidebilen kronik inflamasyon ve otoimmün cevap ile irreversible doku hasarını tetikler.^{55, 56}

2.4.2.2. *H. pylori*'nin Dış Duvar Proteinleri

H. pylori hücre duvarında bulunan; gastrik mukozaya bağlanarak gastrik mikroçevreye uyumu sağlayan, mukozal immün cevabı provoke ederek gastroduodenal patolojide önemli olan elemanlardan tip IV sekresyon sistemi komponentleri olan porinler, adhezinler, hemagglütininler ve flagellar proteinler önemlidir.

2.5. Patogenez

H. pylori patogenezinde mukus içerisinde hareketi sağlayan flagellar yapı, midenin asidik ortama uyumunu sağlayan üreaz aktivitesi, gastrik hücreye bağlanmayı kolaylaştıran hücre duvarı protein yapıları ve mukus tabakasını incelten musinaz ve fosfolipaz A2 ve C gibi proteazlar ve LPS gibi adezyon faktörleri, sitokrom oksidaz sistemi enzimleri, demir bağlayan proteinler, konak hücre elemanları ile antijenik homoloji gösteren konak savunmasından kaçışı sağlayan Hsp ve Lewis antijenleri gibi faktörlerin yanında gastrik mukozada hasara neden olan CagA ve VacA gibi efektör proteinleri içeren virulans faktörleri rol oynarlar.^{46, 53, 57-59}

H. pylori genellikle konağa minimal zarar verirken bazı olgularda ise uzun süreçte dengenin bozulmasına ve mide hastalıklarına neden olmaktadır.^{57, 58, 60, 61}

Tablo 4. *H. Pylori*'nin Virulans Faktörleri

Kolonizasyon sağlayıcı faktörler:
Flagella (Hareketin etkin oluşunu sağlar)
Üreaz (Mide ortamında yaşam sürdürme)
Adezyon Faktörleri (Mide mukusu salgılayan hücrelerde seçici kolonizasyon)
Katalaz (Mide ortamında yaşam sürdürme)
Doku Hasarından Sorumlu Faktörler
Lipopolisakkaritler
Lökosit aktive edici faktörler
Vakuolize edici sitotoksin (VacA) (Epitel hücresinin zarar görmesi)
Sitotoksin ilişkili antijen (CagA) (Sitotoksin oluşumu ve peptik ülserle ilişkili)
Dış membran inflamatuvar proteini (OipA)
Isı şok proteinleri (HspA, HspB)
Fosfolipaz (A ve B) (Mukusun ve epitel hücre zarının sindirimi)
Proteaz (Mukusun ve epitelyal hücre zarının sindirimi)

2.5.1. Bakteriye Ait Virulas Faktörleri

2.5.1.1. Kolonizasyon ve Çevresel Adaptasyon

Kişi tarafından *H. pylori* alındıktan sonra gastrik mukus duvarına kolonize olmakta ve gastrik epitel hücrelerine yapışabilmektedir. Gastrik asidite, hareketlilik, besinler ve hastanın immum cevapları *H. pylori* kolonizasyonunu engelleyebilmektedir. Bakteri genellikle bu bariyerlerden bazılarına uyum sağlamaktadır.

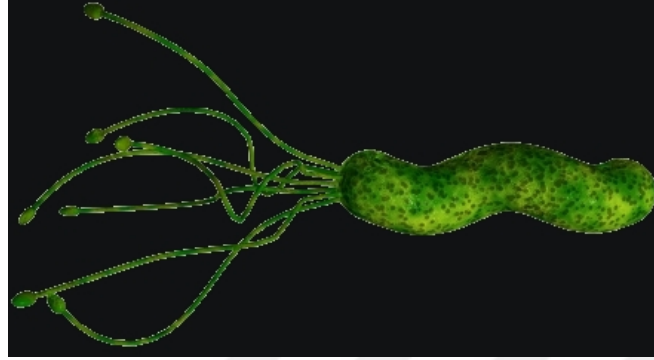
H. pylori midede kardial ve antrumda ve duodenumdaki gastrik hücre metaplazisi görülen alanlarda, bununla birlikte % 80-98 oranında lümende ve oksintrik kanallarda mukus içerisinde, % 2-20 oranında ise gastrik hücrelerin üzerinde yerleşen bir bakteridir. Ayrıca nöroendokrin hücreler ve nötrofillere karşı da tropizm gösterir.⁶¹

2.5.1.1.1. Hareket ve Flagella

H. pylori'nin en önemli virulans faktörlerinden biri, polar 6 adet kılıflı flagellası ile hareket yeteneğidir.^{54, 62}

FlaA, flaB ve flaE proteinlerinden oluşan flagellaların hareketi ph:4.1'in altında durmaktadır. FlaA proteini hareketten sorumlu iken flaE proteini uçlardaki karakteristik

terminal soğanı oluşturmaktadır. Flagellası olmayan *H. pylori* mutantları hayvan modellerindeki çalışmalarda non-virulan bulunmuştur.^{46, 63}



Şekil 2. *H. pylori* ve flagellaları

2.5.1.1.2. Üreaz Enzimi

Üreaz enzimi ile *H. pylori* üreyi hidrolize ederek amonyak ve bikarbonata çevirip asit pH'dan korunmaya çalışır. Bakteri üreaz enzimi ile mide hücrelerinden salınan üreyi parçalayarak etrafında yeterli bikarbonat ve amonyak katmanı oluşturup asidik bir ortam olan lümenden, nötr bir ortam olan mukus tabakasına hızlı bir şekilde ulaşarak kemotaksisi uyarır. Üreaz enzimi *ürel* geni tarafından kodlanmaktadır.

Ürenin üreaz enzimi ile parçalanması esnasında açığa çıkan CO₂ ve amonyak bakteriyi korur. Bu enzimin mide epitelinde hasar yaptığı gibi kronik *H. pylori* enfeksiyonunun bir özelliği olan lamina propriada gözlenen inflamasyonda katkıda bulunur. Ayrıca, in-vivo üreaz aktivitesi gastrik epitel hücrelerine toksik etki göstermektedir. Üreden üreaz aktivitesi ile oluşturulan amonyak ve karbondioksit bakterinin invivo şartlarda yaşaması için gereklidir ve bakterinin invitro çoğalabilmesi için karbondioksit ve bikarbonattan zengin bir ortam gerekmektedir. Üreaz yapısında nikel bulunduran bir metalloenzimdir ve bakteri proteininin % 6'sından fazlasını oluşturmaktadır.⁶⁴⁻⁶⁶

Bakterinin asidik ortamlara adaptasyonu sağlayacak başka mekanizmaları da vardır. Duedonal ülserli hastalarda üreaz negatif *H. pylori*'nin kültüre edilmesi, üre içermeyen asidik ortamlarda da *H. pylori*'nin olduğunu göstermektedir.³³

2.5.1.1.3. Adhezinler

H. pylori'nin insan gastrik mukozasında yaşayabilmesi için gastrik mukozaya yapışması önemlidir. *H. pylori* genomu, gastrik epitel hücrelerinde bulunan bakteriye yapışan, mekanik klirense karşı koyan 5 major dış membran ailesini kodlar.^{67, 68}

Helicobakter dış membran adezyon proteini BabA (blood group antigen binding adhesin), SabA (sialic acid binding adhesin), AlpA (adherence-associated lipoprotein A), AlpB (adherence-associated lipoprotein B), OipA (outer membrane inflammatory protein) ve HopZ (Helicobacter outer membrane protein)'yı içerir. Lewis^b ve kanda ABO kan grubu antijenleri BabA tarafından, sialyl-Lewis^x ve sialyl-Lewis^a antijenleri ise SabA tarafından tanınır. AlpA, Alp B, OipA ve HopZ'ye karşılık gelen reseptörler ise bilinmemektedir. *H. pylori* bu yapışkanları kullanarak gastrik epitel hücrelerine sıkı ve spesifik olarak bağlanır.^{69, 70}

BabA2, adezyon ve bakteri kolonizasyonu ile ilgilidir, BabA2 gastrik mukozada IL-8 sekresyonu artırır ve nötrofil infiltrasyonu ile hasta immun cevaplarını güçlendirir. BabA2 pozitif *H. pylori* suşları peptik ülser hastalığı ve preneoplastik gastrik lezyonlar ile ilgilidir.⁶⁷

2.5.1.2. Konak Savunmasından Korunma Faktörleri

H. pylori flagellar yapı, üreaz enzimi, katalaz ve süperoksit dismutaz enzimi, adezyon proteinleri, musinaz enzimi gibi doğal veya kazanılmış immun cevaptan korunacak çok sayıda yapısal elemana, enzime ve toksinlere sahiptir.

2.5.1.2.1. Katalaz ve Süperoksit Dismutaz (SOD)

H. pylori katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleri sayesinde nötrofillerin fagositik vakuolünde yok edilmekten kurtulmaktadır. SOD, süperoksiti hidrojen peroksite dönüştürür ve katalaz enzimi ise hidrojen peroksiti, oksijen ve suya parçalar. *H. pylori*'ye karşı IgM, IgA, IgG, lenfosit ve plazma hücreleri bulunmasına rağmen

kronik inflamasyona karşı konakta korunma özellikleri ile yaşamını devam ettirebilmektedir.^{61, 64}

Bu iki enzim bakteriyi nötrofillerden salınan hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerine karşı korur.⁷¹

2.5.1.2.2. Thioredoxin (CD59)

H. pylori bu enzim sayesinde musinleri parçalar ve konak tarafından sekrete edilen spesifik ve nonspesifik immunglobulinleri denatüre ederek vücut savunmasından korunur.^{72, 73}

2.5.1.2.3. Polifostat Kinaz (PPK)

Farelerde yapılan deneysel çalışmalarda bakterinin çevresel şartlara direncinde bu enzimin etkili olduğu ve infeksiyon yeteneklerinin mutant suşlarda azaldığı gösterilmiştir.⁷⁴

2.5.1.3. Doku Hasarı Oluşturan Faktörler

2.5.1.3.1. Cag Patojenite Adası

Cag patojenite adası (*cag* PAI) *cagA*, *cagE*, *cagG*, *cagH*, *cagI*, *cagM* ve *virB11* gibi 30'dan fazla genden oluşan ORF (open reading frame) bölgesidir.

Tip IV sekresyon sistemleri (T4SS), gram negatif bakteriler tarafından üretilir ve trasport proteinlerini veya DNA-protein komplekslerini diğer hücrelere aktaran biyolojik moleküler şırıngalardır.⁷⁵

Cag PAI pozitif *H. pylori* suşları tarafından T4SS yolu ile epitel hücresi içerisine enjekte edilen peptidoglikan, Nod1 (Nucleotide-binding Oligomeration Domain) tarafınan tanınarak gastrik epitel hücrelerde proinflamatuvar yanıtı aktive etmektedir.^{76,}

⁷⁷ Patojen bakterinin sahip olduğu flagella ve nükleik asit gibi yapılar Toll benzeri reseptörler (TLR) ve Nod benzeri proteinler gibi patojen tanıma reseptörleri tarafından tanınır. TLR'ler transmembran proteinidir ve Nod1 intraselüler, Nod2 ekstraselüler proteindir.^{78, 79} *H. pylori*'ye karşı antijen özgül Th1 cevabı Nod1 eksikliği olan farelerde bozulmaktadır.⁸⁰

H. pylori'nin mide mukozasına kolonizasyonu ile konağın doğal savunma sistemi aktive olarak inflamasyon öncülü TNF- α , IL-1, IL-6 gibi stokinler NF- κ B ve STAT 3 aktivasyonu ile apoptozu azaltıp hücre proliferasyonunu arttırarak dengenin bozulmasına sebep olmaktadır.⁸¹

Özellikle batı ülkelerinde yapılan çeşitli çalışmalarda *Cag* PAI *H. pylori* peptik ülser hastalığı ve gastrik kanser açısından artmış risk taşıdığını göstermektedir.⁸²⁻⁸⁵

Cag PAI varlığı veya yokluğu gelecekte *H. pylori* suşlarının ayrımı için kullanılacaktır. Yapılan çalışmalarda *Cag* PAI'da bulunan *cagA* dışındaki bazı genlerin (*cagE* geni gibi) IL-8 sekresyonunu indüklediği gösterilmiştir.⁸⁶ *CagF*, *CagA* nın translokasyonu için çok önemli şaperon benzeri koruyucu bir proteindir.^{87, 88}

Yine *cag* PAI'de bulunan *virB11* geni konak epitel hücrelerine bir yada daha fazla etkili proteinin iletimini sağlayan tip IV sekresyon sistemini kodlar.^{89, 90}

CagA dış membran proteinini kodlar. *CagA*'nın 5'ucu son derece konservatif iken 3'ucunda farklı sayı ve büyüklükte tekrarlayan diziler yer alır. Bu diziler içerisinde Tirozin'in yer aldığı EPIYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) motiflerini kodlarlar ve bu sebeple de EPIYA gen kaseti olarak da adlandırılırlar.

2.5.1.3.1.1. *CagA* Geni

CagA hücre zarında çeşitli sinyal geçiş kaskadları ile düzenlenir.⁶¹ *CagA* hücre büyümesini ve hareketliliği düzenler, sıkı geçiş noktalarını değiştirir, hücre polaritesini bozar ve STAT3'ü *invivo* ve *invitro* olarak aktive eder.^{91, 92}

Batı toplumlarından izole edilen suşlarda *CagA* üreten Tip 1 suşları virulansla ilişkili olarak bulunmuşken Asya suşlarının % 90'ından fazlası Tip 1 suşları olarak belirlenmiştir. Bu bulgular nedeni ile *cagA* varlığı dışında *cagA* allelerinin virulans yönünden daha önemli olabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular *cagA*'nın gastrik enflamasyonların ve bir onkoprotein olarak gastrik kanserin gelişiminde önemli rol oynadığını düşündürmektedir.⁹⁰

CagA, EPIYA motiflerindeki tirozin ile sitozolde Src-bağımlı fosforilasyona uğrayarak bir ökaryotik fosfataz olan SHP-2'yi aktive eder. SHP-2 ise Fokal Adezyon Kinaz (FAK) gibi konak hücre proteinlerinin defosforilasyonuna ve sonuçta hücre profilerasyonunun, apoptotik aktivitenin ve iskelet yapının bozulmasına neden olur.⁹³⁻⁹⁵

2.5.1.3.2. VacA Geni

Vakuole edici sitotoksin (VacA), *H. pylori* suşlarının yaklaşık % 50'si tarafından üretilen bir 88-kDa 'lık bir vakuolizasyon oluşturan bir proteindir.⁹⁶ Bu protein kromozomda 3864 bp uzunluğunda bir açık okuma bölgesi-ORF olan *vacA* geni tarafından kodlanmaktadır. *H. pylori* suşlarının tamamında *vacA* geni bulunurken %50 sinde *vacA* toksini vardır.⁹⁷⁻¹⁰⁰ *H. pylori*'nin toksin aktif formları ciddi hastalık oluşturan vakalar ile ilgilidir.¹⁰¹

Toksin lipid membranın özel bölgesinden geçerek, gastrik asiditeden korunmak için voltaja bağlı kanaldan bikarbonat, üre, organik anyonların salınımına neden olabilir.¹⁰²

VacA'nın apoptoz indüksiyonu, antijen sunumu, makrofaj fagozom olgunlaşmasının bozulması, T-hücre aktivasyonunun ve çoğalmasının önlenmesi ve otofaji indüksiyon sürecinin değiştirilmesi de dahil olmak üzere geniş bir yelpazede etkileri vardır.¹⁰³⁻¹⁰⁷

VacA geni heterojenite gösteren 2 gen parçasından oluşur. Genin 5' ucuna yerleşmiş S bölgesi sinyal peptidinin *s1* (*s1a*, *s1b*, *s1c*) ve *s2* tipleri bulunmaktadır. Bu genin *s1* tipini barındıran suşlar yüksek oranda VacA toksini ile gastrik ülser ve gastrik kanserle ilişkili bulunmuştur.¹⁰¹

Genin orta bölgesinde ORF kısmındaki "M" bölgesi *m1* (*m1a* ve *m1b* subtipi) ve *m2* tipleri bulunmaktadır. *m1* subtipi daha kuvvetli vakuolizasyon aktivitesine sahiptir.¹⁰⁸ *H. pylori*'nin *s1m1* suşları, *s1m2* suşlarına göre daha toksiktir ve ciddi gastrit ve intestinal metaplazi ile ilişkili bulunmuştur.⁹⁰

H. pylori de *cagA/vacA* birlikteliği sadece *vacAs1* alleleline sahip suşlarda görülür klinik izolatlarda yapılan çalışmalarda *vacAs1m1* pozitif suşların peptik ülser ve gastrik adenokarsinoma ile ilişkisinin daha yüksek prevalansta olduğunu göstermiştir. *VacAm2* alleleline sahip suşların MALT lenfoma ile ilişkili suşlarda daha sıklıkla görüldüğü ve asya kökenli suşlar arasında ise *m1* allelinin gerek çocuklarda, gerekse yetişkinlerde görülen duodenal ülserle ilişkisi yüksek prevalansta bulunmuştur.^{59, 97, 101, 109-111}

VacA'nın *H. pylori*'nin kolonizasyonuna ve enfeksiyonun sonucuna etki eden çeşitli toksijenik özellikleri vardır. Bu proteinin en iyi etkisi endozom maturasyonu üzerindeki etki ile epitel hücrelerin vakuolizasyonuna yol açmasıdır. Bu etkinin yanında apoptozis yoluyla konak hücre ölümünü mitokondriyal membranlardaki porlar yoluyla

ve pro-apoptotik sinyal moleküllerinin aktivasyonu yoluyla yaptığı düşünülmektedir.^{112, 113}

VacA hücrelerin kavşak bütünlüğünü bozarak küçük moleküllerin hücre dışına sızmasına yol açmaktadır. VacA'nın in-vitro T hücre aktivasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiğine yönelik çalışmalar da bulunmaktadır.¹¹⁴

2.5.1.3.3. *IceA* Geni (Inducible by Contact with Epithelium Gene)

iceA etken ile gastrik epitel hücrelerinin ilişkisi sonrası uyarılan metilasyon genidir. *iceA1* ve *iceA2* allelleri tartışmalıdır. *iceA1* varlığı peptik ülserli hastalarda, *iceA2* ise daha çok non-ülser dispepsili hastalardan izole edilir.¹¹⁵

Yapılan bazı çalışmalarda ise Asya ve Amerika kökenli suşlarla *iceA* alleleriyle patoloji arasında ilişki bulunamamıştır.^{64, 116}

Peptik ülserli hastaların sıklıkla *cagA*, *vacA s1m1*, *iceA1* geni taşıyan daha virulan *H. pylori* suşları ile enfekte olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya çıkmıştır.

Brezilyada 142 hastada yapılan bir çalışmada, *iceA* allellerinin klinik fark gözetmeksizin izolatların % 90'ından fazlasında bulunduğu, sıklığın 7 yaş üzerindeki hastalarda daha yüksek olduğunu gösterilmiştir.¹¹⁶

2.5.1.3.4. *OipA* (Outer Inflammatory Protein) Geni

H.pylori hücre duvarında yer alan *OipA* proteininin *cag* PAI gibi IL-8 ekspresyonunda rol oynadığı ve *oipA* pozitif suşların duodenal ülserle ilgili olduğu bildirilmiştir.^{73, 117, 118}

Son çalışmalar *oipA*'nın dentritik hücrelerden sitokin salgılanması üzerinde etkilerini bildirmektedir. *OipA* dentritik hücrelerin maturasyonunu engeller, IL-10 üretimin azaltır, IL-12 üzerinde değişiklik yapmaz böylece kronik enfeksiyon oluşmasını kolaylaştırır.¹¹⁹

2.5.1.3.5. *H. pylori*'nin Diğer Gen Bölgeleri

Mide kanseri olan hastalarda *H. pylori* genomunun en değişken bölgesini (plasticity region) oluşturan ORF bölgesi gösterilmiştir. Brezilya'da gastrik kanser, ülser ve gastritli hastalardan izole edilen *JHG947* genine sahip suşların kanser ve ülser ile

ilişkileri tespit edilmiş ve bu yeni genin *cagA* ve *vacA* ile birlikte önemli bir virülans faktörü olabileceği bildirilmiştir.¹²⁰

Mide kanseri ile ilişkili olabilecek genlerle ilgili bir diğer çalışmada *jhp0870* geninin peptik ülser ile ve *jhp0649* geninin ise mide kanseri ile ilişkisi olabileceği bildirilmiştir.¹²¹

H. pylori'nin bir başka virülans faktörü olan *fts* geninde kodlanan *fts* (filamentation-temperature-sensitive) membran proteini; salgılanan proteinlerin transportunda görevli olmasının yanında proteolitik aktiviteden de sorumludur.¹²²

2.5.1.4. İmmun Cevaptan Kaçma

H. pylori immün hücrelerin aktivasyonu azaltır ve immün efektörlerden kaçış için çeşitli mekanizmalar geliştirir. Bir çok bakteri TLR9 tarafından tanınan metillenmemiş sitozin-guanin zengin DNA'ya sahiptir.¹²³ Bununla birlikte, *H. pylori* DNA'sı çoğunlukla metillenmiştir ve bu TLR9'un hücreler tarafından tanınmasını geciktirir.⁹⁶ Bakteriyel kamçı genellikle TLR5 tarafından tanınır, ancak *H. pylori* flagellası güçlü TLR5 sinyal yolunu aktive etmez.⁵⁴

H. pylori fagositoz inhibisyonu, fagozom maturasyonunun bozulması ve apoptozisin desteklenmesi yoluyla makrofaj fonksiyonlarına karşı koyar.¹²⁴⁻¹²⁶

H. pylori *vacA*, antijenlerin alım ve işlenmesine müdahale eder, T hücre çoğalmasını ve aktivasyonunu engeller ve seçici T-hücresi apoptozunu indükler.^{114, 127}

Bu stratejilerin her birinin göreceli önemi henüz net değildir, hastadan hastaya değişebilir. *H. pylori*'nin kolonizasyonu ve zedelenmiş gastrik epitelde doku aralıklarında sızan besinlerin kullanılabilmesi için konak hücre reseptörlerine bağlanması gerekir. Konak dokuya adezyonu sağlayan dış membran proteinleri (OMP)'ler adezyonun yanı sıra direkt olarak bakterinin virülansında rol oynamaktadır.¹²⁸

Buna ek olarak, mide epitel Lewis antijenlerini taklit ederek ve yüzey proteinlerinin antijenik değişimi ile, hastanın adaptif cevaplarından kaçınır.¹²⁹

2.6. *H. pylori* Enfeksiyonunun Yaptığı Hastalıklar

H. pylori gastrointestinal sistemi etkilediği gibi ekstraintestinal sistemi de etkileyebilmektedir.

2.6.1. Gastrointestinal Sistem Hastalıkları

2.6.1.1. Gastrit

H. pylori gastritin dünyadaki en yaygın sebebidir yine buna ek olarak peptik ülser hastalığı, atrofik gastrit ve adenokarsinom ve nadir olarak da gastrik lenfomayla ilişkilidir.^{130, 131}

H. pylori enfeksiyonuna sahip bireylerin büyük kısmı ülser hastalığına adenokarsinoma ve lenfomaya dönmedikçe asemptomatiktir.^{132, 133} Çocuklarda *H. pylori* gastritinin çoğunlukla asemptomatik seyretmesi ve tekrarlayan karın ağrılarının sık görülmeyen bir sebebi olması tüm dünyada kabul gören görüşlerden biridir.¹³⁴⁻¹³⁶

2.6.1.1.1. Akut Gastrit

Akut enfeksiyonda karın ağrısı, mide bulantısı, ağız kokusu ve baş ağrısı gibi bulgular görülebilmektedir. Akut enfeksiyonu takip eden ilk haftada gastrik asit sekresyonunun artışı takiben, 6 hafta veya daha uzun sürede aklorihidri olur. Gastrik asit sekresyonundaki azalma gastrik oksintik mukozada oluşan inflamasyonun derecesi ile ilişkili gibi görülmektedir. *H. pylori* gastrin salınımını artırıp, somotastatin salınımını azaltarak gastrik sekresyonu değiştirir.^{137, 138}

Çocuklarda ve yetişkinlerde gastrik antrum bölgesinde aktif gastritler ve bakteriyel kolonizasyon yaygındır.^{139, 140}

2.6.1.1.2. Kronik Gastrit

H. pylori'nin en sık görülen klinik tablosunu kronik gastrit oluşturmaktadır. Bazı çalışmalar çocuklarda *H. pylori*'nin sebep olduğu akut enfeksiyonların genellikle spontan düzeldiğini göstermiştir.¹⁴¹ Asemptomatik bireylerin çoğu kronik gastrit, aktif gastrit ve nonatrofik gastrite dönüşebilmektedir.

Fokal epitelyal hücre hasarı, lamina propriada nötrofil, eozinofil ve monositler ve daha çok B ve T lenfositlerin bölgeye gitmesi ile oluşmaktadır.¹⁴² Çocuklarda kronik aktif gastritte panmukozal tutulum olmasına rağmen genellikle yüzeyseldir.¹³⁰ Bazı çalışmalarda *H. pylori* gastritinin atrofik gastrite ilerleme prevalansının % 1 ile % 3 arasında olduğu gösterilmiştir. Hipoklorhidride diğer bakteriler *H. pylori* ile çoğalma yarışına girer.

H. pylori inflamasyon paternindeki değişiklere göre farklı hastalık durumlarına sebep olabilir. Duodenal ülser hastalığında genellikle antrumda nadiren korpusta bulunur ve yüksek asit salınımı gözlenmektedir. Aksine düşük asit salınımının ve panmukozal tutulumun olduğu korpus ağırlıklı gastrit ise gastrik ülser, atrofik gastrit ve kanser ile ilgili olabilmektedir.¹⁴³

2.6.1.2. Peptik Ülser Hastalığı

Çocuklarda peptik ülser hastalığının en yaygın sebebi *H. pylori* enfeksiyonudur ve 8 yaş altında çocuklarda oldukça nadir görülmektedir.^{132, 133}

Duodenal ve gastrik ülser hastalığı ile *H. pylori* arasında yakın bir ilişki bulunmuştur. Avrupa’da 2550 semptomatik çocuğu kapsayan kohort çalışmasında üst GIS endoskopisinde ancak % 2 oranında peptik ülser gösterilmiştir; *H. pylori* daha çok duodenal ülserlerle ve antral predominant gastrit ile ilişkilidir. Peptik ülserli çocuklarda % 54 oranında *H. pylori* saptanmış olup duodenal ülser sıklığı çocuklarda gastrik ülserden daha fazladır.¹⁴⁴

Endoskopik örneklerde *H. pylori* negatif ülserler ile *H. pylori* ilişkili peptik ülserler ayırt edilemez. Çocuklarda kronik gastritli hastalardan kaçının peptik ülser hastalığına döndüğü bilinmemektedir, fakat yetişkinlerde enfekte olan hastalarda peptik ülser dönüşünün yaklaşık % 15-20 olduğu tahmin edilmektedir.¹⁴⁵

H. pylori ile ilişkili peptik ülser hastalığının mekanizmasında gastrik metaplazi, proinflamatuar sitokin üretimi ve bakteriyel virulans faktörleri gibi kompleks bir etkileşim içermektedir.¹⁴³

Antral baskın gastritler daha çok duodenal ülser ile korpus ağırlıklı ülserler, gastrik ülser, gastrik atrofi, intestinal metaplazi ve gastrik adenokarsinom ile ilgilidir. *H. pylori* eradikasyonu peptik ülseri iyileştirir, fakat % 30 hastada dispeptik semptomlar devam eder.^{146, 147}

2.6.1.3. Gastroözofagial Reflü Hastalığı (GÖRH)

Gastroözofagial reflü hastalığı genel popülasyonda % 20 civarında bulunur.¹⁴⁸ Yapılan birçok çalışmada *H. pylori* enfeksiyonu ile Gastroözofagial reflü hastalığı arasındaki ters ilişki gösterilmiştir.^{149, 150}

Bir kısım çalışmalarda ise *H. pylori* enfeksiyonunun reflü hastalığını ortaya çıkarabileceği veya daha önce var olan reflü hastalığını alevlendirilebileceği vurgulanmıştır.¹⁵¹

2.6.1.4. Mide Kanseri ve Mucosa Associated Lenfoid Tissue (MALT) Lenfoma

H. pylori enfeksiyonu ile gastrik MALT lenfoma riski önemli ölçüde artmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar MALT lenfomalı hastaların % 98'inin *H. pylori* ile enfekte olduğunu göstermiştir.⁸

Düşük grade MALT lenfomalı hastalarda *H. pylori* eradikasyonu ile % 82'sinde tümörde gerileme sağlanmaktadır.¹⁵²

2.6.2. *H. pylori*'nin Neden Olduğu Gastrointestinal Sistem Dışı Hastalıklar

H. pylori enfeksiyonun otitis media, üst gastrointestinal sistem enfeksiyonları, periodontal hastalıklar, gıda allerjisi, ani bebek ölüm sendromu, kısa boy, sideroblastik anemi, vitamin B₁₂ eksikliği ve megaloblastik anemi, immünolojik ve alerjik hastalıklar (ürtiker, Hashimoto tiroiditi, romatoid artrit, seronegatif spondiloartropatiler ve Sjögren sendromu) koroner arter hastalığı ve diğer bazı hastalıkların (Alzheimer hastalığı, Guillain Barre sendromu), karaciğer ve safra yolu hastalıkları, inflamatuvar barsak hastalığı, idiyopatik trombositopenik purpura gibi hastalıkların patogenezinde rol oynadığına yönelik çalışmalar olmakla birlikte halen araştırılmaktadır.^{153, 154}

2.6.2.1. Demir Eksikliği Anemisi

H. pylori enfeksiyonu ile demir eksikliği anemisi arasında ilişki birçok çalışmada gösterilmiştir.¹⁵⁵ *H. pylori* pozitif çocuklarla negatif olan çocuklarla kıyaslandığında iki kat fazla demir eksikliği anemisi bulunmuştur. Genellikle, gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda ve adolesanlarda yetişkinlerle karşılaştırıldığında demir eksikliği anemisi daha sık görülmektedir.¹⁵⁶

H. pylori enfeksiyonuna bağlı demir eksikliği anemisinde çeşitli mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır. Enfekte hastalarda gastrit, erazyon ve ülserasyon kronik gastrointestinal kanamaya sebep olsada okkült kanama görülmemektedir. Diyetle alınan

demirin emiliminde gastrik asit ve gastrik askorbik asit önemlidir ve hipoklorhidri demir emilimini etkilemektedir.^{157, 158}

Çocuklarda bakteriyel kolonizasyon sırasında asit üretimi tam olarak anlaşılmamıştır. Hastaların çoğunda *H. pylori* enfeksiyonu sırasında midede mukozal ve glandüler striktür gözlenirken, atrofi pek gözlenmez.¹⁵⁹

Dirençli demir eksikliği anemisi olan vakalarda *H.pylori* enfeksiyonu da düşünülmelidir.¹⁵⁴ Hatta daha önce demir takviyesine rağmen dirençli anemisi olan vakalarda *H. pylori* eradikasyonu ile demir replasmanına gerek kalmadan aneminin düzeldiği gösterilmiştir.¹⁶⁰⁻¹⁶⁴

2.6.2.2. İmmun Trombositopenik Purpura (ITP)

H. pylori ve kronik ITP arasındaki ilişki çocuklarda tam olarak kurulamamıştır bununla birlikte *H. pylori* tedavisi almış yetişkin hastaların % 50 sinde trombositopeni tanımlanmıştır.¹⁶⁵ ITP ile ilgili pediatrik veriler azdır. Son verilere göre *H. pylori* ile enfekte ITP li yetişkinlerde tedavinin faydalı olduğu kabul görmektedir.^{166, 167}

2.6.2.3. Büyüme Geriliği

H. pylori'nin çocuklarda büyüme geriliğine sebep olduğu konusunda çelişkili sonuçlar vardır.¹⁶⁸⁻¹⁷³ Bir çalışmada *H. pylori* pozitif ve *H. pylori* negatif kişiler karşılaştırıldığında *H. pylori* enfeksiyonunun çocuklarda kısa boylu olma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.¹⁷⁴

Çoğunluğu okul öncesi ve okul çağında çocukların 12 ay boyunca izlendiği bir çalışmada *H.pylori* prevalansı yaklaşık % 7 olarak bulunmuştur. *H. pylori* pozitif çocuklarda, enfeksiyonun olmadığı çocuklar ile kıyaslandığında boy uzaması üzerindeki etkisinde belirgin farklılık tespit edilmiştir.^{175, 176}

2.6.2.4. Non Ülser Dispepsi (NÜD)

Hastalığa sebep olabilecek bir sebep bulunamayan bu grupta semptomların nedeni ve mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte yakınmaların psikososyal faktörler, gastrointestinal hipersensitivite, gastrik asit hipersekresyonu, *H. pylori* enfeksiyonu ve gastroduodenal dismotilite sonucu geliştiği düşünülmektedir. Düşük *H.*

pylori prevalanslı gelişmiş ülkelerdeki NÜD’li hastalar ve çocuklarda *H. pylori* prevalansı kontrollere göre yüksek bulunmuştur.

2.7. Tanı

H. pylori ile ilişkili hastalıkların tanısı, klinik bulgular, mikrobiyolojik yöntemler ve histopatolojik incelemeler ile koyulmaktadır. *H. pylori* enfeksiyonun tanısında noninvaziv, doğruluk oranı yüksek, ucuz, kolay uygulanabilen, aktif enfeksiyon ile geçirilmiş enfeksiyonu ayırt edebilen test en ideal testtir. Ancak böyle bir test henüz bulunmamaktadır.¹⁷⁷

H. pylori enfeksiyonunun tanısında noninvaziv testler; üre nefes testi, serolojik testler ve dışkıda antijen arayan testlerdir. İnvaziv testler ise endoskopik biyopside hızlı üreaz testi, histoloji, kültür ve polimeraz zincir reaksiyonudur (PCR).

2.7.1. İnvaziv Testler

2.7.1.1. Endoskopik Tanı

Üst gastrointestinal endoskopi ve biyopsi tanı için geçerli bir testtir.¹⁷⁸ *H. pylori*’nin neden olduğu mide inflamasyonu her zaman makroskopik olarak gözlenmez.¹⁷⁹ Endoskopi ile mukoza görünüşü, gastrit formu (fokal, granülomatöz veya lenfositik gastrit) lezyonun lokalizasyonu gibi prognozu etkileyecek önemli bulgular elde edilir. Antrumdaki lezyon daha çok duodenal ülserle işaret ederken, korpusdaki lezyon atrofik gastrit, gastrik ülser ve gastrik karsinomalar için önemli olabilir. Mide antrumunda pürüzsüz Arnavut kaldırımına benzer düzensiz yapılı 1-4 mm çapında nodüller yapılar histolojik olarak gastrit şiddetini belirlemektedir.¹⁷⁹

Bu yöntemin prosedürlerinin çok olması, anestezi gerektirmesi, diğer bazı yöntemlere göre pahalı olması, ilgili alanda uzman gerektirmesi gibi dezavantajları vardır.

2.7.1.2. Kültür

Şüpheli *H. pylori* enfeksiyonu tanısı için kültür altın standart olarak kabul edilir. Ancak, bakterinin üretilmesi zordur ve hassas gereksinimleri vardır, olumsuz şartlar altında morfolojisi değişmektedir.¹⁸⁰ Deneyimli laboratuvarlar bile enfekte biyopsiden

sadece % 50-70 oranlarında organizmayı üretebilmektedir.¹⁸¹ Multiple biyopsi alarak kültür ile tanı koyma başarısı artmaktadır.¹⁸²

Kültür için örnekler alındıktan sonraki 2-3 saat içinde ekilmesi önemlidir, çünkü *H. pylori*'nin gastrik çevreden uzak uzun süre yaşaması düzenleyici genlerin kaybına sebep olur.¹⁸³

Bu yöntemde örneğin sayısı veya büyüklüğü, örnekteki bakteri miktarı, örneğin taşıma şekli ve süresi, kullanılan besiyerleri ve inkübasyon şartları ile çalışanın tecrübesine dayanarak değişken duyarlılık gösterir. Optimal şartlarda duyarlılık ve özgüllük sırasıyla <% 90 ve % 100'dür. *H. pylori* güç üreyen bir bakteridir. Mikroaerofilik kompleks bir çevreye ihtiyaç duymaktadır ve dış etmenlerden kolayca etkilenmektedir.¹⁸⁴ *H. pylori* kültürünün başarısı biyopsi örneğinin alımıyla ekimi arasındaki süreye ve oksijenle temasına bağlıdır. Alınan örnekler en fazla dört saat içinde ekilmeli bu süre boyunca +4°C'de bekletilmelidir. Örnek hemen ekilemeyecekse -80°C'de saklanabilir, bu işlem kültürde üretmeyi azaltacaktır. *H. pylori* seçici (antibiyotik içeren) ve seçici olmayan besiyerlerinde, mikroaerofilik ortamda 3-10 günde üretilmektedir. Yalancı negatif sonuç % 5-10'dur.¹⁸⁵

Üretilen bakterinin antibiyotiklere karşı invitro duyarlılığı, moleküler tiplendirme yöntemleri ile virulans faktörleri araştırılabilir ve re-enfeksiyon, relaps veya mix enfeksiyon ayrımı yapılabilir. Biyopsinin transport şartları kültür başarısını etkilemektedir. Labaratuarda hazırlanan beyin kalp infüzyon broth (% 3.5), maya özütü (% 2.4), at serumu (% 5) ve Dents antibiyotik suplamanti (vancomycin/trimetopurin/sefsolidin/amfoterisin) içeren besiyerleri hem transport hem de kültür için başarılı bir şekilde kullanılmıştır.¹⁸⁶

Ek yardımcı madde ilave edilmiş Brain Heart Infusion (BHI), Stuart taşıma besiyeri, % 20 gliserol içeren Brucella broth veya % 20 gliserol içeren sistein- albumi broth, taşıma ortamı olarak kullanılmaktadır.

Ticari olarak elde edilen selektif besiyerleri, nazofaringeal ve diğer potansiyel kontaminantları baskılayabilir bu besiyeri ile birlikte % 10 taze at kanı içeren Colombiya agara da ekim yapılması önerilmektedir. Koloniler 3-5 gün inkübasyon sonrası gözle görülebilir boyuta ulaşabilir faktat primer izolasyonunda bu süre biraz daha uzayabilir. Kültürün gastrik biyopsi gerektirmesi, maliyetli olması, özel

labaratuvar gerektirmesi dezavantajlarıdır. Kültürün sağladığı en önemli avantajlardan biri antibiyotik direncini belirlemeye olanak sağlamasıdır.¹⁸⁷

Özetle, dikkatle yapıldığında *H. pylori* kültürü zordur, fakat yüksek derecede hassas güvenilir bir yöntemdir. Bunun en büyük avantajı izolatlardan antibiyotik duyarlılık testleri yapılabilir bu da tedavi sonucunu etkileyebilir. Kültür antimikrobiyal duyarlılık testi için kullanılabilir.

2.7.1.3. Hızlı Üreaz Testi

Bu test mide biyopsi örneklerinde. *H. pylori*'nin ürenin hidrolizi ile açığa çıkan amonyağın pH'yı yükseltip renk indikatörü olan fenol kırmızısında renk değişikliği oluşturarak üreaz aktivitesinin tespiti esasına dayalıdır.

Ticari olarak kullanıma hazır sunulan gel test (CLO test, Hpfast), strip test (pyloriTek) ve tablet testler bulunmaktadır. Bunların duyarlılığı % 80-95, özgüllüğü de % 95-100'dür. Duyarlılık örnekteki bakteri miktarından etkilenir. Bu testler kanayan, aklorhidrili, antibiyotik ve/veya proton pompa inhibitörü kullananlarda düşük duyarlılık göstermektedir.¹⁸⁸⁻¹⁹⁰

Yapılan kantitatif çalışmalarda örnekte en az 10^4 bakteri olması halinde pozitif sonuç alınabilmektedir. Çoklu biyopsi örneklerinin alınması duyarlılığı arttırmaktadır.¹⁹¹ Pratikte üreaz test sonuçlarının 24 saat içerisinde değerlendirilmesi gerekmektedir. Testlerin duyarlılığı midedeki bakteri yüküne göre değişir. Test oda ısısında (22°C) iki saat inkübe edilmelidir. Ucuz, hızlı ve kolay uygulanabilen bir testtir.¹⁹¹

Birçok olguda endoskopi sırasında tanının koyulması tedavinin planlanması için daha avantajlı olmaktadır. Histolojik yöntemler ve kültürden daha ucuzdur.¹⁹²

2.7.1.4. Histopatoloji

Çoğu araştırmacı tarafından histopatolojik inceleme *H. pylori*'nin tanısında altın standart test olarak kabul edilmektedir.¹⁹³

Bir çok olguda organizma sayısının düşük olduğu durumlar dışında enfeksiyon Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama ile yüksek oranda tespit edilebilmektedir. *H. pylori* ile enfekte olmuş hastalardan alınan gastrik mukozal biyopsilerinde H&E boyama yapılmış yüzeysel infiltratta genellikle mukoza içinde dikkate değer şekilde plazma

hücreleri ve lenfositler görülür.¹⁹⁴ Çocuklarda H&E and Giemsa boyaları % 82 sensitif ve %95 spesifiktir.¹⁹⁵

Warthin-Starry gümüş boyama yoğun laboratuvar işi isteyen, pahalı bir yöntemdir ve bu yöntemde deneyimli teknisyenlere ihtiyaç duyulmaktadır. Modifiye Giemsa boyası daha basit bir yöntemdir. *H. pylori* için Akridin oranj (floresan boya), Cresil-fast Moru, Gimenez ve Brown-Hopps Moru, modifiye Mc Mullen boyaları önerilen diğer boyalardır. Çoklu gastrik biyopsi ile histolojinin sensitive ve spesivitesi % 95'in üzerindedir. İmmun Floresan Antikor Testi (IFAT) ve İmmün Peroksidaz (IP) gibi immunohistokimyasal boyalar kullanılmaktadır. İmmunhistokimyasal boyalar histolojik muayenede en duyarlı ve özgül metodlar olup altın standarttır.¹⁸⁸⁻¹⁹⁰

Floresan Insitu Hibridizasyon (FISH) yöntemi yeni fakat yaygın kullanılmayan bir testtir. Bu testle bakterinin varlığı ile birlikte direnç genlerinin varlığı da araştırılabilmektedir. Ancak bu yöntemin rutin olarak kullanılması uygun değildir.^{196, 197}

Kronik gastritle birlikte *H.pylori* kolonizasyonu sık olmasına rağmen tüm kronik gastrit olguları *H.pylori*'den kaynaklanmamaktadır.¹⁹⁸ Enfeksiyon tedavi edilmediğinde kendiliğinden iyileşmez genelde ömür boyu devam ederek inflamatuvar sürecin ilerleyerek endokrin hücrelerinde kayıp (atrofi) olmasına ve mukozada intestinal metaplaziye kadar değişen bulgulara sebep olmaktadır. Doku tanısı prekarsinojen değişimlerin şiddetini belirlemek üzere yaygın olarak kullanılmaktadır.¹⁹⁹

2.7.2. Noninvasive Testler

2.7.2.1. Üre Nefes Testi

Üre nefes testi (ÜNT) günümüzde *H. pylori* enfeksiyonunu tespit etmek için en doğru sonuç veren noninvaziv bir yöntem olarak kabul edilir. Nispeten pahalı bir yöntemdir. Yüksek duyarlılık (% 95) ve özgüllük (% 100) oranına sahip testtir. Üre ¹³C izotopu ile işaretlenir ve yutulur. Oral karbon izotopuyla işaretli ürenin *H. pylori* varlığında hidrolizi ile amonyak ve bikarbonat oluşması ve karbondioksitin solunum ile atılması prensibine dayanır. Solunumla atılan karbondioksit miktarı üreaz aktivitesini gösterir ve aktif enfeksiyonun bir belirteci olarak kullanılmaktadır. Çok küçük infantlarda ve tekrarayan uygulamalarda risk oluşturmaz, güvenle kullanılır.²⁰⁰

İzotop olarak 2 tip (¹³C ve ¹⁴C) üre nefes testi geliştirilmiştir. Her iki testle de aktif enfeksiyon tespit edilebilir ve primer tanı ve tedaviye cevabı izlemde önemlidir.

¹³C üre testi yaygın olarak kullanılmasına rağmen non-radyoaktif ¹³C miktarını ölçmede kütle spektrometresini gerektirmesi nedeniyle pahalıdır. ¹⁴C üre nefes testinin uygulanması ¹³C testinden daha basittir ve daha ucuzdur fakat düşük dozda da olsa uzun ömürlü radyoizotoplara maruziyet vardır. Çocuk ve hamilelerde ¹³C nefes testi tercih edilmelidir. ^{201, 202} ¹³C testi yüksek sensitiviteye sahiptir. Önceden antibiyotik, bizmut tuzları veya PPI tedavisi alan hastalarda yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir. Test öncesinde ilaç alımı sınırlandırılmalıdır.

2.7.2.2. Serolojik Testler

Serolojik testler ilk kullanılan non-invaziv testlerdir. *H.pylori*'ye karşı oluşan cevabının saptanması esasına dayanır. Bu bakteri ile oluşan infeksiyonlarda IgG ve IgA antikorları ile sistemik ve lokal bağışık yanıt gelişir. *H. pylori* infeksiyonu erken dönemde spesifik IgM, ilerleyen dönemlerde ise spesifik IgA ve IgG seviyelerinde artış ile sonuçlanan hücresel ve humoral immün cevabı tetiklemektedir. ²⁰³

Serum IgM'nin aksine serum IgA ve IgG seviyeleri yıllarca tespit edilebilmektedir. Tedavi edilmemiş kişilerde aktif enfeksiyona işaret eder. Anti-*H.pylori* serum IgG analizleri serum IgA'ya oranla daha fazla özgün ve duyarlı olup, serum seviyesi her zaman daha yüksek oranlardadır ancak geçmiş enfeksiyondan aktif enfeksiyonu ayırt edemez.

Antikorlar hemaglutinasyon, aglutinasyon, kompleman fiksasyon ve indirekt immunofloresans ve ELISA ile belirlenir. Serolojik testlerle serumda anti-*H. pylori* IgG'nin araştırılması için günümüzde en yaygın kullanılan yöntem ELISA olup bu amaçla çeşitli firmalarla üretilmiş kitler ticari olarak temin edilebilmektedir. Bu yöntemde yaklaşık duyarlılık ve özgüllük % 95'ler civarındadır. ^{13, 204}

Antikorlar enfeksiyona karşı koruyucu olmaktan çok tanı değeri taşımaktadır. En yaygın kullanılan yöntem ELISA'dır. Serolojik yöntemler, özellikle epidemiyolojik çalışmalarda ve tedavinin izlenmesinde yararlıdır. Başarıyla tedavi edilen olgularda IgG cevabı azalırken, enfeksiyonun tekrarında yükselmektedir. Tedavi öncesi antikor titreleri saptanmalı ve tedaviden altı ay sonra kontrol edilmelidir. Bu süre sonunda titrenin % 50 oranında düşmesi tedavinin etkin olduğunu gösterebilir. Bu testler epidemiyolojik çalışmalar için daha uygun testlerdir. ²⁰⁵

Genel olarak serolojik testler kendi başına *H. pylori* enfeksiyonunun teşhis ve takibinde kullanılması önerilmemektedir, çünkü çocuklarda *H. pylori*'ye karşı IgG veya IgA antikorlarının tespitinde spesifiklik ve sensitiflik değişkenlik gösterir. IgA-bazlı testler, *H. pylori* ile enfekte hastaların sadece % 20 ile % 50 sinde pozitifdir.²⁰⁶

Duyarlılık ve özgüllüğü arttırmaya yönelik çabalar sonucu vacA ve cagA gibi klinik ve patolojik önemi olan spesifik proteinlere karşı antikor cevabını ölçebilen ELISA, Rekombinant IB ve Western Blot (WB) gibi yeni serolojik yöntemler geliştirilmiştir.¹⁸⁸⁻¹⁹⁰

2-6 yaş arasındaki çocuklarda antikor testleri ile epidemiyolojik çalışmaların *H. pylori*'nin geçişi ve prevalansı konusunda değeri azdır.²⁰⁷ Çocuklarda bu alternatif girişimsel olmayan yöntemlerin referans standartının olmaması nedeniyle şu anda klinik kullanımı açısından tavsiye edilmez.²⁰⁸

2.7.2.3. Dışkıda Antijen Testi

H. pylori antijeni için dışkı testi, *H. pylori* enfeksiyonunu belirleyen ucuz, noninvaziv bir yöntemdir. Dışkı testi genellikle herhangi bir laboratuvarda yapılabilir. Optik spektrofotometre ile yapılabilir, ucuzdur ve özel personel gerektirmez.²⁰⁹ Özellikle ÜNT'ne uyum problemi yaşayan küçük yaşta çocuklar ve nörolojik defisiti olan hastalar için ideal bir yöntemdir.²¹⁰ Dışkıda *H. pylori* antijenlerini tespit amacıyla ticari tanı kitleri geliştirilmiştir.

Bunlar antibiyotik etkinliğinin izlenmesi ve antibiyotik eradikasyonunun başarısında takip amacı ile kullanım onayı almıştır. Tedavi sonrasında testin spesifitesinin düştüğü ve yalancı pozitifliğin sık görüldüğü bildirilmiştir. Bu hastalığın tedavisinden sonra bazı antijenlerin uzun süre dışkıda kalabildiği ve bunların poliklonal antikorlarla tespit edilebildiği gösterilmiştir.²¹⁰

Dışkı antijen testi aktif enfeksiyonu, antikoru değil antijeni göstererek teşhis etmektedir. Güvenilirliğinden birşey kaybetmeden tekrar tekrar kullanılabilmesiyle serolojiden, PPI'dan etkilenmemesiyle de üre nefes testinden ayrılır. Gerekli malzeme sadece dışkıdır. Elde edilmesinde veya taşınmasında özel bir araç gerekmez, taze veya donmuş olabilir. Test materyali, *H. pylori*'ye karşı poliklonal antikorlar içerir ve bu antikorlarla sıvanmış çubukçuklar (mikrowell) kullanılır. Antikoru içeren bölmeye su ile seyreltilmiş gaita örneği konur üstüne mikrowell çubuk eklenir bir damla enzimle

modifiye edilmiş poliklonal antikor damlatılır ve karıştırılır. Sonra inkübe edilir, daha sonra bir substrat eklenerek sonuç gözlemlenir.

Hem poliklonal ve monoklonal antikorların kullanıldığı antijen testleri geliştirilmiş ve çocuklarda denenmiştir. 1999-2001 yıllarında 3419 hastayı içeren büyük bir çalışmada, poliklonal testin ÜNT kadar güvenilir olmadığını ileri sürmüştür.²⁰¹

2.7.2.4 Moleküler Tanı Yöntemleri

Bu yöntemler *H. pylori* tespiti ile birlikte doku polimorfizmi, antibiyotik direncine sebep olan mutasyonların tespiti, re-enfeksiyonların tespiti, hastalıkların genetik temelini gösterilmesinde kullanılmaktadır. Bu yöntem seçilecek DNA ekstraksiyon yöntemi, hedef gen bölgeleri, primer seçimini ve uygulama şartlarından, bununla birlikte sonuçların yorumlanması için kullanılan yöntem ile araştırmacının deneyiminden etkilenmektedir. Test edilen materyale ve testin tipine göre de sensitivite ve spesivite değişmektedir.^{211, 212}

DNA izolasyon yönteminin doğru seçilmemesi yanlış negatif sonuçlara sebep olabildiği gibi primer seçimi de testin spesivitesi ve sensitivitesini direk olarak etkiler. Bakterinin tespitinde PCR metotlarında bakteriye ait hedef genler arasında 16S rRNA geni, random kromozom dizileri, 24 kDa tür spesifik protein kodlayan genler ve 26 kDa tip spesifik antijen geni, üreazA (*ureA*) geni ve önceleri üreazC (*ureC*) olarak adlandırılan phosphoglucosamine mutaz (*glmM*) geni kullanılmıştır.²¹³

Bu yöntemde hedef bölgeler çalışmanın amacına göre belirlenmelidir. Örneğin *ureC* ve *ureA* genleri *H. pylori* tanısı için oldukça spesifiktir, direkt tanı için kullanılacaksa bu genlere ait spesifik dizilerin hedef olarak alınması tanıyı yüksek özgüllük kazandıracaktır oysa 16S RNA *H.pylori* gibi diğer gram negatif bakterilerde ortak dizilere sahip olması sebebiyle düşük özgüllükte sonuçlar alınmaktadır.¹⁰⁹

H. pylori'nin tespiti ve genotipik analizi için In-house-PCR, realtime-PCR, multipleks PCR, PCR-AFLP, PCR-RFLP, RAPD gibi nükleik asit amplifikasyon yöntemleri, FISH, DNA dizi analizi ve DNA mikroarray teknikleri kullanılmıştır.²¹⁴

PCR yönteminin diğer bir avantajı örneklerde daha az bakteri yükü gerektirmesi, hızlı sonuç vermesi ve özel işlem malzemeleri veya transport gerektirmemesi ve hastanın tedavisinde daha doğru karar vermeyi sağlayabilmesidir. Ayrıca aynı zamanda makrolid, flurokinolon direnci gibi antibiyotik dirençleri tespit edilebilir.²¹⁵⁻²¹⁷

Agar dilüsyon metodu ile kıyaslandığında antibiyotik duyarlılık testlerinde RT-PCR yöntemi daha kabul edilebilir ve çeşitli avantajlar sağlamaktadır. İlk olarak PCR için gastrik biyopsi örneği formaldehid kullanılarak sabitlenir parafin içerisinde bekletilir ve agar dilüsyon yöntemine göre daha hızlı ve sensitif bir sonuç verir antibiyotik tedavisine başlamadan önce klinisyeni daha doğru yönlendirir.²¹⁸

2.7.2.5. Amplifikasyon Bazlı Yöntemler

Amplifikasyon yöntemleri ile *H. pylori*'nin 16S rRNA geni, *cagA*, *vacA* ve alleleri, *cagE* ve alleleri, *ice A* ve alleleri *babA* ve *babB*, *ureA*, *ureB* ve *ureC* (*glmM*) geni, RNA polimeraz alt ünitlerini kodlayan *rpoB* ve *rpoD* genleri ve *HP0637* gibi özgül virulansla ilgili olduğu düşünülen genlerin varlığı araştırılmıştır.²¹⁹

Amplifikasyon bazlı yöntemler, antibiyotik direncinin moleküler takibinde de klasik yöntemlere karşı daha duyarlı sonuçlar üretmiş olmakla birlikte standardizasyon eksikliği ve yorum farklılıkları gibi nedenlerle rutin kullanım alanı henüz bulamamıştır.
220, 221

2.8. Tedavi Rejimleri

Eradikasyon rejimleri ile *H.pylori* enfeksiyonun % 80'den fazlası yan etki gelişmeden ve bakteri direnci gelişmeden tedavi edilmektedir.61 *H. pylori* tedavisinde ilaçların hem mide mukozasına geçişindeki güçlükler hem de direnç sorunu nedeniyle tek bir antibiyotiğin yeterli olmadığı, birden çok ilacın birlikte kullanıldığı kombinasyon tedavileri önerilmektedir. Kombine tedavi vermenin amacı; eradikasyon oranını artırmak ve antibiyotiğe direnç gelişimini azaltmaktır.¹⁷⁸

H. pylori eradikasyonunda proton pompa inhibitörü ile birlikte 14 gün ikili antibiyotik ile klasik tedavi (klaritromisin, amoksisilin ve metronidazol'den ikisi) çocuklar ve erişkinler için tüm dünyada kabul edilen ve Maastricht III uzlaşısı raporunda önerilen, % 80-96 oranında eradikasyon sağlandığı bildirilen ilk basamak tedavi şeklidir.

Birinci basamak tedavide, etkinliği kanıtlanmış tedavi protokolleri kullanılmalıdır. Çünkü uygun ve etkili olmayan tedavi rejimleri *H. pylori*'nin direnç kazanmasına ve toplumda dirençli *H. pylori* suşlarının yayılmasına yol açmaktadır.

Kuzey Amerika Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve beslenme birliği (NASPGHAN), Kanada *Helicobacter* Çalışma Grubu, Avrupa Pediatrik *Helicobacter Pylori* çalışma grubu ve Maastricht III uzlaşısı raporunca önerilen birinci basamak tedavi seçenekleri Tablo 5'teki gibidir.

Tablo 5. *H. pylori* eradikasyonunda birinci basamak tedavi seçenekleri

Seçenek 1	Amoksisilin	50 mg/kg/gün (2 doz) 2 hafta
	Klaritromisin	15 mg/kg/gün (2 doz) 2 hafta
	PPI	1-2 mg/kg/gün (1 ya da 2 doz) 4 hafta
Seçenek 2	Amoksisilin	50 mg/kg/gün (2 doz) 2 hafta
	Metronidazol	20 mg/kg/gün (2 doz) 2 hafta
	PPI	1-2 mg/kg/gün (1 ya da 2 doz) 4 hafta
Seçenek 3	Klaritromisin	15 mg/kg/gün (2 doz) 2 hafta
	Metronidazol	20 mg/kg/gün (2 doz) 2 hafta
	PPI	1-2 mg/kg/gün (1 ya da 2 doz) 4 hafta

Birinci basamak tedavi sonrası eradikasyonun sağlanamadığı durumlarda ikinci basamak tedaviye geçilir. Burada hem erişkin hem de çocuklarda bizmut temelli dörtlü tedaviler önerilmektedir.

Tablo 6. *H. pylori* eradikasyonunda ikinci basamak tedavi seçenekleri

Seçenek 1 10-14 gün	Bizmut subsalisilat	4x1 tablet
	Metronidazol	20 mg/kg/gün (2 doz)
	PPI	1-2 mg/kg/gün (1 ya da 2 doz)
	Amoksisilin veya	50 mg/kg/gün (2 doz)
	Tetrasiklin veya	50 mg/kg/gün (2 doz)
	Klaritromisin	15 mg/kg/gün (2 doz)
Seçenek 2 14 gün	Ranitidin Bizmut sitrat	4x1 tablet
	Klaritromisin	15 mg/kg/gün (2 doz)
	Metronidazol	20 mg/kg/gün (2 doz)

Çocuklarda ardışık tedavi ile ilgili yapılmış fazla çalışma yoktur. Standart üçlü tedavi ile ardışık tedavinin karşılaştırıldığı çocuk hastalarla yapılan bir çalışmada; ardışık tedavi ile % 97,3 eradikasyon sağlanmışken, standart üçlü tedavi ile % 75,7'lik bir eradikasyon oranı bildirilmiştir.²²²

Araştırmacılar bu çalışmada ardışık tedavi rejiminde proton pompa inhibitörü ile beraber beş gün amoksisilin, daha sonra beş gün klaritromisin ve tinidazol kullanmışlardır. Bu çalışma literatürde yer alan, çocukluk çağında *H. pylori* enfeksiyonunda ardışık tedavinin etkinliğinin değerlendirildiği tek çalışmadır. Birinci basamak tedavi sonrası eradikasyonun sağlanamadığı durumlarda ikinci basamak tedaviye geçilir. Burada hem erişkin hem de çocuklarda bizmut temelli dörtlü tedaviler önerilmektedir.^{166, 222}

Dünya çapında *H. pylori* eradikasyonu için birçok tedavi rejimi geliştirilmiştir. Çocuklarda *H. pylori*'nin eradikasyonunda en sık kullanılan, Kuzey Amerika'da Kalach ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise ardışık tedavi alan çocuk hastaların % 85'inde, bir haftalık üçlü tedavi alanların ise % 80'inde eradikasyon sağlanmış ve her iki tedavi arasında etkinlik açısından fark olmadığı bildirilmiştir.²²³

İki haftalık üçlü tedavi ile ardışık tedavinin karşılaştırıldığı bir tez çalışmasında ise sırasıyla % 51,1 ve % 79,1'lik eradikasyon başarısı sağlanmış ve ardışık tedavinin üçlü tedaviden daha üstün olduğu sonucuna varılmıştır.²²⁴

Omeprazol, pantaprazol ve lansoprazol *H. pylori* eradikasyonunda kullanılan birinci kuşak proton pompa inhibitörleridir. Gottrand ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada; 7 gün süre ile Amoksisilin+Klaritromisin ile Amoksisilin+Klaritromisin+PPI alan iki grup hasta karşılaştırılmış ve üçlü tedavi alan grupta başarı oranı % 74,2, sadece antibiyotik alan grupta ise % 9,4 olarak bulunmuştur.²²⁵

Brezilya'da 25 çocuk üzerinde yapılan çalışmada 7 günlük tedavide eradikasyon % 50 iken, 10 günlük tedavide eradikasyon % 73 olarak bulunmuş.²²⁶

Rusya'da 106 Rus çocukta yapılan randomize bir çalışmada 7 günlük omeprazol, amoksisilin ve metonidazole tedavisi sonrası eradikasyon oranı % 80-90 olarak bildirilmiştir.²²⁷

Bir hafta omeprazol, amoksisilin, klaritromisin, metronidazol tedavisi uygulanan prospektif bir çalışmada eradikasyon oranı % 94 olarak gösterilmiş.²²⁸

Sonuç olarak, ampirik *H. pylori* tedavi stratejisi son kılavuzlara göre birinci ve ikinci basamak tedavi kullanımını içermelidir.

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Hastalar

Bu çalışmaya 13 Şubat 2015-1 Aralık 2016 tarihleri arasında dispeptik yakınmalarla başvuran 110 olgu alındı. Olguların 72'si kız, 38'i erkekti. *H. pylori* pozitifliği tespit edilen olgulardan dispeptik yakınması olan ve üst gastrointestinal sistem endoskopisi erişkin gastroenteroloji tarafından yapılan 7 ebebeynde çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya, ÇÜTF etik kurul onayı alındıktan sonra başlandı. Çalışmaya alınan tüm hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alındı.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- 3-18 yaş arasında olan olgular.
- Dispepsi nedeniyle üst gastrointestinal sistem (GİS) endoskopisi planlanan olgular.
- Daha önce *H. pylori* için eradikasyon tedavisi almamış hastalar.

Çalışmadan dışlanma kriterleri .

- Gastroduodenal cerrahi öyküsü olan olgular.
- Çalışmaya katılmayı kabul etmeyen olgular.
- Çalışmadan 1 ay öncesine kadar antibiyotik ve/veya proton pompa inhibitörü (PPI) kullanım öyküsü bulunan olgular.
- Kronik hastalığı olan olgular.

3.2. Endoskopi İşlemi, Biyopsi Örneklerinin Alınması ve Taşınması

Çalışmaya alınan hastalara üst GİS endoskopileri yapıldı. Her işlemden önce fiberoptik endoskop ve biyopsi forsepsleri % 2'lik gluteraldehit solusyonunda 5-20 dk. süreyle dezenfekte edildi. Gluteraldehit *H. pylori*'nin canlılığını yitirmesine neden olabileceğinden endoskop ve forseps iyice distile su ile yıkanarak gluteraldehitten arındırıldı. Üst GİS endoskopi bulguları not edildikten sonra, midenin antrum bölgesinden üç biyopsi örneği alındı. Örneklerden biri % 10 formalin içerisine

alınarak bekletilmeden patolojik inceleme için gönderilirken, diğer ikisi mikrobiyolojik incelemeler için % 3 gliserin içeren Beyin Kalp İnfüzyon Buyyonu (BHIB) içerisine alınarak en geç 2 saatte laboratuvara ulaştırıldı.

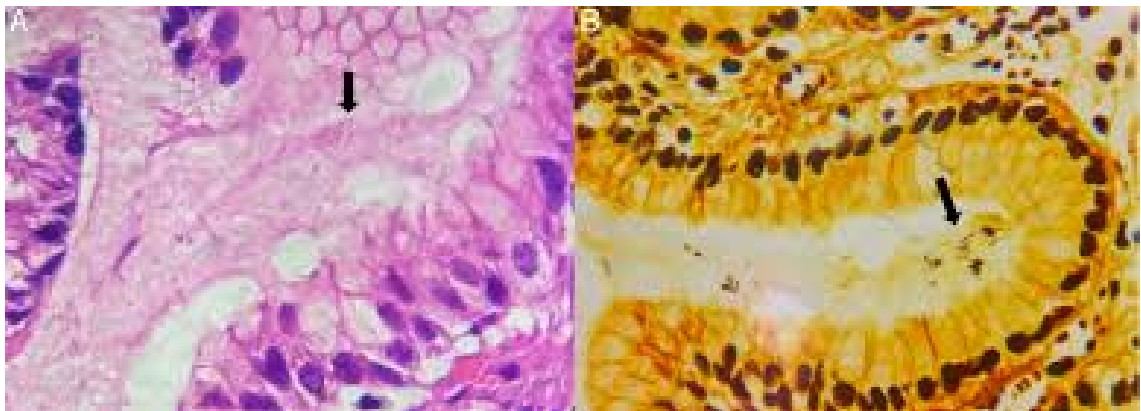
3.2.1. Beyin Kalp İnfüzyon Buyyonu

Biyopsi örneklerinin laboratuvara taşınması amacı ile kullanıldı (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England). Hazır toz besiyerinden 37 gram alınıp 1000 ml distile suda çözülerek, otoklavda 121°C’de 15 dakikada steril edildi. Üzerine otoklavda steril edilmiş gliserinin alt fazından son konsantrasyonu % 3 olacak şekilde eklenerek karıştırıldıktan sonra tüplere ikişer ml döküldü.

3.3. Biyopsi Örneklerinin Patolojik Açidan İncelenmesi

Alınan materyaller bekletilmeden hemen temiz bir saklama kabında laboratuvara gönderildi. Örneklerin otolizi ve dokunun kurumasını önlemek amacıyla materyaller hastadan alındıktan hemen sonra tespit solüsyonu % 10 formalin kullanıldı. Patoloji tetkik istem formu eksiksiz olarak örneği gönderen hekim tarafından dolduruldu. Patoloji uzmanının doğru tanı koymasına yardımcı ek bilgi ve bulguları açıkça ifade edildi. Örnekler mümkün olan en kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı.

Teslim alınan örneklerde parafin bloklama, deparafinizasyon ve boyanma işlemi yapıp kontrolleri yapılan lamalar kapatılarak mikroskopik inceleme için hazırlandı.



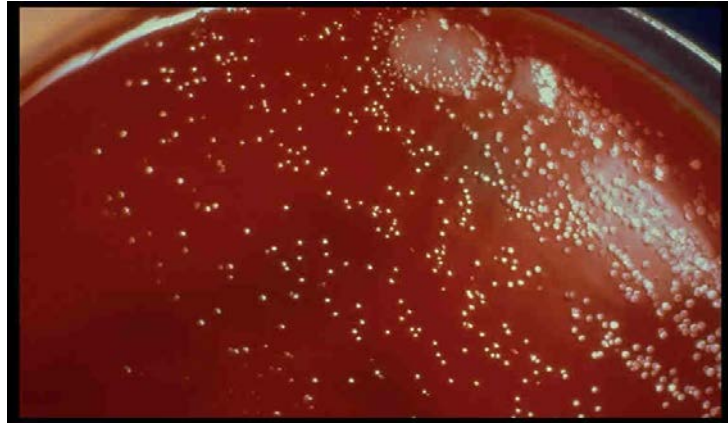
Şekil 3. *H. pylori*'nin patoloji preparatlarındaki görüntüsü

3.4. Biyopsi Örneklerinin Mikrobiyolojik Açıdan İncelenmesi

Antrumdan alınan iki biyopsi örneğinden bir tanesi *H. pylori*'nin kültür ortamında izolasyonu ve antibiyotik duyarlılık tespiti için kullanılırken, ikincisi genotipik incelemede kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı.

3.4.1. Kültür Ortamında *H. pylori* İzolasyonu

Fenotipik inceleme için ayırdığımız biyopsi örnekleri steril cam baget yardımı ile mekanik olarak parçalandıktan sonra *H. pylori* izolasyonu için, % 7 at kanı, Helicobacter pylori selective supplement “Dent” (Oxoid, Hampshire, England) içeren modifiye Columbia Agar (HIMEDIA, India) besiyerlerine ekildi. Besiyerleri mikroaerofilik atmosfer sağlayan (% 6-16 O₂ ve % 2-10 CO₂) GasPak Campy container system (Becton Dickinson and Company, USA) 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.



Şekil 4. *H.pylori*'nin besiyerinde yapmış olduğu koloniler

3.4.2. Antibiyotik Duyarlılık Tespiti

Kültürde izole edilen *H. pylori* suşlarına bir antibiyotik duyarlılık testi olan E-test yapıldı. E-test, üzerine konduğu agara içerdiği antibiyotik konsantrasyonunun hızlı, düzenli ve stabil olarak difüze olmasını sağlayan bir striptir. Striplerin üzerinde

antibiyotik konsantrasyonunu gösteren bir çizelge bulunur. İnkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonunun, E-test stripini kestiği noktada çizelge üzerinde yazan konsantrasyon değeri, MİK değerini gösterir.

Çalışmamızda klaritromisin ve levofloksasin E-test stripleri (Biotests, Ankara, Türkiye ve Liofilchem, Italy) kullanıldı. Saf olarak elde edilen *H. pylori* kültürlerinden alınan kolonilerle serum fizyolojik su içinde McFarland 3 bulanıklığına göre hazırlanan bakteri süspansiyonundan % 7 at kanlı Mueller Hinton Agar yüzeyine steril eküvyonla sürülerek ekim yapıldı. Test edilen iki antibiyotik için ayrı birer plak kullanıldı. Steril penset yardımıyla alınan E-test stripleri plaklara yerleştirildi. Bütün işlemler bakteri süspansiyonu hazırlandıktan sonra 15 dakika içinde tamamlandı. Plaklar mikroaerofilik ortamın GasPak Campy container system (Becton Dickinson and Company, USA) ile sağlandığı kavanozlara konularak 37°C’de 3-5 gün inkübe edildi. Kontaminasyon içeren plaklar çalışmadan çıkartıldı. İnkübasyon sonunda elips şeklindeki inhibisyon zonunun E-test sribi ile kesiştiği noktaya karşılık gelen antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edildi. E-test yöntemi henüz standardize edilememiştir. Bu çalışmada MİK sınır değerleri European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)’in 2016 yılında belirlediği şekilde kabul edildi (Tablo 7).

Tablo 7. Kullanılan antibiyotikler ile ilgili referans alınan MIC değerleri (EUCAST(European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) 2016)

Antimicrobial	MIC breakpoint (mg/L)	
	S ≤	R >
Clarithromycin	0.25	0.5
Levofloxacin	1	1

3.4.3. Genotipik İncelemeler

Mide biyopsi örneklerinden DNA ekstraksiyonu yapıldı ve bu ekstraktlar önce *glmM* gen dizisinin tespiti yönünden spesifik primerler yardımı ile PCR yöntemi ile incelendi. *glmM* geni pozitif bulunan örnekler *H. pylori* pozitif kabul edilerek, onların DNA ekstraktları genotip tayini yönünden *vacA*, *cagA* ve *cagE* genlerinin tespiti için

PCR, klaritromisin direncinin tespiti için PCR-RFLP, levofloksasin direncinin tespiti için de DNA Dizi Analizi yöntemleri ile değerlendirildi.

3.4.3.1. Biyopsi örneklerinden DNA ekstraksiyonu

Bu çalışmada biyopsi örneklerinden *H. pylori* DNA'sının ekstraksiyonu için QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) doku ekstraksiyon kiti üretici firmanın talimatları doğrultusunda kullanıldı.

3.4.3.1.1. Uygulama

1. Yaklaşık 25 mg doku örnekleri 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine alındı. Bunların üzerlerine 180 µl ATL buffer (doku lizis tamponu) ve 20 µl pK (proteinaz K) eklenip vortekslendi ve 56 °C'de bir gece bekletilerek tam olarak erimesi sağlandı.

2. İnkübasyondan sonra kısaca santrifüj (short spin) edildi (kapakta sıvı kalmaması için). Üzerine 200 µl AL buffer (guanidine hydrochloride + guanidine tuzları) eklenip 15 sn pulse vorteks yapıldı ve 70 °C'de 10 dk bekletildi. Kısaca santrifüj (short spin) edildi.

3. Üzerine 200 µl etanol (% 96-100) eklenip 15 sn pulse vorteks yapıldı. Kısaca santrifüj (short spin) edildi.

4. Karışım 2 ml'lik toplama tüpü içindeki QIAamp spin kolonlara kenarlarını ıslatmadan boşaltıldı ve 6000 x G'de 1 dk santrifüj edildi (HERAEUS Biofuge Primo R). Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, içi sıvı dolu olan tüp atıldı.

5. Filtrenin üzerine kenarlarını ıslatmadan 500 µl AW1 buffer (yıkama solusyonu: guanidium isothiocyanate + ethanol) eklenip 6000 x G'de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, içi sıvı dolu olan tüp atıldı.

6. Filtrenin üzerine kenarlarını ıslatmadan 500 µl AW2 buffer (yıkama solusyonu: yüksek konsantrasyonda tuz + ethanol + sodium azide) eklenip 20000 x G'de 3 dk santrifüj edildi (Eğer istenirse, spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarılır, içi sıvı dolu olan tüp atılır ve bu aşama tekrar edilir).

7. Spin kolon yeni temiz bir 1.5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarıldı. Üzerine 200 µl AE buffer veya distile su eklendi ve oda ısısında 1 dk bekletilip, 6000 x G'de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon atıldı ve tüpteki sıvıda DNA kaldı (İstenirse, bu aşama da tekrarlanabilir).

8. Ekstrakte edilmiş DNA içeren tüpler, Optimum-One UV-VIS spektrofotometre (Chebios, Rome, Italy) ile 260 nm dalga boyunda DNA yoğunluğu yönünden incelendi ve yoğunluklarının amplifikasyonlar için yeterli olduğu ($>3 \mu\text{g/ml}$) tespit edildi (Şekil 5). Daha sonra bu tüpler araştırılacak olan gen bölgelerinin amplifikasyonları tamamlanıncaya kadar -20°C 'de saklandı.



Şekil 5. Optimum-One UV-VIS spektrofotometre (Chebios, Rome, Italy) cihazı

3.4.3.2. PCR Yöntemi ile *H. pylori* ve Genotip Tespiti

PCR yöntemi ile önce *glmM* geni tespiti ile *H. pylori* pozitifliği araştırıldı, pozitif bulunan örneklerin DNA ekstraktlarında genotip tayini için yine PCR yöntemi ile *vacA*, *cagA* ve *cagE* genlerinin varlığı incelendi.

3.4.3.2.1. Amplifikasyon

Amplifikasyon aşamalarının gerçekleştirilmesi için Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems, CA, USA 2720 Thermal Cycler) kullanıldı (Şekil 6).



Şekil 6. Thermal Cycler (Applied Biosystems, CA, USA 2720 Thermal Cycler) cihazı

3.4.3.2.1.1. *H. pylori* *GlmM* Geninin amplifikasyonu

GlmM geninin varlığını PCR ile göstermek için bu gene ait 294 bp uzunluğundaki 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 (Tablo 8). 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* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon aşamaları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

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

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi ve *glmM* geni pozitif bulunan örnekler *H. pylori* pozitif kabul edilerek genotipik incelemelerde kullanıldı.

3.4.3.2.1.2. *VacA* Geninin Amplifikasyonu

VacA varlığını PCR ile göstermek amacı ile bu gene ait 259 bp veya 286 bp uzunluğundaki gen bölgesini hedef alan ve bu gen için son derece spesifik olan *VacAva1-F* (5'-ATG GAA ATA CAA CAA ACA CAC-3') ve *VacAva1-R* (5'-CTG CTT GAA TGC GCC AAA C-3') primerleri kullanıldı (Tablo 8). 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* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon aşamaları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

95 °C'de 4 dak. - ilk denaturasyon	
94 °C'de 1 dak. - denaturasyon	
60 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing)	} 35 döngü
72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)	
72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)	

3.4.3.2.1.3. *CagA* Geninin Amplifikasyonu

CagA varlığını PCR ile göstermek için bu gene ait 349 bp uzunluğundaki gen bölgesini hedef alan *cagA-F1* (5'-GAT AAC AGG CAA GCT TTT GAG G-3') ve *cagA-B1* (5'-CTG CAA AAG ATT GTT TGG CAG A-3') primerleri kullanıldı (Tablo 8). 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* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon aşamaları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

95 °C'de 4 dak. - ilk denaturasyon	
94 °C'de 1 dak. - denaturasyon	
55 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing)	} 35 döngü
72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)	
72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)	

3.4.3.2.1.4. *CagE* Geninin Amplifikasyonu

CagE varlığını PCR ile göstermek için bu gene ait 509 bp uzunluğundaki gen bölgesini hedef alan *cagE*-F (5'- TTG AAA ACT TCA AGG ATA GGA TAG AGC -3') ve *cagE*-R (5'- GCC TAG CGT AAT ATC ACC ATT ACC C -3') primerleri kullanıldı (Tablo 8). 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* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon aşamaları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

95 °C'de 4 dak. - ilk denaturasyon	
94 °C'de 1 dak. - denaturasyon	
57 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing)	} 35 döngü
72 °C'de 1 dak. sn. - uzama (extension)	
72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)	

Tablo 8. Çalışmamızda kullanılan primerler

Gen	Primer	Primer Dizisi (5' – 3' yönünde) ^a	PCR Ürününün Boyutu (Konum)	Kaynaklar
<i>glmM</i>	glmM1-F glmM2-R	AAG CTT TTA GGG GTG TTA GGG GTT T AAG CTT ACT TTC TAA CAC TAA CGC	294 bp (784-1077) ^b	211,229,230
<i>cagA</i>	CagA-F1 CagA-B1	GAT AAC AGG CAA GCT TTT GAG G CTG CAA AAG ATT GTT TGG CAG A	349 bp (1228-1576) ^c	59,231, 232
<i>Cag E</i>	<i>cagE</i> -F <i>cagE</i> -R	TTG AAA ACT TCA AGG ATA GGA TAG AGC GCC TAG CGT AAT ATC ACC ATT ACC C	509 bp (914-1422) ^d	230,233
<i>vacA</i>	VA1-F VA1-R	ATG GAA ATA CAA CAA ACA CAC CTG CTT GAA TGC GCC AAA C	259 bp (797-1055) ^e 286 bp (284-569) ^f	59,101, 234
<i>23S rRNA</i>	CRF-4 F CRR-1 R	AGTGGAGGTGAAAATTCC TAAGAGCCAAAGCCCTTAC	135 bp (2108-2242) ^g	302
<i>gyrA</i>	gyrA-F gyrA-R	TTTRGCTTATTCMATGAGCGT GCAGACGGCTTGGTARAATA	428 bp (75-502) ^h	302
<i>vacA</i>	vacA-F6 vacA-R20	GCT TCT CTT ACC ACC AAT GC TGT CAG GGT TGT TCA CCA TG	1162 bp (1657-2818) ⁱ	235

^a R = A veya G.

^b *H. pylori* 26695 suşunun *glmM* genindeki nükleotid pozisyonları.

^c *H. pylori* ATCC 53726 suşunun *cagA* genindeki nükleotid pozisyonları (GenBank ulaşım numarası: L117714).

^e *H. pylori* 60190 suşunun *vacA* genindeki nükleotid pozisyonları (GenBank ulaşım numarası: U05676).

^f *H. pylori* Tx30a suşunun *vacA* genindeki nükleotid pozisyonları (GenBank ulaşım numarası: U29401).

^g *H. pylori* 26695 suşunun *23SrRNA* genindeki nükleotid pozisyonlarına uygun.

^h *H. pylori* 26695 suşunun *gyrA* genindeki nükleotid pozisyonlarına uygun

ⁱ *H. pylori* CCUG 17874 suşunun *vacA* genindeki nükleotid pozisyonlarına uygun.

3.4.3.2.2. Agaroz Jel Elektroforezi

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile araştırıldı. Hem tank tamponu olarak, hem de agaroz jelinin hazırlanmasında TBE tamponu kullanıldı. TBE (Tris, Borik asit, EDTA) konsantre şeklinde (10xTBE) stok solusyon olarak hazırlandı ve gerektiğinde, 1xTBE olacak şekilde sulandırıldı.

3.4.3.2.2.1. 10xTBE Tamponunun Hazırlanması

108 gr	Tris-Base
55 gr	Borik asit
8.3 gr	EDTA

eritilip distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı (pH: 8.8).

3.4.3.2.2.2. Uygulama

1. 10xTBE 1xTBE şeklinde sulandırıldı.
2. Eridiğinde % 2'lik jel oluşturacak şekilde agaroz tartılıp bir balon içerisine konuldu.
3. Üzerine 1xTBE tamponu (% 2'lik jel oluşturacak hacimde) ilave edilerek mikrodalga fırında eritildi.
4. Bir süre bekleterek (60 °C'nin altına düşmeyecek şekilde) soğutuldu.
5. İçerisine etidyum bromid (30 ml'lik jel için 3-4 µl (10 mg/ml'lik stok) yeterlidir) eklenerek karıştırıldı.
6. Önceden hazırlanmış ve tarakları uygun olarak yerleştirilmiş jel kalıp tepsisinin üzerine yavaşça döküldü.
7. Oda sıcaklığında 20-30 dk bekletilerek katılaşması sağlandı.
8. Jel kalıbı tanka (OWL Separation Systems Model B2 Mini Gel Electrophoresis System) yerleştirilerek taraklar yavaşça çıkarıldı.
9. Örneklerden 5'er µl alınarak parafilm üzerinde 2 µl yükleme tamponu (% 20 sükröz, % 0.25 brom fenol mavisi (1xTBE ile hazırlanmış)) ile karıştırılarak, açılan her kuyuya bir örnek olacak şekilde konuldu (İlk kuyuya DNA markeri yüklenir).
10. Tankın güç kaynağı (LABNET International Power Station 300) çalıştırılarak 80 mA – 120 V akım verildi.

11. Brom fenol mavisinin migrasyonu takip edilerek jelin 2/3'lik kısmına ulaşıldığında elektroforez durduruldu.

12. Jel tanktan çıkarıldı ve Jel Logic 1500 Imaging System (Kodak, New) jel görüntüleme sistemi ile görüntülenerek incelendi.

3.4.3.3. Klaritromisin Direncinin PCR-RFLP Yöntemi ile Tespiti

Klaritromisin direncinden sorumlu tutulan nokta mutasyonlarını PCR-RFLP yöntemi ile belirlemek için, *H. pylori* pozitif DNA örnekleri önce 23S *rRNA* gen bölgesine özgül oligonükleotid primerlerle amplifiye edildikten sonra *MboII* and *Eco31I* restriksiyon enzimleri ile kesildi ve bant profiline göre değerlendirildi.

3.4.3.3.1. *H. pylori* 23S *rRNA* Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

Klaritromisin direncinden sorumlu tutulan nokta mutasyonlarını PCR-RFLP yöntemi ile belirlemek için önce 23S *rRNA* gen bölgesinde 135 bp uzunluğundaki bir kısmı hedef alan CRF-4 F (5'-AGTGGAGGTGAAAATTCC-3') ve CRR-1 R (5'-TAAGAGCCAAAGCCCTTAC-3') primerleri kullanılarak daha önce tanımlandığı şekilde amplifikasyon yapıldı. Amplifikasyon 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, herbir dNTP'den 200 µM, herbir primerden 50 pmol, 2.5 U *Taq* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon aşamaları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

95 °C'de 5 dak. - ilk denaturasyon	
94 °C'de 1 dak. - denaturasyon	
53 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing)	} 40 döngü
72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)	
72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)	

3.4.3.3.2. Restriksiyon Enzimleri ile Muamele ve Görüntüleme

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendikten sonra A2142G ve A2143G nokta mutasyonlarını tespit etmek için sırasıyla *MboII* ve *Eco31I* restriksiyon enzimleri (Fermentas, USA) ile muamele edildi.

*Mbo*II enzimi A2142G mutasyonuna sahip PCR ürünlerini 51 ve 84 bp'lik, *Eco*31I ise A2143G mutasyonuna sahip PCR ürünlerini 34 ve 101 bp'lik iki parçaya kesmek amacı ile kullanıldı.

Restriksiyon ürünleri etidyum bromürlü % 3.5'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi.

3.4.3.4. Levofloksasin Direncinin DNA Dizi Analizi Yöntemi ile Tespiti

Fenotipik olarak levofloksasin direnci tespit edilen ve *glmM*-PCR ile pozitif bulunan DNA örnekleri (antrum) ile fenotipik olarak levofloksasin direnci tespit edilemeyen ve *glmM*-PCR ile pozitif bulunan DNA örnekleri (antrum) levofloksasin direncinden sorumlu tutulan nokta mutasyonlarını tespit amacı ile DNA Dizi Analizi Yöntemi ile incelendi.

3.4.3.4.1. *H. pylori* GyrA Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

H. pylori gyrA genine ait 428 bp uzunluğundaki fragmenti hedef alan *gyrA*-F (5'-TTT RGC TTA TTC MAT GAG CGT-3') ve *gyrA*-R (5'-GCA GAC GGC TTG GTA RAA TA-3') primerleri kullanıldı. 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* polymerase ve 5 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 50 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon aşamaları aşağıdaki şekilde tamamlandı:

94 °C'de 4 dak. - ilk denaturasyon	
93 °C'de 1 dak. - denaturasyon	
54 °C'de 1 dak. - bağlanma (annealing)	} 35 döngü
72 °C'de 1 dak. - uzama (extension)	
72 °C'de 7 dak. - son uzama (extension)	

3.4.3.4.2. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması

PCR ürünlerinin saflaştırılmasında, dizi analizi tepkimelerini etkileyen, ortamda kullanılmayan nükleotit ve primerlerin uzaklaştırılması amaçlanmıştır. *GyrA*-PCR ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile doğrulandıktan sonra

Zymo Research DNA clean and concentrator & DNA sequencing clean kit, Sentromer PCR saflaştırma kiti ile protokol’de önerildiği şekilde saflaştırıldı.

1. Steril 1,5 ml tüp içerisine, her 1µl PCR ürünü için 5µl DNA Binding Buffer solüsyonu eklendi ve 15 saniye vortekslendi.

2. Karışım Zymo-Spin kolonuna (Arıtma filtresi içeren ve toplama tüpünün içine yerleşen kolon) aktarıldı, MiniSpin Plus (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) cihazında 10000 g’de 30 saniye santrifüj edildi ve toplama tüpünde toplanan sıvı döküldü.

3. Zymo-Spin kolonuna 200µl DNA Wash Buffer (DNA’nın arıtılmasını sağlar, pH 7,5) eklendi, 10000 g’de 30 saniye santrifüj edildi ve toplama tüpünde toplanan sıvı döküldü. İşlem 3 defa tekrarlandı.

4. Zymo-Spin kolonu 1,5 ml’lik yeni bir tüpe yerleştirildi. Üzerine 7 µl DNA Elution Buffer eklendi ve 10000 g’ de 30 sn santrifüj edildi.

5. Yaklaşık olarak 7 µl DNA’ dan 5 µl alınarak Big Dye PCR kiti ile amplifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

6. Toplam hacmi 20 µl olan PCR ürününün üzerine 150 µl Binding Buffer eklendi. Karışım Zymo-Spin IB kolonuna aktarıldı ve 10 000 rpm’ de 30 saniye santrifüj edildi.

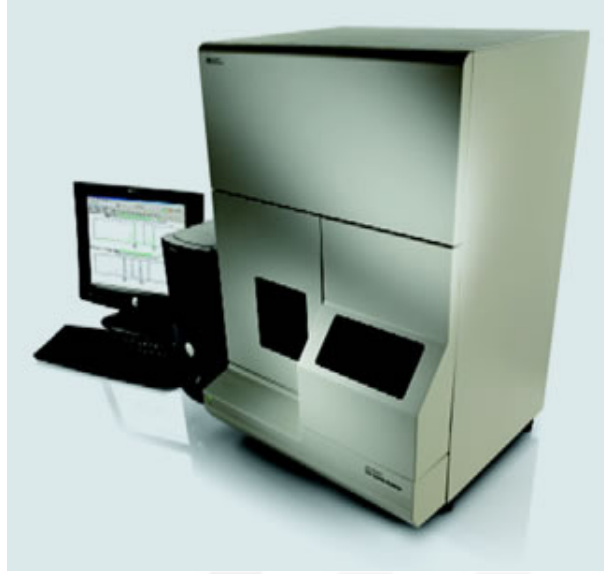
7. 150 µl Sequencing Wash Buffer eklendi. 10 000 rpm’ de 30 saniye santrifüj edildi. Yıkama işlemi 3 defa tekrarlandı.

8. Zymo-Spin kolonlar yeni 1,5’ lik ependorflara yerleştirildi. Üzerine başlangıçtaki PCR ürünü kadar (20 µl) % 19’ luk 20 µl formamid eklendi. 13 000 rpm’ de 15 saniye santrifüj edildi.

9. Ependorflar önce 95 °C’ de 5 dakika, sonra -20 °C’ de 2 dk tutuldu. Saflaştırılmış olan DNA örneklerimiz sekans tüplerine alınıp cihaza yerleştirildi.

3.4.3.4.3. Dizi Analizi Çalışmaları

Cihaza yerleştirilen saflaştırılmış DNA örnekleri “ABI Prism 310 Genetic Analyzer” (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) otomatize sistemi ile “F.Sanger’in dideoksi zincir sonlandırma yöntemi” prensiplerine göre dizi analizi yapıldı (Şekil 7).



Şekil 7. ABI Prism 310 Genetic Analyzer otomatize sistemi

3.4.3.4.2.1. F. Sanger'in Dideoksi Zincir Sonlandırma Yöntemi

Bu yöntemde dizisi belirlenecek olan DNA ipliği yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılır. DNA'nın çoğaltılmasında Taq DNA polimeraz, ters transkriptaz veya sequenaz enzimlerinden birisi kullanılabilir.

Yöntemin temeli DNA polimerazın dNTP'lerin (deoksiribonükleozit trifosfat) yanısıra deoksiribozun 3' pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP'leri de (dideoksiribonükleozit trifosfat) substrat olarak kullanabilmesine dayanır. ddNTP'ler 3' uçlarında hidroksil grubu yerine H atomu içerdiğinden DNA polimerazın aktivitesinin durmasına neden olur ve buda hibridizasyon sırasında zincir uzamasının durmasına yol açar.

Otomatize DNA dizi analizi şu aşamalardan oluşmaktadır:

1. Özgül primerin dizi analizi yapılacak hedef DNA kalıbına tutunması
2. Floresan boyalı ddNTP ve dNTP'lerin karışıma ilave edilerek DNA polimeraz aktivitesiyle yeni kalıp DNA'ya komplementer DNA zincirinin sentezi
3. Yeni sentezlenen DNA iplikçıği'nin sekans-spesifik bir ddNTP ile sonlanması
4. Oluşan ürünlerin kapiller elektroforezde yürütülmesi

Zincir sonlandırma yöntemine dayanan otomatize DNA dizi analizinde PCR ile çoğaltılan saf haldeki hedef DNA ve bu DNA kalıbına tutunacak bir primer (5 pmol/µl

olacak şekilde sulandırılmış olan forward kullanılmaktadır. DNA polimeraz enzimi bu karışıma eklendiğinde primerin tutunduğu kalıp deoksinükleotid trifosfat (dNTP) varlığında sentez reaksiyonunu başlatır. Reaksiyon tüpünde ayrıca herbiri farklı floresan boylarla işaretlenmiş ddNTP'ler bulunmaktadır. Hibridizasyon sırasında ddNTP'ler yeni sentezlenen iplikçiğe eklendiğinde sentez duracağından DNA zincirinin daha fazla uzaması engellenir. Sekans spesifik olarak sonlandırılan DNA dizileri kapiller elektroforez ile yürütülür. Bu işlem sırasında sonlanan her bir dizide bulunan ddNTP'lerin yaydığı farklı dalga boyundaki floresanslar sistemde bulunan dedektör tarafından kaydedilerek bilgisayar ortamında DNA dizilerine çevrilir.

3.4.3.4.2.2. Dizi Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Dizi analizi ile elde edilen veriler, GenBank erişim numarası AE000511.1 olan *H. pylori* 26695 suşunun ilgili bölgesi ile karşılaştırıldı.

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/6626253?from=752512&to=754995&sat=4&sat_key=72127904&report=gbwithparts).

3.4.3.4.3. Klonal İlişkinin PCR–RFLP Tekniği ile Tespiti

H. pylori izolatları arasındaki klonal ilişkinin PCR–RFLP yöntemi ile tespit edilebilmesi için 1162bp uzunluğundaki vacA-F6 (5'-GCT TCT CTT ACC ACC AAT GC-3') ve vacA-R20 (5'-TGT CAG GGT TGT TCA CCA TG-3') primerleri kullanılarak amplifikasyon işlemi yapıldı. Amplifikasyon 12.5µl Master mix (Thermo Scientific Phire Green Hot Start II PCR Master Mix, USA), her bir primerden 0.12 µl, 10.26 µl su (Thermo Scientific Water, Nuklease Free) ve 2 mikrolitre kalıp DNA içeren toplam 25 mikrolitre PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon aşamaları aşağıdaki şekilde yapıldı:

98 °C'de 1 dak. - ilk denaturasyon	
98 °C'de 10 sn. - denaturasyon	
65 °C'de 10 sn. - bağlanma (annealing)	} 30 döngü
72 °C'de 15 sn. - uzama (extension)	
72 °C'de 1 dak. - son uzama (extension)	

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 1.5'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendikten sonra klonal ilişkinin belirlenmesi için HhaI enzimi ile muamele edildi. Restriksiyon ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi. Bant profillerine göre RFLP tipleri değerlendirildi.

3.5. İstatistiksel Analizler

İstatistiki değerlendirmeler, SPSS 21.0 paket programı ile yapılmıştır, p değeri, 0.05'in altındaki değerler anlamlı kabul edilmiştir. Tanımlayıcı veriler yüzde dağılımları ile sunulmuştur. Cinsiyet, endoskopik ve genotipik bulguların dağılımının karşılaştırılmasında ki-kare testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

Ortalama yaşları $12,2 \pm 4,39$ (3-18 yaş) olan 38'i erkek (% 34,5), 72'si kız (% 65,5) toplam 110 olgu çalışmaya alınmıştır. PCR yöntemi ile 17 kız (% 23,6) ,13 erkek (% 34,2), toplam 30 olguda (% 27,3) *H. pylori* pozitif saptanmıştır. *H. pylori* pozitif ve *H. pylori* negatif gruplar arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,235$) (Tablo 9).

H. pylori pozitif hastaların % 18,8'i 3-6 yaş aralığında, % 33,3'ü 7-12 yaş aralığında, % 25,9'u 13-18 yaş aralığında saptanmıştır. Yaş gruplarına göre *H. pylori* pozitif ve *H. pylori* negatif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,519$) (Tablo 9).

Tablo 9. Cinsiyet yaş gruplarına göre *H. pylori* pozitif ve negatif hastaların dağılımı

		PCR (+) n (%)	PCR(-) n (%)	P
Cinsiyet	Kız	17 (% 23,6)	55 (% 76,4)	0,235
	Erkek	13 (% 34,2)	25 (% 65,8)	
Yaş grupları	3-6 yaş	3 (% 18,8)	13 (% 81,2)	0,519
	7-12 yaş	12 (% 33,3)	24 (% 66,7)	
	13-18 yaş	15 (% 25,9)	43 (% 74,1)	

4.1. Hastaların Başvuru Yakınmalarına Göre Değerlendirilmesi

Olguların en sık başvuru yakınması karın ağrısı % 77,3 idi. Bunu sırayla bulantı % 49,1, ağza acı su gelmesi % 36,4, kusma % 30 ve hazımsızlık % 21,8 izlemiştir. Hastaların başvuru yakınmaları açısından *H. pylori* pozitif ve negatif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 10).

Tablo 10. Başvuru yakınmalarına göre *H. pylori* pozitif ve negatif hastaların dağılımı

Başvuru Yakınmaları	PCR(+) n=30 (%)	PCR(-) n=80 (%)	Toplam n=110 (%)	P
Karın Ağrısı	23 (% 76,7)	62 (% 77,5)	85 (% 77,3)	0,926
Bulantı	12 (% 40)	42 (% 52,5)	54 (% 49,1)	0,243
Kusma	6 (% 20)	27 (% 33,8)	33 (% 30)	0,161
İştahsızlık	4 (% 13,3)	15 (% 18,8)	19 (%17,3)	0,503
Hazımsızlık	6 (% 20)	18 (% 22,5)	24 (%21,8)	0,777
Şişkinlik	2 (% 6,7)	17 (% 21,2)	19 (%17,3)	0,072
Ağza acı su gelme	11 (% 36,7)	29 (% 36,2)	40 (% 36,4)	0,968
Pirozis	3 (% 10)	9 (% 11,2)	12 (% 10,9)	1,000*
Kabızlık	6 (% 20)	13 (% 16,2)	19 (% 17,3)	0,643
İshal	5 (% 16,7)	7 (% 8,8)	12 (% 10,9)	0,303*
Gece uyandıran ağrı	2 (% 6,7)	7 (% 8,8)	9 (% 8,2)	1,000*

*Fisher's Exact testi kullanılmıştır.

Kızların % 84,7'si, erkeklerin % 63,2'si karın ağrısı yakınmasıyla başvurmuş olup, karın ağrısı yakınması ile başvuru kızlarda erkeklere göre anlamlı olarak daha fazla saptanmıştır (p=0,010). Yaş gruplarına göre bakıldığında 3-6 yaş aralığındaki çocukların % 37,5'i, 7-12 yaş aralığındaki çocukların % 80,6'sı, 13-18 yaş aralığındaki çocukların % 86,2'si karın ağrısı yakınmasıyla başvurmuş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,001) (Tablo 11).

Tablo 11. Cinsiyete ve yaş gruplarına göre karın ağrısı sıklığının dağılımı

		Karın ağrısı(+) n (%)	Karın ağrısı(-) n (%)	P
Cinsiyet	Kız	61 (% 84,7)	11 (% 15,3)	0,010
	Erkek	24 (% 63,2)	14 (% 36,8)	
Yaş grupları	3-6 yaş	6 (% 37,5)	10 (% 62,5)	0,001
	7-12 yaş	29 (% 80,6)	7 (% 19,4)	
	13-18 yaş	50 (% 86,2)	8 (% 13,8)	

Kızların % 57,7'si, erkeklerin % 34,2'si bulantı yakınmasıyla başvurmuş olup, bulantı yakınması ile başvuru kızlarda erkeklere göre anlamlı olarak daha fazla saptanmıştır (p=0,019). Yaş gruplarına göre bakıldığında 3-6 yaş aralığındaki çocukların % 56,2'si, 7-12 yaş aralığındaki çocukların % 44,4'ü, 13-18 yaş aralığındaki çocukların % 50'si bulantı yakınması ile başvurmuş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,720) (Tablo 12).

Tablo 12. Cinsiyete ve yaş gruplarına göre bulantı sıklığının dağılımı

		Bulantı(+) n (%)	Bulantı(-) n (%)	P
Cinsiyet	Kız	41 (% 57,7)	30 (% 42,3)	0,019
	Erkek	13 (% 34,2)	25 (% 65,8)	
Yaş grupları	3-6 yaş	9 (% 56,2)	7 (% 43,8)	0,720
	7-12 yaş	16 (% 44,4)	20 (% 55,6)	
	13-18 yaş	29 (% 50)	29 (% 50)	

Kızların % 36,8'i, erkeklerin %36,1'i ağza acı su gelmesi yakınması ile başvurmuş olup, ağza acı su gelmesi yakınmasının cinsiyete göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,940). Yaş gruplarına göre bakıldığında 3-6 yaş aralığındaki çocukların % 25'i, 7-12 yaş aralığındaki çocukların % 33,3'ü, 13-18 yaş aralığındaki çocukların % 41,4'ü ağza acı su gelmesi yakınması ile başvurmuş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,435) (Tablo 13).

Tablo 13. Cinsiyete ve yaş gruplarına göre ağza acı su gelmesi sıklığının dağılımı

		Ağza acı su gelmesi (+) n (%)	Ağza acı su gelmesi (-) n (%)	P
Cinsiyet	Kız	14 (% 36,8)	24 (% 63,2)	0,940
	Erkek	26 (% 36,1)	46 (% 63,9)	
Yaş grupları	3-6 yaş	4 (% 25)	12 (% 75)	0,435
	7-12 yaş	12 (% 33,3)	24 (% 66,7)	
	13-18 yaş	24 (% 41,4)	34 (% 58,6)	

Kızların % 31,9'u, erkeklerin % 26,3'ü kusma yakınması ile başvurmuş olup, kusma yakınmasının cinsiyete göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,540). Yaş gruplarına göre bakıldığında 3-6 yaş aralığındaki çocukların % 37,5'i, 7-12 yaş aralığındaki çocukların % 30,6'sı, 13-18 yaş aralığındaki çocukların % 27,6'sı kusma yakınması ile başvurmuş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,743) (Tablo 14).

Tablo 14. Cinsiyete ve yaş gruplarına göre kusma sıklığının dağılımı

		Kusma(+) n (%)	Kusma(-) n (%)	P
Cinsiyet	Kız	23 (% 31,9)	49 (% 68,1)	0.540
	Erkek	10 (% 26,3)	28 (% 73,7)	
Yaş grupları	3-6 yaş	6 (% 37,5)	10 (% 62,5)	0,743
	7-12 yaş	11 (% 30,6)	25 (% 69,4)	
	13-18 yaş	16 (% 27,6)	42 (% 72,4)	

Diğer başvuru yakınmalarından pirozis, ishal, gece uykudan uyandıran ağrı ile cinsiyet ve yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p>0,05).

Bir çocuk hastada kültürde saf koloni elde edilemediğinden kültür negatif olarak kabul edilmiştir. Çalışmamızda kültürde *H. pylori* saptanan olguların hepsinde *H. pylori* PCR pozitif saptanmıştır (Tablo 15).

Tablo 15. PCR yöntemine göre kültürün tanıdaki önemi

	PCR(+) n (%)	PCR(-) n (%)	Toplam
Kültür pozitif(+)	23 (% 100)	0 (% 0)	23
Kültür negatif (-)	7 (% 8,04)	80 (% 91,5)	87
Toplam	30 (%27,2)	80 (% 72,8)	110

Kültürün *H. pylori* saptamadaki duyarlılığı % 76,6, seçiciliği % 100'dür. Yani kültür ile *H. pylori* pozitifliği kesin tanı yöntemi olan PCR'a göre % 76,6 oranında doğru tanınmış, *H. pylori* negatif kişiler de yine PCR gibi % 100 oranında doğru olarak ayrılabilmiştir. Kültürün pozitif prediktif değeri % 100, negatif prediktif değeri % 91 olarak bulunmuştur. Yani kültür ile *H. pylori* pozitifliği saptama % 100 oranında PCR ile de doğrulanmıştır. Kültür ile *H. pylori* negatif denen kişiler % 91 oranında PCR ile de doğrulanmıştır (Tablo 17).

Bir çocuk hastada histopatoloji örneği yetersiz gelmiştir, bu yüzden veriler 109 kişi üzerinden değerlendirilmiştir. Patolojik değerlendirmede *H. pylori* saptanan olguların % 69,6'sında *H. pylori* PCR pozitif saptanmıştır (Tablo 16).

Tablo 16. PCR yöntemine göre patolojinin tanındaki önemi

	PCR(+) n (%)	PCR(-) n (%)	Toplam
Patoloji pozitif(+)	23 (% 69,6)	10 (% 30,4)	33
Patoloji negatif (-)	7 (% 9,2)	69(% 90,8)	76
Toplam	30 (% 27,5)	79 (% 72,5)	109

Histopatolojinin *H. pylori* saptamadaki duyarlılığı % 76,6, seçiciliği % 87,3'dür. Yani histopatoloji ile *H. pylori* pozitifliği kesin tanı yöntemi olan PCR'a göre % 76,6 oranında doğru tanınmış, *H. pylori* negatif kişiler de PCR'a göre % 87,3 oranında doğru olarak ayrılabilmiştir. Histopatolojinin pozitif prediktif değeri % 69,7, negatif prediktif değeri % 90,8 olarak bulunmuştur. Yani histopatoloji ile *H. pylori* pozitifliği saptama % 69,7 oranında PCR ile de doğrulanmıştır. Histopatoloji ile *H. pylori* negatif denen kişiler % 90,8 oranında PCR ile de doğrulanmıştır (Tablo 17).

Tablo 17. PCR yöntemine göre kültür ve histopatolojinin *H. pylori*'yi saptamada duyarlılık, seçicilik, pozitif ve negatif prediktif değerleri

	Duyarlılık	Seçicilik	Pozitif Prediktif Değer	Negatif Prediktif Değer
Kültür	% 76,6	% 100	% 100	% 91
Histopatoloji	% 76,6	% 87,3	% 69,7	% 90,8

4.2. Hastaların Virulans Genlerinin Değerlendirilmesi

PCR pozitif olan 30 hastanın % 96,6'sında *vacA* pozitif saptanmıştır. PCR pozitif olguların % 40'ında *vacAs1*, % 56,6'sında *vacAs2* pozitif saptanmıştır. Bununla birlikte olguların % 36,7'sinde *cagA*, % 23,3'ünde ise *cagE* pozitif olarak saptanmıştır. Virulans genlerinin birbirleri ile birlikteliğine bakıldığında, % 3,3'ünde *vacAs1+cagA* birlikteliği, % 6,6'sında *vacAs1+cagE* birlikteliği, % 16,6'sında *vacAs1+cagA+cagE* birlikteliği ve yine % 16,6'sında *vacAs2+cagA* birlikteliği saptanmıştır (Tablo 18).

Tablo 18. PCR ile *H. pylori* saptanan 30 hastada virulans genlerinin dağılımı

Virulans genleri	n=30 (%)
<i>vacA</i>	29 (% 96,6)
<i>vacAs1</i>	12 (% 40)
<i>vacAs2</i>	17 (% 56,6)
<i>cagA</i>	11 (% 36,7)
<i>cagE</i>	7 (% 23,3)
<i>vacAs1+cagA</i>	1 (% 3,3)
<i>vacAs1+cagE</i>	2 (% 6,6)
<i>vacAs1+cagA+cagE</i>	5 (% 16,6)
<i>vacAs2+cagA</i>	5 (% 16,6)

Virulans faktörlerinden *vacAs1* pozitif hastaların % 50'sinde, *vacAs2* pozitif olan hastaların % 29,4'ünde *cagA* pozitif saptanmıştır. *VacA* subtiplerinin *cagA* ile birlikteliğine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,390) (Tablo 19).

Tablo 19. *vacA* subtipleri ile *cagA* birlikteliğinin dağılımı

<i>vacA</i> subtipleri	<i>cagA</i> (-) n (%)	<i>cagA</i> (+) n (%)
<i>vacA</i> (-)	1 (% 100)	0 (% 0)
<i>vacAs1</i>	6 (% 50)	6 (% 50)
<i>vacAs2</i>	12 (%70,6)	5 (% 29,4)

VacAs1 pozitif olan hastalardan % 58,3'ünde *cagE* pozitif saptanmıştır. Hastaların hiçbirisinde *vacAs2* ile *cagE* birlikteliği gözlenmemiştir (Tablo 20).

Tablo 20. *vacA* subtipleri ile *cagE* birlikteliğinin dağılımı

<i>vacA</i> subtipleri	<i>cagE</i> (-) n (%)	<i>cagE</i> (+) n (%)
<i>vacA</i> (-)	1 (% 100)	0 (% 0)
<i>vacAs1</i>	5 (% 41,7)	7 (% 58,3)
<i>vacAs2</i>	17 (% 100)	0 (% 0)

CagA pozitif olan hastaların % 45,5'inde *cagE* pozitif saptanmıştır. *CagA* ve *cagE* birlikteliğine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,068) (Tablo 21).

Tablo 21. *cagA* ile *cagE* birlikteliğinin dağılımı

<i>cagA</i>	<i>cagE</i> (-) n (%)	<i>cagE</i> (+) n (%)	p
<i>cagA</i> (-)	17 (% 89,5)	2 (% 10,5)	0,068*
<i>cagA</i> (+)	6 (% 54,5)	5 (% 45,5)	

* Fisher's Exact Test kullanılmıştır.

H. pylori PCR pozitif olgularda virulans genlerinin başvuru yakınmaları ile dağılımı incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p >0,05). En sık başvuru yakınması olan karın ağrılı 23 hastanın % 56,5'inde *vacAs2*, % 43,5'inde *vacAs1*, % 45,5'inde *cagA*, % 26'sında *cagE* pozitif saptanmıştır. Bulantıyla başvuran 13 hastada ise *vacAs1*, *vacAs2*, *cagA* ve *cagE* pozitifliği sırayla % 50, % 50, % 41,6, % 25 oranlarında saptanmıştır (Tablo 22).

Çalışmamızda virulans genlerinden *vacAs1*, *vacAs2*, *cagA*, ve *cagE*'nin başvuru yakınmaları ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır (p>0,05).

Tablo 22. *H. pylori* PCR pozitif hastalarda virulans genlerinin dağılımı

Başvuru yakınmaları	<i>vacAs1</i> pozitif n (%)	<i>vacAs2</i> pozitif n (%)	<i>cagA</i> pozitif n (%)	<i>cagE</i> pozitif n (%)	Toplam n (%)
Karın ağrısı	10 (% 43,5)	13 (% 56,5)	10 (%43,5)	6 (% 26)	23 (% 76,7)
Bulantı	6 (% 50)	6 (% 50)	5 (% 41,6)	3 (% 25)	12 (% 40)
Kusma	3 (% 50)	3 (% 50)	2 (% 33,3)	1 (% 16,7)	6 (% 20)
İştahsızlık	2 (%50)	2 (% 50)	1 (% 25)	1 (% 25)	4 (% 13,3)
Hazımsızlık	2 (% 33,3)	3 (% 50)	1 (% 16,7)	1 (% 16,7)	6 (% 20)
Şişkinlik	0 (% 0)	1 (% 50)	0 (% 0)	0 (% 0)	2 (% 6,7)
Ağza acı su gelme	3 (% 27,2)	8 (% 72,7)	3 (% 27,2)	2 (% 18,1)	11 (% 36,7)
Pirozis	1 (% 33,3)	2 (% 66,7)	1 (% 33,3)	0 (% 0)	3 (% 10)
Kabızlık	3 (% 50)	3 (% 50)	2 (% 33,3)	1 (% 16,6)	6 (% 20)
İshal	1 (% 20)	3 (% 60)	3 (% 60)	1 (% 20)	5 (% 16,7)
Gece uyandıran ağrı	1 (% 50)	1 (% 50)	0 (% 0)	0 (% 0)	2 (% 6,7)

4.3. Hastaların Endoskopik Bulgularının Değerlendirilmesi

H. pylori pozitifliği saptanan 30 hastanın 5'i duodenogastrik safra reflüsü (DGR), 20'si antral gastrit, 4'ü bulbit, 2'si kardiyo özofageal sfinkter (KÖS) yetmezliği, 8'i pangastrit tanısı almıştır. DGR tanısı alan hastaların % 16,7'sinde, antral gastrit tanısı alan hastaların % 66,7'sinde, bulbit tanısı alan hastaların % 13,4'ünde, pangastrit tanısı alan hastaların % 26,7'sinde *H. pylori* pozitif saptanmıştır. Endoskopik bulguların *H. pylori* negatif ve pozitif hastalar arasındaki dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 23).

Tablo 23. Endoskopik bulgulara göre *H. pylori* negatif ve pozitif hastaların dağılımı

Endoskopik Bulgular	PCR(+) n=30 (%)	PCR(-) n=80 (%)	P
DGR**	5 (% 16,7)	23 (% 28,8)	0,195
Antral gastrit	20 (% 66,7)	47 (% 58,8)	0,449
Bulbit	4 (% 13,4)	10 (% 12,5)	1,000*
KÖS*** yetmezliği	2 (% 6,7)	11 (% 13,7)	0,508*
Pangastrit	8 (% 26,7)	29 (% 36,2)	0,343

* Fisher's Exact Test kullanılmıştır.

** DGR: Endoskopik olarak duodenogastrik safra reflüsü tanısı almış hastalar.

*** KÖS: Kardiyo özofageal sfinkter

Endoskopik bulgulara göre *H. pylori* virulans genlerinin dağılımı incelendiğinde DGR tanısı alan 5 hastanın % 40'ında *vacAs1*, % 60'ında *vacAs2* alleli pozitif saptanmıştır. Antral gastrit tanısı alan 20 hastanın % 45'inde *vacAs1*, % 50'sinde *vacAs2*, % 30'unda *cagA*, % 25'inde *cagE* pozitif saptanmıştır. Pangastrit tanısı alan 8 hastanın % 75'inde *vacAs2* alleli ,% 25'inde *vacAs1* alleli pozitif saptanmış bu hastaların % 50'sinde *cagA* pozitif, %12,5'inde *cagE* pozitif saptanmıştır (Tablo 24).

Çalışmamızda virulans genlerinden *vacAs1*, *vacAs2*, *cagA*, ve *cagE*'nin endoskopik bulgular ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 24. Endoskopik bulgulara göre *H. pylori* virulans genlerinin dağılımları

Endoskopik Bulgular	<i>vacAs1</i> pozitif n(%)	<i>vacAs2</i> pozitif n(%)	<i>cagA</i> pozitif n(%)	<i>cagE</i> pozitif n(%)	Toplam
DGR*	2 (% 40)	3 (% 60)	0 (% 0)	0 (% 0)	5
Antral gastrit	9 (% 45)	10 (% 50)	6 (%30)	5 (% 25)	20
Bulbit	2 (% 50)	2 (% 50)	2 (% 50)	1 (% 25)	4
KÖS yetmezliği	0 (% 0)	2 (% 100)	0 (% 0)	0 (% 0)	2
Pangastrit	2 (% 25)	6 (% 75)	4 (% 50)	1 (% 12,5)	8

*DGR:Endoskopik olarak duodenogastrik safra reflüsü tanısı almış hastalar.

**KÖS:Kardiyo özofageal sfikter

4.4. Hastaların Histopatolojik Bulgularının Değerlendirilmesi

Histopatolojik incelemeye göre patolojinin tanımladığı *H. pylori* negatif ve pozitif hastaların dağılımı incelendiğinde *H. pylori* pozitif hastaların % 6'sının histopatolojisinin normal olduğu ve % 94'ünde aktif kronik gastrit bulunduğu gözlenmiştir. *H. pylori* negatif olguların ise % 59,2'sinde aktif kronik gastrit bulunduğu ve % 25'inin ise histopatolojisinin normal olduğu saptanmıştır (Tablo 25).

Tablo 25. Histopatolojik tanımlara göre *H. pylori* negatif ve pozitif hastaların dağılımı

Histopatolojik Değerlendirme*	Normal Histopatoloji n (%)	Kronik Gastrit n (%)	Aktif Kronik Gastrit n (%)	Aktif Gastrit n (%)
<i>H. pylori</i> (-) n=76	19 (% 25)	11 (% 14,5)	45 (% 59,2)	1 (%1.3)
<i>H. pylori</i> (+) n=33	2 (% 6)	0 (% 0)	31 (% 94)	0 (% 0)

*Histopatoloji tarafından mikroskopi ile tespit edilen *H. pylori* negatif ve pozitif hastalar tanımlanmıştır

H. pylori PCR pozitif olan 30 hastanın % 90'ında aktif kronik gastrit tespit edilmiş ve % 14,3'ünün ise histopatolojik değerlendirilmesi normal olarak saptanmıştır (Tablo 26).

Tablo 26. Histopatolojik tanılarda *H. pylori* PCR pozitif ve *H. pylori* PCR negatif hastaların dağılımı

<i>H. pylori</i>	Normal Histopatoloji n= (%)	Kronik Gastrit n (%)	Aktif Kronik Gastrit n (%)	Aktif Gastrit n (%)
PCR Pozitif n=30	3 (% 14,3)	0 (% 0)	27 (% 90)	0 (% 0)

Histopatolojik bulgularda *H. pylori* virulans genlerinin dağılımına bakıldığında histopatolojisi normal olan olguların hepsinde daha az virulan olduğu bilinen *vacA* allellerinden *vacAs2*'nin bulunduğu, bu olguların % 66,6'sında *cagA* pozitif saptandığı ve bu olgularda *vacAs1* ve *cagE*'nin bulunmadığı gözlenmiştir. Aktif kronik gastrit bulunan olgularda ise *vacAs1*, *vacAs2*, *cagA* ve *cagE* virulans genleri sırayla %44,4, % 51,8, % 33,3, % 25,9 oranlarında pozitif olduğu saptanmıştır (Tablo 27).

Tablo 27. Histopatolojik bulgulara göre *H. pylori* virulans genlerinin dağılımları

Histopatolojik Bulgular	<i>vacAs1</i> pozitif n(%)	<i>vacAs2</i> pozitif n(%)	<i>cagA</i> pozitif n(%)	<i>cagE</i> pozitif n(%)	Toplam
Normal	0 (% 0)	3 (% 100)	2 (% 66,6)	0 (% 0)	3
Aktif kronik gastrit	12 (% 44,4)	14 (% 51,8)	9 (% 33,3)	7 (% 25,9)	27

4.5. Hastaların Antibiyotik Duyarlılığının ve A2142G ve A2143G Genetik Mutasyonlarının Değerlendirilmesi

Çalışmamızda antibiyogram kültür pozitif olan 23 (% 20,9) hastada yapılmıştır. Hastaların 8'inde (% 34,7) klaritromisin direnci saptanmıştır. Erkek hastaların % 42'sinde, kızların ise % 30'unda klaritromisin direnci mevcuttur. Klaritromisin direnci açısından cinsiyetler arasında anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,342) (Tablo 28).

Tablo 28. Cinsiyete göre klaritromisin duyarlı ve dirençli hastaların dağılımı

Cinsiyet	Klaritromisin Duyarlı n (%)	Klaritromisin Dirençli n (%)	p
Erkek	7 (% 58)	5 (% 42)	0,342
Kız	7 (% 70)	3 (% 30)	

Çalışmamızda klaritromisin dirençli vakaların % 50'sinde *vacAs1*, % 36,4'ünde *vacAs2*, % 40'ında *cagA*, % 66,7'sinde ise *cagE* genleri pozitif olarak saptanmıştır. Ancak virulans genlerinin klaritromisin direnci ile ilişkisi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 29).

Tablo 29. *H. pylori* virulans genlerinin klaritromisin direnci ile ilişkisi

Virulans Genleri	Klaritromisin Duyarlı n (%)	Klaritromisin Dirençli n (%)	p
<i>vacA</i> (-)	0 (% 0)	1 (% 100)	0,446
<i>vacAs1</i> (+)	3 (% 50)	3 (% 50)	
<i>vacAs2</i> (+)	7 (% 63,6)	4 (% 36,4)	
<i>cagA</i> (-)	7 (% 53,8)	6 (% 46,2)	1,000*
<i>cagA</i> (+)	3 (% 60)	2 (% 40)	
<i>cagE</i> (-)	9 (% 60)	6 (% 40)	0,559*
<i>cagE</i> (+)	1 (% 33,3)	2 (% 66,7)	

* Fisher's Exact Test kullanılmıştır.

Levofloksasin direnci bir olguda (% 4,3) gözlenmiştir. Bu olguda *vacAs1* pozitif, *vacAs2*, *cagA* ve *cagE* negatif saptanmıştır.

Bu çalışmada hastalarda *H. pylori* A2142G ve A2143G genetik mutasyonlarının varlığı araştırılmıştır. Hastaların yaş gruplarına göre A2142G gen mutasyonu dağılımı incelendiğinde 3-6 yaş arasında genetik mutasyonun olmadığı, 7-12 yaş aralığında % 16,7, 13-18 yaş aralığında ise % 20 oranında genetik mutasyon varlığı saptanmıştır. Yaş gruplarına göre A2142G gen mutasyonu pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,698) (Tablo 30).

Tablo 30. Yaş gruplarına göre A2142G negatif ve A2142G pozitif hastaların dağılımı

Yaş	A2142G (-) n (%)	A2142G (+) n (%)	p
3-6	3 (% 100,0)	0 (% 0)	0,698
7-12	10 (% 83,3)	2 (% 16,7)	
13-18	12 (% 80)	3 (% 20)	

Yaş gruplarına göre A2143G gen mutasyonu dağılımı incelendiğinde 3-6 yaş arasında % 33,3, 7-12 yaş aralığında % 25, 13-18 yaş aralığında ise % 53,3 oranında saptanmıştır. Yaş gruplarına göre A2143G gen mutasyonu pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,318$) (Tablo 31).

Tablo 31. Yaş gruplarına göre A2143G negatif ve A2143G pozitif hastaların dağılımı

Yaş	A2143G (-) n (%)	A2143G (+) n (%)	p
3-6	2 (% 66,7)	1 (% 33,3)	0,318
7-12	9 (% 75)	3 (% 25)	
13-18	7 (% 46,7)	8 (% 53,3)	

A2142G mutasyonu pozitif olan hastaların tamamının klaritromisine dirençli olduğu ve negatif saptananlara göre klaritromisin direncinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0,023$) (Tablo 32).

A2143G pozitif olan, antibiyogram yapılan hastaların % 55'inde, A2143G negatif olan hastaların ise % 16,7'sinde klaritromisin direnci saptanmıştır. A2143G mutasyonu pozitif saptanan hastalarda negatif saptananlara göre klaritromisin direnci açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,054$) (Tablo 32).

Tablo 32. A2142G ve A2143G genetik mutasyonun klaritromisin duyarlı ve dirençli hastalardaki dağılımı

Genetik Mutasyonlar	Klaritromisin Duyarlı n (%)	Klaritromisin Dirençli n (%)	p
A2142G negatif	15 (% 83,3)	3 (% 16,7)	0,023*
A2142G pozitif	0 (% 0)	5 (% 100)	
A2143G negatif	10 (% 83,3)	2 (% 16,7)	0,054*
A2143G pozitif	5 (% 45)	6 (% 55)	

* Fisher's Exact Test kullanılmıştır.

Levofloksasin direnci olan tek olguda A21426 ve A21436 genetik mutasyonlarının her ikisi de pozitif bulunmuştur.

4.6. Hastalar ile Ebeveynlerin Virulans Faktörlerinin ve Genetik Mutasyonlarının Değerlendirilmesi

Çalışmamıza PCR pozitif olan çocukların klinik semptomu bulunan ve endoskopi yaptırmayı kabul eden 6 olgunun ebeveyni de (bir hastanın annesinin ve babasının çalışmaya dahil edilmesi nedeniyle toplam 7 yetişkin hasta) değerlendirilmiştir.

PCR pozitif saptanan 6 hasta ve 7 ebeveynde *vacAs1*, *vacAs2*, *cagA* ve *cagE* virulans genleri ile A2142G ve A2143G genetik mutasyonlarının karşılaştırması yapılmıştır.

A hastasında hem anneden, hem babadan örnek alınmış bu çocukta anne ve babası ile aynı *vacAs1* alleli ve *cagE* pozitif *H. pylori* suşu tespit edilmiş, anne ve babadan farklı olarak bu çocukta *cagA* geni eksik olarak saptanmıştır.

B ve D hastalarına ait örneklerde anneleri gibi daha az virulan *vacAs2* alleli ve *cagE* negatif *H. pylori* suşları tespit edilmişken bu çocuklarda annelerinden farklı olarak *cagA* geni pozitif bulunmuştur. Yine bu iki çocukta antibiyotik dirençlerinden sorumlu olduğu düşünülen A2142G ve A2143G genetik mutasyonları tespit edilmemiştir.

C hastasına ait örneklerde babası ile aynı *vacAs1* alleli ve *cagE* negatifliği tespit edilmişken, babasından farklı olarak *cagA* geni negatif ve A2143G genetik mutasyonu pozitif saptanmıştır.

E ve F hastalarına ait örneklerde de annelerinden farklı *vacA* alleleri bulunan *H. pylori* suşları tespit edilmiş olup E hastasında ve annesinde A2143G genetik mutasyonu pozitif saptanmıştır.

Özetle çalışmamızda çocuklar ile ebeveynlerde farklı *H. pylori* suşları tespit edilmiştir (Tablo 33).

Tablo 33. PCR pozitif olan hastalar ile ebeveyleerin virulans genleri ile genetik mutasyonlarının karşılaştırması

Hastalar ve Ebeveynler	<i>vacAs1</i>	<i>vacAs2</i>	<i>cagA</i>	<i>cagE</i>	A2142G	A2143G
A Hastası	+	-	-	+	-	-
A Hastasının Annesi	+	-	+	+	-	-
A Hastasının Babası	+	-	+	+	-	-
B Hastası	-	+	+	-	-	-
B Hastasının Annesi	-	+	-	-	-	-
C Hastası	+	-	-	-	-	+
C Hastasının Babası	+	-	+	-	-	-
D Hastası	-	+	+	-	-	-
D Hastasının Annesi	-	+	-	-	-	-
E Hastası	+	-	-	-	-	+
E Hastasının Annesi	-	+	-	-	-	+
F Hastası	+	-	-	-	-	-
F Hastasının Annesi	-	+	-	-	-	-

5. TARTIŞMA

H. pylori’nin non-ülser dispepsiden gastrik ülser ve MALT lenfomaya, atrofik gastritten, alt-GİS karsinomalarına kadar değişen gastroduodenal patolojinin en önemli sebebi olduğu gösterilmiştir. ¹⁻⁴ Bakteri, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kanser alt grubu “The International Agency for Research on Cancer-IARC” tarafından, 1994 yılında, tip I insan karsinojeni olarak kabul edilmiştir. ⁵⁻⁹

Erken çocukluk döneminde anne, baba ve kardeşlerin, enfeksiyonun aktarılmasında asıl rolü oynadığı düşünülmektedir. Aile içindeki enfekte birey ile aynı yatak odasını ve yatağı paylaşmak, kalabalık aile ortamında yaşamak ve yaş *H. pylori* enfeksiyon riskini arttıran diğer risk faktörleridir. ²⁸⁻³⁰ *H. pylori* enfeksiyonlarının bulaşmasında fekal-oral ve oral-oral yolun önemli olduğuna dikkat çekilmektedir. ^{33, 34}

H. pylori, insanlardaki en yaygın patojenlerde biridir. ⁶¹ Konakların yalnızca küçük bir kısmında peptik ülser hastalığı vardır ve bu etkilerini inflamatuvar cevapları uyarak gösterdiği düşünülmektedir. ⁶⁰ Üreaz aktivitesi, hareket yeteneği gibi virulans faktörlerinin yanında, gastrik hücrelerde immunojenik çapraz reaktivite *H. pylori* patogenezinde önemli rol oynamaktadır. ⁵⁷ Bunun yanında *H. pylori* virulans genlerinden bazılarının gastrik lezyon gelişme riskini arttırdığı ve bakteri virulans faktörlerinin patojen etkisinin çevre ve konağa ait bir çok faktörden etkilendiği düşünülmektedir. ⁵⁸

H. pylori prevalansı coğrafi bölgelere göre değişiklik göstermektedir. Bazı bölgelerde genç yaşlarda bile % 80’den daha fazla *H. pylori* pozitifliği gösterilmiştir. Tüm dünyadaki prevalansı % 50’nin üzerindedir. ^{17, 18} Gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda ve adolesanlarda yaşlı insanlara göre *H. pylori* prevalansı önemli ölçüde daha düşüktür. ²⁰

Son yıllarda *H. pylori* enfeksiyonunun tanısı ile aynı zamanda bakteriye ait *vacA*, *cagA*, *cagE* ve *iceA* gibi virulans genleri ve antibiyotik direncine yol açan mutasyonların tespitinde PCR bazlı moleküler yöntemler başarı ile uygulanmaya başlamıştır. Gastrik biyopsi materyali ve gastrik sıvı gibi klinik materyalde *H. pylori* tanısı için bakteriye ait çeşitli gen bölgelerini hedef alan, farklı klinik materyali örnek olarak kullanabilen oldukça yüksek sensitivite ve spesivitede PCR protokolleri geliştirilmiş, bu yöntemler sadece tanı amaçlı değil epidemiyolojik amaçlı veya virulans ile direnç genlerinin eş zamanlı olarak tanısı amacı ile de kullanılmıştır. ²³⁶⁻²³⁸

Çalışmamızın ilk hedefi semptomatik kişilerin mide mukozasında *H. pylori* kolonizasyonu sıklığını belirlemektir. Diğer taraftan klinik patolojinin düzeyi ile bakteriye ait varsayılan virulans genleri arasındaki ilişkiyi tespit amacıyla, çalışmamızda *H. pylori vacA* ve *cagA*, *cagE* genleri ile *vacA* genindeki polimorfizmi araştırıldı. Kronik ve tekrarlayan karın ağrısı etyolojisinde önemli rolü bulunan, geniş bir spektrumda hastalığa neden olan *H. pylori* ile ilgili olarak kültür, antibiyogram, virulans faktörlerinin belirlenmesi ve bunların klinik yansımalarının saptanması, hastalığın takip, tedavi ve morbiditesinin belirlenmesinde önem taşımaktadır. Bu konuda erişkinlerde birçok çalışma varken çocuklarda epidemiyolojik özellikte sınırlı sayıda veri bulunmaktadır. Çocuklardaki *H. pylori*'nin mikrobiyolojik özellikleri ve özellikle kültür, antibiyogram ve antibiyotik direnci ile ilgili yayınlar ise oldukça sınırlı sayıdadır.

Bu çalışma ile bu konudaki eksikliklerden bir kısmını gidermeyi, ülkemiz çocuk hastalarında, özellikle bölgemiz *H. pylori*-insan ilişkisinin başlangıç dönemi, kolonize suş/suşların özellikleri ve virulans faktörlerinin dağılımı, aile içi geçişinin önemi, ayrıca makrolid ve kinolon grubu antibiyotiklere primer/sekonder direnç dağılımı konusunda bilgi vermeyi planladık.

5.1. *H. pylori*'nin Semptomlarla İlişkisi

H. pylori enfeksiyonu çoğunlukla asemptomatiktir. Bu enfeksiyonun demir eksikliği anemisi, malnutrisyon, büyüme geriliği, kronik İmmün Trombositopenik Purpura, atopik hastalıklar ile ilişkisi bir çok çalışmada gösterilmiştir.^{156-167, 174-176}. Aynı zamanda tekrarlayan karın ağrısı, bulantı, kusma, iştahsızlık, şişkinlik, ağza acı su gelmesi, pirozis, kabızlık, ishal gibi dispeptik yakınmalara neden olabilmektedir ve bu yakınmaların prevalansı % 20'nin üzerindedir. Bu tür dispeptik şikâyetleri olan ve özellikle tedaviye cevapsız çocuklara endoskopi yapılması önerilmektedir. *H. pylori* eradikasyonu ile mide ülseri ve relaps oranları önemli ölçüde azalmıştır.²³⁹

Brezilya'da 4-17 yaşları arasında kronik karın ağrılı veya dispeptik şikâyetleri olan 240 çocuk hastanın % 52'sinde *H. pylori* bulunmuş fakat enfeksiyon ile gastrointestinal semptomlar, karın ağrısı ve ağrının karakteri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bu çalışmada bulantının *H. pylori* enfeksiyonu ile ilişkisi gösterilmemişken, pirozis ile hastalık arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir.

Bundan dolayı dispeptik şikâyetleri bulunan hastalarda *H. pylori* enfeksiyonu tedavisinin üst gastrointestinal endoskopi ve biyopsi sonrasında yapılması gerektiği vurgulanmıştır.²⁴⁰

Korede Jang ve arkadaşlarının *H. pylori* prevalansına yönelik tekrarlayan karın ağrısı olan 2530 çocukta yaptığı bir çalışmada 10 yıllık sürede değişik yaş gruplarını içeren *H. pylori* prevalansının % 7,4 olduğu, karın ağrısı ile *H. pylori* enfeksiyonu arasındaki anlamlı bir ilişki bulunmadığı ve *H. pylori* prevalansının 2000’li yıllarda, 1990’lı yıllara göre daha düşük olduğu vurgulanmıştır.²²

Zeyrek ve arkadaşlarının tekrarlayan karın ağrısı olan 98 çocukta yaptığı bir çalışmada hastaların % 49’unun *H. pylori* ile enfekte olduğu saptanmış ve *H. pylori*’nin giardia ile birlikte tekrarlayan karın ağrılarının önemli bir sebebi olduğu vurgulanmıştır.²⁴¹

Özçay ve arkadaşları, üre nefes testi, seroloji veya kültür ile *H. pylori* enfeksiyonu tanısı almış 102 çocukta en sık başvuru yakınmasının (% 89,2) karın ağrısı olduğunu bildirmiştir.²⁴²

Karabiber ve arkadaşları kronik ve tekrarlayan karın ağrısı nedeniyle endoskopi yapılan 151 çocukta % 64,9 oranında ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek *H. pylori* saptandığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada hastaların % 87,8’inin karın ağrısı, % 67,3’ünün epigastrik şişkinlik, % 36,7’sinin reflü şikâyetleri, % 32,7’sinin ağız kokusu ile başvurduğunu ve *H. pylori* pozitif hastalarda şişkinlik, ağız kokusu ve büyüme geriliğinin istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek saptandığı vurgulanmıştır.²⁴³

Yang ve arkadaşları, sağlıklı çocuklardan oluşan kontrol grubuna göre tekrarlayan karın ağrılı çocuklarda anlamlı oranda daha fazla *H. pylori* pozitifliği saptamışlardır.²⁴⁴

Özgür ve arkadaşları *H. pylori* saptanan hastalarda en sık yakınmanın epigastrik ağrı olduğu ancak *H. pylori* negatif olan gruba göre kıyaslandığında anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir.²⁴⁵

Bizim çalışmamızda diğer çalışmalara göre *H. pylori* sıklığı daha düşüktür. Çalışmamızda 110 çocuk hastanın 30’unda (% 27,3) *H. pylori* pozitif olarak saptanmıştır. Hastaların % 77,3’ünde karın ağrısı vardı, bunu sırayla bulantı (% 49,1), ağza acı su gelmesi (% 36,4), kusma (% 30) ve hazımsızlık (% 21,8) yakınmaları

izlemiştir. Yapılan diğer çalışmalarda olduğu gibi çalışmamızda da en sık başvuru yakınması karın ağrısı olarak görülmektedir. Yaş gruplarına göre bakıldığında 3-6 yaş aralığındaki çocukların % 37,5'i, 7-12 yaş aralığındaki çocukların % 80,6'sı, 13-18 yaş aralığındaki çocukların % 86,2'si karın ağrısı yakınmasıyla başvurmuştur. Karın ağrısı yakınmasının yaş ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. Ancak çalışmamızda hastaların başvuru yakınmaları açısından *H. pylori* pozitif ve negatif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

5.2. *H. pylori* Enfeksiyonunun Yaş ve Cinsiyetle İlişkisi

H. pylori enfeksiyonu genellikle çocukluk yaşlarında kazanılmaktadır ve tedavi edilmediği takdirde yaşam boyu varlığını devam ettirmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalar enfeksiyonun görülme sıklığının yaşla birlikte artış gösterdiğini ve cinsiyetler arasında enfeksiyon sıklığında farklılık olmadığını göstermektedir.

Lin ve arkadaşları Tayvan'da 2551 sağlıklı çocukta araştırma yapmış, *H. pylori* antikorunu ELISA yöntemi ile taramışlar ve yaşla birlikte *H. pylori*'nin seropozitifliğinin arttığı aynı zamanda kız ve erkek çocuklarda enfeksiyonun görülme oranında önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir.²⁴⁶ Japonya'da 392 çocuk ile yapılan bir başka çalışmada da *H. pylori* enfeksiyonunun her iki cinsiyette de benzer oranda olduğu saptanmıştır.²⁴⁷

Koç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *H. pylori* seroprevalansının 5-10 yaş grubunda % 40,7, 11-18 yaş grubunda % 59,3 oranında görüldüğü yaş ile enfeksiyonun sıklığında artış olduğu, kızlarda ve erkeklerde hastalık görülme oranının ise sırayla % 49,2 ve % 52,3 olduğu bildirilmiştir.²⁴⁸

Ülkemizde özellikle çocukluk dönemine ait epidemiyolojik veriler daha çok serolojik testlerle elde edilmiş sonuçlara dayandırılmıştır. Mesela Arslan ve arkadaşlarının çocuklardaki *H. pylori* seroprevalansının belirlenmesine yönelik yaptıkları çalışmada, 221 çocuk hastanın 129'unu (% 58,4) seropozitif olarak tespit etmişlerdir.²⁴⁹ Yücel ve arkadaşların yine aynı yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada ise genç erişkinlerde enfeksiyon prevalansını % 24 olarak tespit etmişlerdir.²⁵⁰

Ertem ve arkadaşları ülkemizde üre nefes testi ile yaptığı epidemiyolojik bir çalışmada *H. pylori* enfeksiyonu sıklığının 4 yaş altı çocuklarda % 18,2 olduğu,

adölesan döneme gelindiğinde ise bu oranın % 65'e kadar arttığını bildirmişlerdir. Bu oran serolojik olarak yapılan diğer çalışmalara benzemektedir.²⁵¹

Bu bulgulara benzer Kutluk ve arkadaşlarının 3-18 yaş arası *H. pylori* ile enfekte çocuklarda yaptığı bir diğer çalışmada; olguların sadece % 5,5'inin 6 yaşın altında olduğu, % 60'ının ise 12 yaşın üzerinde olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada *H. pylori* ile enfekte hasta grubunun % 54'ünü kızlar, % 46'sını erkekler oluşturmuş ve cinsiyet dağılımı açısından fark saptanmamıştır.²⁵²

Karabiber ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise *H. pylori* pozitifliği, PCR ile kızlarda % 61,2 ve erkeklerde % 38,8 oranında saptanmış ancak cinsiyet yönünden her iki grup arasında istatistiksel fark saptanmamıştır. Aynı çalışmada PCR ile saptanan *H. pylori* pozitifliğinin yaş ile arttığı gösterilmiş ve bu duruma aile içi bulaşın sebep olabileceği ve okul çağındaki kalabalık ortam ile birlikte enfeksiyon bulaşının artabileceği vurgulanmıştır.²⁴³

Çalışmamızda kızların % 23,6'sında erkeklerin ise % 34,2'sinde *H. pylori* pozitif saptanmıştır. *H. pylori* pozitif ve negatif gruplar arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu oranlar ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak bulunmuştur. *H. pylori* pozitifliği 3-6 yaş aralığında 3 hastada (% 18,8), 7-12 yaş aralığında 12 hastada (% 33,3), 13-18 yaş aralığında ise 15 hastada (% 27,3) saptanmıştır. Ancak yaş gruplarına göre *H. pylori* pozitif ve negatif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda ilerleyen yaşlarda *H. pylori* sıklığının anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir.

5.3. *H. pylori* Varlığının Histopatolojik Görünüm ile İlişkisi

H. pylori gastriti Sydney sınıflamasına göre histopatolojik özellikleri, bakteri yoğunluğu, kronik aktif gastriti gösteren nötrofil aktivitesi, kronik mononükleer inflamasyon, glandüler atrofi ve intestinal metaplazi açısından skorlanarak değerlendirilmektedir.²³⁶ Enfeksiyonunun normal histopatoloji ile birlikte seyredebileceğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır.^{237, 238}

Kamada ve arkadaşlarının erişkinlerde yaptığı çalışmada endoskopik örneklerin histopatolojik değerlendirmesinde % 67,9 oranında aktif inflamasyon ve % 46,4 oranında kronik inflamasyonun olduğunu saptamıştır. Midenin korpus bölgesinin endoskopik görüntüsünün genellikle *H. pylori* gastritinde bilgi verme açısından

yardımcı olmadığı ileri sürülmektedir.^{253, 254} Bazı çalışmalarda gastrit olgularının ağırlıklı olarak antrum bölgesinde olduğu belirtilmiştir. *H. pylori* gastritine özgü olduğu kabul edilen antral nodüleritenin görülme sıklığının Tomic ve arkadaşlarının çocuklarda yaptığı çalışmada % 67,5²⁵⁵, Koh ve arkadaşlarının 328 çocuk hastada yaptığı çalışmada % 50,6²⁵⁶, Kutluk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise % 77,9 oranında olduğu bildirilmiştir.²⁵²

Yula ve arkadaşları yetişkinlerde 110 hastada endoskopi yaparak *H. pylori* varlığını araştırmışlar, tüm hastaların 91'inde (% 82,7) *H. pylori* PCR pozitif olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada 106 hastada (% 96,4) anormal endoskopik bulgular olduğunu, bunların ise 82'sinde (%74,5) gastrit, 18'inde (% 16,4) duodenit, 6'sında (% 5,5) duodenal ülser ve gastroösofagial reflü olduğunu bildirmişlerdir.²⁵⁷

Özbey ve arkadaşları tekrarlayan karın ağrısı bulunup endoskopi yapılan çocuklarda % 30,7 oranında kültürle, % 66,3 oranında PCR ile % 63,2 oranında histolojik örneklerde *H. pylori* tespit edildiğini bildirmiş ve PCR pozitif hastaların biyopsi örneklerinde % 76,4'ünde antral nodülarite, % 46,2'inde ise antral hiperemi saptamışlardır.²⁵⁸

2007 yılında yapılan 108 dispeptik çocuğun endoskopisinde 57 olguda *H. pylori* pozitif, 51 olguda *H. pylori* negatif saptanmıştır. Endoskopik örneklerde *H. pylori* pozitif örneklerin 54'ünde (% 95) gastrit, 3'ünde (% 5) duodenit, *H. pylori* negatif örneklerde ise 37'sinde (%74) gastrit, 7'sinde (%14) duodenit saptandığı bildirilmiş ve bu çalışmada *H. pylori* pozitif grupta histopatolojik örneklerde kronik inflamasyon ve nötrofil infiltrasyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir.¹⁷⁰

Selimoğlu ve arkadaşlarının gastritli çocukların virulans faktörlerinin endoskopik ve histolojik bulguları arasındaki ilişkisine yönelik yapmış olduğu çalışmada PCR ile 91 çocukta (% 61,6) *H. pylori* pozitif saptandığını, peptik ülser prevalansı ve histopatolojik özellikler ile *cagA*, *cagE*, *iceA1* pozitif gruplar arasında ilişki saptanmadığı, *vacAs1*'in hafif histopatolojik bulgularla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.²⁵⁹

Çalışmamızda ise patolojinin tanımladığı *H. pylori* negatif ve pozitif hastaların dağılımı incelendiğinde *H. pylori* pozitif hastaların % 6'sında histopatolojinin normal olduğu ve % 93,9'unda aktif kronik gastrit bulunduğu gözlenmiştir. *H. pylori* pozitif olgularda oldukça yüksek oranda aktivite ve kronikleşmenin gözlenmesi *H. pylori*'nin

eradikasyon tedavisinin önemini gözler önüne sermektedir. Erken dönemde kronikleşmenin uygun tedaviler ile engellenmesi sonucunda kanser, MALT lenfoma gibi bir çok ciddi problemin de önüne geçebilmek mümkün olacaktır.

5.4. *H. pylori* Virulans Faktörlerinin Değerlendirilmesi

5.4.1. *H. pylori* ve *VacA* Geni

H. pylori suşlarının virulansına *vacA* geninin katkısı ile ilgili yapılan çalışmalarda bölgesel olarak değişen sonuçlar alınmıştır.¹¹¹ Ökaryotik hücrelerde *vacA*'yı kodlayan *vacA* geni, sinyal, *s*, (*s1a*, *s1b*, *s1c*, *s2*) ve orta, *m*, (*m1*, *m2*) bölgelerinden oluşmaktadır. *VacA* allerinden *s1m1* ve *s1m2* allelleri mide ülseri gelişen hastalarda daha sık bildirilmektedir. Özellikle *vacAs1* ve *vacAs1m1* genotipleri ülser ve mide karsinomu ile ilişkili bulunurken, *s2m2* veya *s2m1* genotiplerinin ülser ve kanser yapıcı etkisi daha zayıf bulunmuştur. Genel olarak *s1m1* ve *s1m2* suşlarının yüksek ve orta düzeyde toksin ürettiği, buna karşın *s2m2* suşlarının çok az veya hiç toksin üretmediği kabul edilmektedir. Çoğu *vacAs1* suşlarının *cagA* ile birlikte bulunduğu ve iki allelin yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir. *H. pylori* suşlarının virulansına *vacA* geninin katkısı ile ilgili yapılan çalışmalarda bölgesel olarak değişen sonuçlar alınmıştır.²⁶⁰

VacA allellerinin dağılımı coğrafi bölgelere göre de farklılıklar gösterir. *s1a* tipi kuzey ve doğu Avrupa'da sık görülürken *s1b* tipi Güney Amerika, İspanya, Portekiz ve Güney Afrika'da daha sık görülmektedir. *s1c* tipi ise mide kanserinin daha sık görüldüğü Doğu Asya ülkelerinde daha sık görülmektedir.²⁶¹

Avrupa popülasyonunda dispeptik hastalardan izole edilen *H. pylori*'de *vacA* geninin *m* bölgesini araştıran bir çalışmada *s1m2* genotipi % 40 oranında bulunurken daha toksijenik genotip olan *s1m1* kombinasyonu % 46 oranında bulunmuştur.²⁶² Ayrıca, *s1c* suşlarının Asya kökenli suşlarda daha yoğun görüldüğü ve bu bölgede daha sık karşılaşılan mide kanserleri ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüşse de, tek başına *s1c* ile kanser oluşumunun izah edilemeyeceği gibi çelişkili sonuçlar çalışmalarla gösterilmiştir.^{263, 264}

Ülkemizde Salih ve arkadaşları erişkinlerde yaptıkları çalışmada *H. pylori* izolatlarında nonülser dispepsili hastalarda *vacAs1a/m1a* genotipinin, gastritli hastalarda ise *s2m2* genotipinin daha sık olduğunu bildirmişlerdir.²⁶⁵

Erzin ve arkadaşları erişkinlerde *H. pylori* genotiplerinin klinik bulgular ile ilişkisini araştırmış, *H. pylori* pozitif olan 91 olgudan 37'sinde *vacAs1m1*, 44'ünde *s1m2* ve 9'unda *s2m2* genotipi saptayarak *vacAs1a* genotipini % 83,5 oranında bulmuşlar ve bu çalışmada *vacAs1a*, *cagA* ve *cagE* genotipi pozitif suşların duodenal ülser ve gastrik kanserle anlamlı olarak ilişkili olduğunu ve *vacAs2m2* genotipinin ise nonülser dispepsi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Erzin ve arkadaşları ile Aydın ve arkadaşları *m1* ve *m2* genotiplerinin hemen hemen eşit oranda olduğunu bildirmişlerdir. Yine Aydın ve arkadaşları, erişkinlerde antral biyopsi örneklerinde izolatların % 88,8'ini *vacAs1* olarak tiplendirmişler ve bunların hepsini subtip *1a* olarak belirlemişler ve en yaygın genotip kombinasyonunun % 51'inin *vacAs1a/m1* olduğunu bildirmişlerdir.²⁶⁵⁻²⁶⁹

Ülkemizde Sarıbaşak ve arkadaşlarının İstanbul bölgesinde 73 erişkin hastaya ait biyopsi örneklerini değerlendirdiği çalışmada, hastaların % 89'unda *H. pylori* kolonizasyonunu tespit etmişler ve bu çalışmada *H. pylori* izolatlarında *vacAs1a* genotipi % 83 oranında en sık görülen genotip olarak bulunmuş, *vacAs1b* genotipini sadece bir hastada, *vacAs2* genotipi ise hastaların % 5'inde saptanmıştır. İzole edilen suşlarda en sık görülen *vacA* allelinin *s1a/m1a* ile *s1a/m2a* olduğu bildirilmiştir.²⁶⁹

Nagiyev ve arkadaşlarının 2007 yılında bölgemizde yetişkinlerde yaptıkları çalışmada antrumdan alınan örneklerde *H. pylori* izolatlarında en sık genotipin 49 (% 24,6) örnek ile *s1a/m1b* olduğunu, bunu 45 (% 22,6) örnek ile *s1c/m1b* ve 40 (% 20,1) örnek ile *s1a/m1a* genotiplerinin izlediğini bildirmişlerdir.²⁷⁰

Yula ve arkadaşlarının 2009 yılındaki K. Maraş ve Adana bölgesinde yetişkinlerde yaptıkları çalışmada *H. pylori* izolatlarında *vacA* allellerinden *vacAs1/m2* kombinasyonun (25 suş) en sık tespit edilen subtip olduğu, daha sonra sırayla *s1m1* (23 suş), *s2m2* (19 suş) allel kombinasyonunun görüldüğü ve en nadir tespit edilen genotip kombinasyonun ise *s2m1* ile 6 suшта bulunduğunu bildirilmiştir.²⁶⁸

Özbey ve arkadaşlarının çocuklarda 2013'te Türkiye'nin doğusunda yaptıkları bir çalışmada *H. pylori* izolatlarında *vacAs1/m1*, *s1/m2*, ve *s2/m2* genotiplerinin sırayla % 34,7, % 57,1, ve % 8,2 olduğunu, *s2/m1* genotipinin görülmediğini ve bu oranların Poland ve Shanghai'de yapılan çalışmalar ile benzer olduğunu bildirmişlerdir.²⁷¹⁻²⁷³

Denizli bölgesinde erişkinlerde yapılan bir diğer çalışmada *H. pylori* izolatlarında *vacAs1/m2* genotipinin mide kanserli hastalarda % 63,3 ve duodenal ülserli

hastalarda % 68,7 oranla en sık görülen genotip olduğu ve *vacAs2/m1* genotipinin ise görülmediğini bildirmişlerdir.²⁷⁴

Karabiber ve arkadaşları çocuklarda yapmış olduğu çalışmada, *H. pylori* izolatlarından % 81,6'sının *vacAs1* subtipi olduğunu, en yaygın *vacA* subtipinin ise % 32,7 oranında *vacAs1a/m2* olduğunu bildirmişlerdir.²⁴³

Erdoğan ve arkadaşlarının 120 çocukta yaptığı çalışmada *H. pylori* izolatlarından % 70,1'inde *vacAs1a*, % 2,8'inde *vacAs1b*, % 27,1'inde *vacAs2* subtipi olduğunu ve *vacA* genotipinin endoskopik bulgular ile ilişkisi olmadığını bildirmişlerdir.²⁷⁵

Çalışmamızda *H. pylori* PCR pozitif olan 30 hastanın % 96,6'sında *vacA* pozitif saptanmıştır. Bunların % 40'ı *vacAs1*, % 56,6'sı *vacAs2* genotipinde bulunmuştur. *VacAs1* ve *vacAs2* genotiplerinin endoskopik bulgulara göre ve histopatolojik verilere göre değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

5.4.2. *H. pylori* ve *CagA* Geni

Çocuk hastalarda virulans faktörleri ile yapılan çalışmalar oldukça azdır. Semptomatik çocuklarda *H. pylori cagA* suşları ve serum *cagA* antikoru % 33-% 80 oranında bulunur.²⁷⁶⁻²⁸²

Kato ve arkadaşlarının ülserli 25 çocukta yaptıkları bir çalışmada asemptomatik çocukların % 81,8'inde, gastritli hastaların % 93,3'ünde, gastrik ülserli hastaların ise % 80'inde *cagA* tespit ettiklerini bildirmişlerdir.²⁸³

Saltık ve arkadaşları karın ağrısı nedeni ile değerlendirdikleri 45 çocuk hastada virulans faktörlerinden sadece *cagA*'yı test ederek yaptıkları çalışmada, *cagA* pozitifliğini % 55,6 oranında saptamış ve gastrointestinal bulguların şiddeti ile arasında bir ilişki saptanmadığını bildirilmişlerdir.^{284, 285}

H. pylori suşları arasında *cagA* gen taşıyıcılığı ülkeler ve hatta bölgeler arasında farklılıklar göstermektedir. *H. pylori* suşlarında *cagA* pozitifliği Thailand'da % 64,9, Brezilya'da ve Japonya'da % 86,4, Almanya'da % 72, Hollanda'da % 67, Sri Lanka'da % 48, ABD'de % 81, Nijerya'da % 93 ve Kore'de % 97 oranlarında olduğu bildirilmiştir.^{233, 286-288} Avrupa ve Amerika'yı da kapsayan batı toplumlarından izole edilen *H. pylori* suşlarının yaklaşık % 60-70'inin *cagA* geni taşıdıkları tespit edilmiştir.⁶⁴ Peptik ülserli hastaların ise % 90-95'inin *cagA* pozitif olduğu gösterilmiştir.²⁸⁹

Ülkemizde *cagA* gen prevalansının % 59-78 arasında değiştiği bilinmektedir. Sarıbaşak ve arkadaşlarının yetişkinlerde yaptığı 92 biyopsi örneğini değerlendirdikleri çalışmada 65 örnekte *H. pylori* kolonizasyonu tespit etmişler ve bu suşlardan 51'inin (% 78) *cagA* pozitif olduğunu bildirmişlerdir.²⁶⁹

Salih ve arkadaşlarının 2007 yılında erişkinlerde yaptıkları başka bir çalışmada ise gastritli hastaların % 57,1'inde ve peptik ülserli hastaların ise % 92,9'unda *cagA* geni tespit edilmiştir.²⁹⁰

Aydın ve arkadaşları *cagA* pozitif suşların prevalansının peptik ülserli erişkin hastalarda % 72, nonülser dispepsi'li hastalarda ise % 44 olduğunu bildirmişlerdir.²⁶⁶ Yine bu oranla uyumlu olarak Erzin ve arkadaşları da yetişkinlerde yaptıkları çalışmalarında % 73,6 sıklığında *cagA* gen bölgesinin varlığını göstermişler ve bu oranın çoğunun duodenal ülser ve mide kanserli hastalarda olduğunu bildirmişlerdir.²⁶⁷

Nagiyeve ve arkadaşlarının 2007 yılında erişkinlerde yaptıkları çalışmada 201 (% 87) hastanın biyopsi örneklerinde *H. pylori* PCR pozitif saptamış ve *H. pylori* prevalansının gastrik ülserli hastalarda % 82,9, duodenal ülserli hastalarda da % 95,9 olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada kolonize suşların % 84,1'inin *cagA* ve *vacA* pozitif Tip-I suşlar olduğu, bu suşların gastrik ülserli ve duodenal ülserli kolonize hastalardaki prevalanslarının ise sırası ile % 78,6 ve % 94,3 olduğu bildirilmiştir.²⁷⁰

Yula ve arkadaşları erişkinlerde yaptığı çalışmada 89 hastanın *H. pylori* izolatından 57'sinin (% 64) *cagA* ve *vacA* pozitif Tip-I suşlar olduğu, 32'sinin ise (% 36) Tip II genotipine (*cagA* negatif ve *vacA* pozitif/negatif) sahip suş olduğunu bildirmiştir.²⁶⁸

2010 yılında Kaplan ve arkadaşlarının erişkinlerde, Çukurova bölgesinde yaptıkları bir diğer çalışmada ise hastaların 48'inde (% 81,4) *cagA* PCR'ın pozitif olduğunu bildirmiştir.²⁹¹

Karabiber ve arkadaşlarının çocuklarda yaptığı çalışmada ise % 51 oranında *cagA* pozitifliği saptanmıştır. Bu oranın ülkemizde yapılan erişkin çalışmalarına göre daha düşük olduğu belirtilmiştir.²⁴³

Erdoğdu ve arkadaşlarının 120 çocuk hastada yaptığı çalışmada hastaların % 53,3'ünde *cagA* pozitif saptamış ancak klinik bulgular ile *cagA* pozitifliği arasında anlamlı ilişki olmadığını ve *cagA* pozitif olguların *vacAs1am1* genotipi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.²⁷⁵

Çalışmamızda PCR pozitif 30 hastanın % 36,7'sinde, bunlardan *vacAs1* pozitif olguların % 50'sinde, *vacAs2* pozitif olguların ise % 29,4'ünde *cagA* pozitif saptanmıştır. *cagA* pozitifliği çalışmamızda ülkemizde yapılan yetişkin ve çocuk çalışmalarına göre düşük oranlarda saptanmıştır. *H. pylori*'nin bu virulans genlerinin çocukluk çağında tespit edilmesi sonrasında uygun tedavi ve takip ile mide kanserine kadar giden ciddi klinik tabloların önüne geçilebilecektir.

5.4.3. *H. pylori* ve CagE

Calp ve arkadaşlarının erişkinlerde yaptığı çalışmada özellikle gelişmiş ülkelerde *H. pylori* enfeksiyonlarında kötü prognozu gösteren *cagA* ile birlikte *cagPAI* için bir marker olduğu düşünülen *cagE* geni grup 1 (*cagA* ve *vacA* pozitif) hastalardan izole edilen suşların % 94,4'ünde, grup 2 (*cagA* negatif ve *vacA* pozitif/negatif) hastaların % 100'ünde ve tüm hastaların % 96,8'inde pozitif saptanmıştır.²⁹²

Ülkemizde erişkinlerde yapılan mevcut iki çalışmada *H. pylori* pozitif olgularda *cagE* pozitiflik oranlarını Erzin ve arkadaşları % 59,3, Ilga ve ark. % 60,7 olarak bildirmişlerdir.^{267, 293}

Özbey ve arkadaşları *H. pylori* pozitif 49 çocukta yaptığı çalışmada ise *cagE* pozitifliğini % 22,4 olarak bildirmişlerdir.²⁷³

Bunlardan yola çıkarak *H. pylori* virulans faktörlerinin gastrik patolojideki etkileriyle ilgili birçok çalışma yapılmıştır.^{294, 266, 267} Virulans faktörlerinin salgıladığı çeşitli stokinlerin *H. pylori* enfeksiyonunda inflamatuvar cevabı başlatma ve güçlendirmede anahtar rol oynadığı ve bunun gastrik ülser ve malignensi ile ilişkili olabilecekleri bildirilmektedir.^{94, 295}

Ülkemizde çocuklarda *H. pylori* virulans genlerinin değerlendirildiği çalışma sayısı oldukça azdır. Virulans genlerinden *vacA* izolatlarına bakıldığında 2013 yılında Özbey ve arkadaşları *H. pylori* pozitif çocuklarda *vacAs1* izolatını % 91,8 oranında ve 2012 yılında Karabiber ve arkadaşları ise % 81,6 oranında olduğunu bildirmişlerdir.^{273,}²⁴³ Çalışmamızda ise *H. pylori* pozitif olguların % 40'ında *vacAs1* alleli, % 56,6'sında ise daha az virulan olduğu bilinen *vacAs2* alleli pozitif saptanmıştır. Bu iki çalışma ile kıyaslandığında çalışmamızda *vacAs2* allelinin daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Virulans genlerinden *cagA*'ya bakıldığında PCR pozitif olgularda *cagA* pozitif *H. pylori* suşları Özbey ve arkadaşlarının çocuklarda yaptıkları çalışmada % 61,2,

Karabiber ve arkadaşlarının çocuklarda yaptıkları çalışmada ise % 51 oranında pozitif bulunmuştur. Çalışmamızda ise *cagA* % 36,7 oranında saptanmıştır. Bu çalışmalarla kıyaslandığında daha düşük oranda *cagA* pozitifliği gözlenmiştir.^{273 243}

Virulans genlerinden *cagE*'ye bakıldığında çalışmamızda PCR pozitif olan 30 hastanın % 23,3'ünde ise *cagE* pozitif olarak saptanmıştır. Bunlardan % 6,6'sında *vacAs1+cagE*, % 16,6'sında ise *vacAs1+cagA+cagE* birlikteliği saptanmıştır. Çocuklarda bu konuda yeteri kadar çalışma olmaması nedeniyle, ülkemizde yapılan erişkin çalışmalar ile kıyaslandığında *cagE* pozitifliği çalışmamızda düşük oranda bulunmuşken, Özbey ve arkadaşlarının çocuklarda yapmış olduğu çalışma ile kıyaslandığında benzer oranda *cagE* pozitifliği saptanmıştır.²⁷³

Çalışmamızda *H. pylori* PCR pozitif olan 30 hastanın % 90'ında aktif kronik gastrit tespit edilmiş ve bu hastaların % 14,3'ünün ise histopatolojik değerlendirilmesi normal olarak saptanmıştır.

H. pylori PCR pozitif olan bu olgulardan histopatolojisi normal olanların hepisinde daha az virulan olduğu bilinen *vacA* allellerinden *vacAs2*'nin bulunduğu ve histopatolojisi normal olan bu hastaların % 66,6'sında *cagA*'nın bulunduğu ve virulansta önemli rol oynayan *vacAs1* ve *cagE*'nin bulunmadığı gözlenmiştir

Aktif kronik gastrit bulunan olgularda ise *vacAs1*, *vacAs2*, *cagA* ve *cagE* virulans genleri sırayla %44,4, % 51,8, % 33,3, % 25,9 oranlarında pozitif olarak bulunmuştur.

Buradan yola çıkarak çalışmamızda histopatolojik değerlendirmesi normal olan olgularda daha az virulan genler tespit edilmişken, aktif kronik gastrit olan olgularda daha virulan olduğu bilinen genlerinin pozitifliği dikkat çekicidir.

5.5. *H. pylori* ve Antibiyotik Direnci

H. pylori ile ilişkili dispeptik yakınması olan hastaların tedavisinde kullanılan antibiyotik kombinasyonları ve asit sekresyonunun kontrolünü sağlayan ilaçlar ile yüksek oranlarda klinik ve bakteriyolojik başarı elde edilmiştir. Son yıllarda *H. pylori*'de antibiyotiklere karşı giderek artan direnç oranı tedavi başarısızlığına neden olmaktadır. İlaçlar tek başlarına kullanıldıklarında direnç gelişimi artmaktadır. Bu yüzden tedavi için kombine tedavi gerekmektedir.²⁹⁶

Eradikasyon tedavisinde ilk seçenek antibiyotikler olan klaritromisin, metranidazol ve amoksisilinin yoğun olarak kullanıldığı ülkelerde özellikle metranidazol ve klaritromisine karşı giderek artan oranlarda direnç gelişmesi tedavide başarısızlıklara sebep olmaktadır. Bu nedenle tedavi protokollerinin oluşturulmasında direnç tayini önem kazanmıştır.²⁹⁷⁻²⁹⁹ Antibiyotik dirençlerinin belirlenmesine yönelik birçok yetişkin çalışması bulunmakla birlikte çocuklar üzerinde yeteri kadar çalışma yoktur.

H. pylori enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı direnç oranları, ırklar, ülkeler hatta aynı ülkenin farklı coğrafik bölgeleri arasında değişiklik göstermektedir.^{38, 300, 301} 2009-2014 yılları arasında PubMed, MEDLINE, Science Direct, Google Scholar and Scielo manuscripts veri tabanları ile 6 yıllık sürede toplam 87 çalışmanın incelendiği geniş bir araştırmada tüm dünyada *H. pylori* enfeksiyonunda antibiyotik dirençlerinin metranidazol için % 47,2, klaritromisin için % 19,7, levofloksasin için % 18,9, amoksisilin için % 14,6, tetrasiklin için % 11,7, furazolidon için %11,5 ve rifabutin için % 6,7 olduğu bildirilmiştir.³⁰²

Ülkemizde klaritromisin direnciyle ilgili son yıllara ait veriler genellikle erişkinlerde yapılan araştırmalardan elde edilmiş olup, direnç oranları % 40,2-% 48 arasında değişmektedir.³⁰³⁻³⁰⁵

Makrolid grubu antibiyotiklerin özellikle solunum yolu enfeksiyonlarında kullanılması klaritromisin direnci gelişiminde en önemli sebeplerden biridir. Ülkemiz gibi reçete dışı antibiyotik kullanımı olan veya özellikle solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde makrolid grubu antibiyotik reçete edilmesi eğilimi olan gelişmiş ülkelerde, klaritromisine karşı direnç gelişiminin diğer ülkelere göre çok daha önemli bir sorun olduğu düşünülmektedir.³⁰⁶⁻³⁰⁹

Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Pekin’de çocuk hastanelerinde son iki yıl içinde makrolid kullanımının 14 kat arttığını ve % 84,9’a varan klaritromisin direncinin bu durumla ilişkili olabileceği bildirilmiştir.³¹⁰ Boyanova ve arkadaşlarının çalışmasında ise kişi başına düşen günlük makrolid dozunda artış ile klaritromisin direnci gelişiminin direkt ilişkili olduğu belirtilmiştir.³¹¹

Kutluk ve arkadaşları gastrointestinal sistem yakınması ile endoskopi sonrası *H. pylori* enfeksiyonu tanısı almış 113 çocuk hastada % 25,7 oranında klaritromisin direnci saptamıştır. Aynı çalışmada çocuk hastalarda 18 yaş altında az kullanılan florokinon

türü antibiyotiklere karşı % 8 oranında direnç olduğu ve florokinon dirençli bütün hastaların (7 yaşındaki bir hasta dışında) 12 yaşın üzerinde olduğu gösterilmiştir. ²⁵²

Özçay ve arkadaşlarının, üre nefes testi, seroloji veya kültür ile *H. pylori* enfeksiyonu tanısı almış 102 çocukta yapmış olduğu çalışmada klaritromisin direnci % 18,1 olarak saptamıştır. ²⁴²

Karabiber ve arkadaşları *H. pylori* gastriti olan PCR pozitif 98 çocuk hastanın 51'inin (% 52) kültür pozitif olduğunu ve bu hastalarda klaritromisin, metronidazole ve amoksisilin direncinin sırayla % 23,5, % 11,7 ve % 3,9 oranında olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada *cagA* mevcudiyeti ile klaritromisin ve metronidazol direnci arasında bir ilişki saptanmamıştır. *cagE* pozitif olan hastalarda klaritromisin direnci % 83,3 oranında bulunurken, *cagE* negatif olanlarda bu oran % 16,7'ye düşmüştür. ²⁴³

2014 yılında Kahramanmaraş bölgesinde yapılan bir yetişkin çalışmasında 103 hastanın biyopsi örneklerinden izole edilen 58 suşta amoksisilin ve tetrasiklin dirençleri E-test yöntemi ile, klaritromisin ve levofloksasin direnci ise E-test ve moleküler yöntemlerle araştırılmış direnç oranları amoksisilin, klaritromisin, tetrasiklin ve levofloksasin için sırasıyla % 1,7, % 10,3, % 0 ve % 6,9 olarak saptanmıştır. İlaç dirençleri ile hastaların cinsiyet ve endoskopik bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadığı belirtilmiştir. ³¹²

2015 yılında Çalışkan ve arkadaşlarının yetişkinlerde yaptığı çalışmada kültürde üretilen 98 *H. pylori* suşunda klaritromisin, amoksisilin, tetrasiklin, metronidazol ve levofloksasin direnci açısından E-test yapılmış, tüm suşların, amoksisilin ve tetrasiklin duyarlı olduğu, % 36,7 'sinde klaritromisin direnci, % 35,5'inde metronidazol direnci ve % 29,5'inde levofloksasin direnci, % 19,3'ünde ise çoklu ilaç direnci saptandığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada Klaritromisin dirençli suşların % 100'ünde A2143G ve A2144G genetik mutasyonları tespit edilmiştir. ³¹³

Sezgin ve arkadaşlarının dispeptik yakınması olan yetişkinlerde yapmış olduğu çalışmada, 92 hastadan alınan mide biyopsi örneklerinin % 40,2'sinde *H. pylori* PCR pozitif olduğu ve % 40,5 gibi yüksek bir oranda ise klaritromisin direnci olduğu bildirilmiştir. ³⁰⁵

Koletzko ve arkadaşları çocuklarda klaritromisin direncinin % 20'nin üzerinde olduğu ülkelerde klaritromisin içeren tedavilere başlamadan önce *H. pylori* enfeksiyonu

tanı ve tedavi kılavuzunda da yer alan antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması gerektiği vurgulanmıştır.¹⁵⁴

2008 yılında İspanya’da % 52,7’si çocuklardan oluşan 118 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada E-test yöntemiyle bakılan klaritromisin direncinin % 35,6 olduğu bildirilmiştir.³¹⁴

Elviss ve arkadaşlarının erişkinlerde yapmış olduğu bir çalışmada klaritromisin ve metronidazol duyarlı suşların *vacAs1m2* genotipi ile yüksek oranda birliktelik gösterdiğini ancak bu birlikteliğin yüksek virulansa sahip *vacAs1m1* veya düşük virulansa sahip *vacAs2m2* genotiplerinde bulunmadığını bildirmişlerdir.³¹⁵

Yula ve arkadaşları 110 erişkin ile yaptıkları çalışmada hastaların 91’inde (% 82,7) PCR ile *H. pylori* pozitif olduğunu, 79 (% 71,8) hastanın kültüründe bakteri üremesinin saptandığı ve tüm hastaların 8 (% 8,8)’inde klaritromisin direnci olduğunu, klaritromisin direnci saptananlardan 5 suшта ise *cagA* geninin bulunduğunu bildirmişlerdir.³¹⁶

Ülkemizde *cagA* gen prevalansının % 59-78 arasında değiştiği bilinmektedir.²⁶⁹ Kantarçeken ve arkadaşlarının 2003 yılında yetişkin popülasyonda yaptıkları çalışmada 107 hastanın % 75,4’ünde *H. pylori* izole etmişler ve bunlardan ise 66 hastada (% 61,7) *cagA* gen varlığını göstermişlerdir.³¹⁷

İn-vitro olarak *H. pylori*’ye etkili olan levoflaksasinin in-vivo olarak etkileri daha sınırlıdır. Wong ve arkadaşları % 18 oranında³¹⁸ Perna ve arkadaşları % 30,3 oranında levoflaksasine direnç bildirmişlerdir.³¹⁹ Bir başka çalışmada çocuklarda kullanımı yaygın olmayan florokinon grubu ilaçlara direnç 0-6 yaşta % 30,8 olarak gösterilmiş ve bu ilaçlara karşı direncin muhtemelen ebeveynlerden edinildiğini düşünülmüştür.³¹⁰

2010 yılında Akyıldız ve arkadaşlarının erişkinlerde yapmış olduğu çalışma sonuçlarına göre direnç oranları sınıflandırıldığında; metronidazol’e ve levoflaksasin’e % 40,8, klaritromisin’e % 20,4, amoksisiline % 6,1 oranında direnç saptandığını ve tetrasikline karşı dirençli *H. pylori* suşu tespit edilmediği bildirilmiştir.³²⁰

Bölgemizde 2010 yılında Şoreş ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 59 hastanın 50’sinden (% 84,7) alınan örneklerde *H. pylori* kültür ortamında üretilmiş bunlardan 25’inde (% 42,4) klaritromisin direnci saptandığını bildirilmiş ve bu bölgedeki daha önceki yıllara göre oranın daha yüksek olmasının muhtemel sebebinin

ise antibiyotiğin *H. pylori* eradikasyonu dışında solunum yolu enfeksiyonları gibi çok çeşitli endikasyonlarda kullanılması olabileceği vurgulanmıştır. Aynı çalışmada levoflaksasin direncinin saptanmadığı bildirilmiştir.²⁹¹

Çalışmamızda dahil ettiğimiz 110 hastanın 23'ünde (% 20,9) alınan örneklerde *H. pylori* kültür ortamında üretilmiş ve 8 (% 34,7) örnekte klaritromisin direnci saptanmıştır. Hastalardan sadece birinde levoflaksasin direnci saptanmıştır. Hastalarda gözlenen klaritromisin direnci yapılan diğer çalışmalar ile uyumludur. Ancak hasta sayısının arttırılması ile daha anlamlı sonuçlar elde edilebilecektir. Antibiyotiklerin çoğu zaman gereksiz kullanımı ile oluştuğu düşünülen klaritromisin direnci sebebiyle *H. pylori* eradikasyonun yetersiz kalması durumunda makrolid grubu yerine büyük çocuklarda florokinon grubu içeren üçlü ve ardışık tedaviler umut vaat etmekle birlikte florokinon grubuna karşı gelişen hızlı direnç endişe uyandırmaktadır.^{310, 321-323}

Çalışmalar ışığında antibiyotik dirençlerinin yüksek olduğu bölgelerde antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılarak tedavi planlamasının yapılması ile gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçecektir ancak bunu her zaman yapmak mümkün olmamaktadır. *H. pylori* tedavisinde tedavi başarısızlığında antibiyotik direnci riski daha da arttığı için özellikle eradikasyon sağlanamayan olgularda veya reenfeksiyonda, antibiyotik duyarlılık testi yapılmak üzere hastaların deneyimli merkezlere refere edilmesi daha da önem kazanmaktadır. Antibiyotikler tek kullanıldıklarında etkilerini tam gösteremezler ve direnç gelişimi artar. Bu durum tedavide kombinasyonların gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır. *H. pylori* enfeksiyonunda antibiyotik içeriği, dozları ve sürelerinin gözden geçirilerek daha etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.²⁵²

H. pylori dispepsi ve peptik ülser hastalığının yaygın tedavi edilebilir bir sebebidir. Bakterinin tespit edilip, tedavi edilmesi ile mide kanseri riski düşmektedir. Farklı popülasyonlarda çok sayıda çalışmada bakterinin virulans faktörlerinin ve konağın genetik polimorfizminin gastrit, mide ülseri ve mide kanseri gibi hastalıklar açısından risk oluşturduğu gösterilmiştir.^{82, 324, 325}

H. pylori yüksek derecede genetik değişkenlik gösteren bir mikroorganizmadır. Yapılan çalışmaların bir kısmında virulans genleri ile antibiyotik dirençleri arasında ilişki gösterilmişken^{243, 315}, bazı çalışmalarda ise ilişki olmadığı^{243, 311} bildirilmiştir.

Çalışmamızda ise *vacA* subtipleri, *cagA* ve *cagE* ile antibiyotik dirençleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızdan da anlaşılabileceği üzere ülkemizde klaritromisin direnci yüksektir. Klinik çalışmalarda da standart üçlü tedavi ile *H. pylori* enfeksiyonu eradikasyon oranları düşüktür. Bu nedenle belki ülkemizde çocuklarda *H. pylori* enfeksiyonu tedavisi için yeni tedavi modaliteleri geliştirilmesi uygun olacaktır.

5.6. Antibiyotik Dirençlerinin Genetik Mutasyonlarla İlişkisi

H. pylori tedavisinin başarısızlıklarının en büyük sebebi antibiyotik dirençleridir. Klaritromisin dirençli suşlar sıklıkla 23S rRNA'da (peptidil transferaz bölgesinde) mutasyonlar ile olmaktadır. Batı ülkelerinde A2143G, A2142G ve A2142C mutasyonları klaritromisin direnci olan hastaların % 90'ından fazlasından sorumludur.³⁸

Çalışkan ve arkadaşları tarafından toplam 98 *H. pylori* suşu izole edilerek yapılan çalışmada 36 (% 36,7) kişide klaritromisin direnci, 34 (% 35,5) kişide metronidazol direnci, 29 (% 29,5) kişide ise levoflaksasin direnci ve hastaların % 19,3'ünde ise çoklu antibiyotik direnci tespit edilmiştir. Aynı çalışmada klaritromisin dirençli suşların % 100'ünde A2143G ve A2144G genetik mutasyonları tespit edilmiştir.³¹³

Çalışmamızda hastalarda A2142G ve A2143G genetik mutasyonlarının varlığı araştırılmıştır. A2142G mutasyonu pozitif saptanıp antibiyogram yapılan 5 hastanın % 100'ünde, A2143G pozitif saptanan hastaların 6'sında (% 55) klaritromisin direnci saptanmıştır. Çalışmamızda levoflaksasin direnci tespit edilen bir erkek hastada her iki mutasyon da pozitif olarak saptanmıştır. Ancak hasta sayısının arttırılması ile daha anlamlı sonuçlar elde edilebileceğini düşünmekteyiz. Bu genetik mutasyonlardan en az birine sahip olmak bile antibiyotiklere direnç potansiyeli taşımaktadır.

5.7. Ailesel Geçiş ve Çevresel Faktörler ile *H. pylori* İlişkisi

Çocuklarda *H. pylori* enfeksiyon prevalansının eski yıllara göre belirgin olarak arttığı gösterilmiştir. Kullanılan su, bireysel hijyen, sosyoekonomik düzey, aile içi bulaş, ailedeki fert sayısı, anne-baba eğitimi, anne sütü ile beslenme durumu, evde hayvan beslenmesi, aktif veya pasif sigara içiciliği gibi bir çok faktörün hastalık bulaşında etkili olduğu düşünülmekte ve bu konuda çeşitli yayınlar bulunmaktadır.³²⁶

Yetişkinden çocuklara *H. pylori* enfeksiyonu geçişine yönelik bir çok çalışma vardır. Konno ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 44 çocuğun 5'inin annesinin bakteriyel DNA'sının, çocuğun bakteriyel DNA'sı ile benzer olmasının hastalığın aile içi geçişine yönelik önemli bir kanıt olabileceğini vurgulamıştır.¹⁷

H. pylori enfeksiyonu gelişmekte olan toplumların önemli bir halk sağlığı problemidir. Bakteriye ait virulans genlerinin tespitinin gastrit, ülser ve gastrik kanser gelişimi açısından riskli virulans gen profiline sahip suşlarla enfekte olan hastaların uzun süreli takibinde faydalı olabileceği düşünceindeyiz. Hastalığın prognozunu konusunda bizim ülkemiz gibi *H. pylori* prevalansının yüksek olduğu ülkelerde genotiplerin belirlenmesi önemli rol oynamaktadır.

Çalışmamızda *H. pylori* kültür yada PCR pozitifliğinden en az birisi mevcut olan hastalarda klinik olarak endoskopi yapılma endikasyonu alan anne ve/veya babalarına endoskopi yaparak çocuklar ile ebeveynlerdeki *H. pylori*'nin aynı yada farklı suşlar olup olmadığını anlamaya ve ailesel geçişi konusunda bilgi edinmeye çalıştık. Ancak invazif bir işlem olan endoskopiye birçok ebeveynin kabul etmemesi sebebiyle istenilen yetişkin hasta sayısına ulaşamadık. Bu açıdan 6 hasta ile birlikte bu hastalardan klinik semptomu bulunan 7 ebeveynine endoskopi yapılarak *vacAs1*, *vacAs2*, *cagA* ve *cagE* virulans faktörleri ile klaritromisin direncinden sorumlu tutulan A2142G ve A2143G genetik mutasyonlarının karşılaştırması yapılmıştır. Çalışmamızda hasta ve ebeveynlerinin *H. pylori* suşlarının farklı olduğu gösterilmiş ve karşılaştırdığımız 6 hastanın 4'ünde ebeveynleri ile aynı *vacA* alleleline sahip *H. pylori* suşu tespit edilmişken, bu hastalarda farklı *cagE* ve *cagA* genlerine sahip suşlara sahip bakteriler tespit edilmiştir. *H. pylori*'nin Cag Patojenite Adasında (*cagPAI*) yer alan *cagA* ve *cagE* genlerinin sonradan edinilebileceği veya var olan genlerin ilerleyen dönemde kaybebilebileceği bilinmektedir. Hasta ve ebeveynler arasındaki *H. pylori* suşlarındaki farklılıklar değerlendirilirken ilerleyen dönemde *cagPAI*'da değişikliklerin olabileceği de akılda tutulmalıdır. Aynı zamanda çocuklar birden fazla *H. pylori* suşu ile aynı anda enfekte olabilirler. Biyopsi örneklerinin sayısının arttırılması ile *H. pylori*'nin diğer suşlarının tespit edilebilme olasılığı arttırılabilir.

Çalışmamızda klaritromisin direncinde etkili nokta mutasyonların tespiti için yaptığımız *vacA* geninin 1162 bp spesifik bölgesinin incelendiği PCR-RFLP yönteminin²³⁵ diğer çalışmalarda da gösterildiği gibi oldukça heterojen bant profili veren hassas bir

yöntem olması nedeniyle, çocuk hastalardan alınan mide biyopsi örneklerinde *H. pylori* izolatlarının akrabalık geçişlerinin belirlenmesinde iyi bir yöntem olmadığı düşüncesine varılmıştır.



6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda 110 çocuk hastanın 30'unda (% 27,3) PCR yöntemi ile *H. pylori* pozitif olarak saptanmıştır. Bu olguların cinsiyet yönünden değerlendirilmesinde kızların % 23,6'sında erkeklerin ise % 34,2'sinde *H. pylori* pozitif tespit edilmiştir.

2. Kızların % 84,7'si, erkeklerin % 63,2'si karın ağrısı yakınmasıyla başvurmuş olup, karın ağrısı yakınması ile başvuru kızlarda erkeklere göre anlamlı olarak daha fazla saptanmıştır (p=0,010).

3. Kızların % 57,7'si, erkeklerin % 34,2'si bulantı yakınmasıyla başvurmuş olup, bulantı yakınması ile başvuru kızlarda erkeklere göre anlamlı olarak daha fazla saptanmıştır (p=0,019).

4. Çalışmamızda mide biyopsi örneği kültürünün *H. pylori* saptamadaki duyarlılığı % 76,6, seçiciliği % 100, pozitif prediktif değeri % 100, negatif prediktif değeri % 91 olarak bulunmuştur (Tablo 17).

5. Çalışmamızda histopatolojinin *H. pylori* saptamadaki duyarlılığı % 76,6, seçiciliği % 87,3, pozitif prediktif değeri % 69,7, negatif prediktif değeri % 90,8 olarak bulunmuştur (Tablo 17).

6. PCR pozitif olan 30 hastadan alınan örneklerin % 96,6'sında *vacA* pozitif saptanmıştır. Bunların % 40'ında *vacAs1*, % 56,6'sında *vacAs2* pozitif saptanmıştır. Bununla birlikte olguların % 36,7'sinde *cagA*, % 23,3'ünde ise *cagE* pozitif olarak saptanmıştır. Virulans genlerinin birbirleri ile birlikteliğine bakıldığında % 6,6'sında *vacAs1+cagE* birlikteliği, % 16,6'sında *vacAs1+cagA+cagE* birlikteliği ve yine % 16,6'sında *vacAs2+cagA* birlikteliği saptanmıştır.

7. Virulans faktörlerinden *vacAs1* pozitif hastaların % 50'sinde, *vacAs2* pozitif olan hastaların % 29,4'ünde *cagA* pozitif saptanmıştır. *cagA* pozitifliği çalışmamızda ülkemizde yapılan yetişkin çalışmalarına göre düşük, çocuk çalışmalarına benzer oranlarda saptanmıştır.

8. *vacAs1* pozitif olan hastalardan % 58,3'ünde *cagE* pozitif saptanmıştır. Hastaların hiçbirisinde *vacAs2* ile *cagE* birlikteliği gözlenmemiştir.

9. Çalışmamızda virulans genlerinin endoskopik bulgulara göre dağılımında antral gastrit tanısı alan 20 hastanın % 45'inde *vacAs1*, % 50'sinde *vacAs2*, % 30'unda *cagA*, % 25'inde *cagE* pozitif saptanmıştır, pangastrit tanısı alan 8 hastanın % 75'inde

vacAs2 alleli ,% 25'inde *vacAs1* alleli pozitif saptanmış bu hastaların % 50'sinde *cagA* pozitif, %12,5'inde *cagE* pozitif saptanmıştır ancak; endoskopik bulguların *H. pylori* negatif ve pozitif hastalar arasındaki dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

10. Histopatolojik tanımlara göre patolojinin tanımladığı *H. pylori* negatif ve pozitif hastaların dağılımı incelendiğinde *H. pylori* pozitif hastaların % 6'sının histopatolojisinin normal olduğu ve % 94'ünde aktif kronik gastrit bulunduğu, *H. pylori* negatif olguların ise % 59,2'sinde aktif kronik gastrit bulunduğu ve % 25'inin ise histopatolojisinin normal olduğu saptanmıştır.

11. *H. pylori* PCR pozitif olan 30 hastanın % 90'ında aktif kronik gastrit tespit edilmiş ve % 14,3'ünün ise histopatolojik değerlendirilmesi normal olarak saptanmıştır.

12. *H. pylori* PCR pozitif olan olgulardan histopatolojisi normal olanların hepsinde daha az virulan olduğu bilinen *vacA* allellerinden *vacAs2*'nin bulunduğu, bu olguların % 66,6'sında *cagA* pozitif saptandığı ve bu olgularda virulansta önemli rol oynayan *vacAs1* ve *cagE*'nin bulunmadığı gözlenmiştir.

13. Çalışmamızda *H. pylori* virulans genleriyle, başvuru yakınmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p >0,05$).

14. Çalışmamızda antibiyogram, kültür pozitif olan 23 (% 20,9) hastada yapılmıştır. Hastaların 8'inde (% 34,7) klaritromisin direnci saptanmıştır.

15. Hastalarda *H. pylori* A2142G ve A2143G genetik mutasyonlarının varlığı araştırılmıştır. A2143G pozitif saptanıp antibiyogram yapılan hastaların % 55'inde, A2143G negatif saptanan hastaların ise % 16,7'sinde klaritromisin direnci saptanmıştır. A2142G mutasyonu pozitif saptanıp antibiyogram yapılan hastaların tamamının klaritromisine dirençli olduğu ve negatif saptananlara göre klaritromisin direncinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0,023$).

16. Levofloksasin direnci bir (% 4,3) hastada gözlenmiştir. Bu hastada *vacAs1* pozitif, *vacAs2*, *cagA* ve *cagE* negatif saptanmıştır. Bu hastada A2142G ve A2143G genetik mutasyonlarının her ikisinde pozitif olarak bulunmuştur.

17. Çalışmamızda *H. pylori* yayılmasında aile içi geçişe yönelik PCR pozitif saptanan 6 hasta ve 7 ebeveynde *vacAs1*, *vacAs2*, *cagA* ve *cagE* virulans genleri ile

A2142G ve A2143G genetik mutasyonlarının karşılaştırması yapılmış, çocuklar ile ebeveynlerde farklı *H. pylori* suşları tespit edilmiştir.

18. *vacA* geninin 1162 bp spesifik bölgesinin incelendiği PCR-RFLP yönteminin diğer çalışmalarda da gösterildiği gibi oldukça heterojen bant profili veren hassas bir yöntem olması nedeniyle, çocuk hastalardan alınan mide biyopsi örneklerinde *H. pylori* izolatlarının akrabalık geçişlerinin belirlenmesinde iyi bir yöntem olmadığı düşüncesine varılmıştır.



KAYNAKLAR

1. **Borriello P, Murray P R, and Funke G.** Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. *Bacteriology* **2006**; 2:1563-1590.
2. **Baltrus D A, ve ark.** The complete genome sequence of *Helicobacter pylori* strain G27. *Journal of bacteriology* **2009**; 191(1):447-448.
3. **Marshall B and Warren J R.** Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The Lancet* **1984**; 323(8390):1311-1315.
4. **Van Amsterdam K, ve ark.** Of microbe and man: determinants of *Helicobacter pylori* related diseases. *FEMS microbiology reviews* **2006**; 30(1):131-156.
5. **Forman D, ve ark.** Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *Bmj* **1991**; 302(6788):1302-1305.
6. **Kuipers E, Peña A, and Meuwissen S. H.** *pylori* and gastric cancer: limitations of retrospective studies. *Gastroenterology* **1994**; 106(5):1398.
7. **Nomura A, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *New England Journal of Medicine* **1991**; 325(16):1132-1136.
8. **Parsonnet J, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *New England Journal of Medicine* **1991**; 325(16):1127-1131.
9. **Talley N J, ve ark.** Gastric adenocarcinoma and *Helicobacter pylori* infection. *Journal of the National Cancer Institute* **1991**; 83(23):1734-1739.
10. **Eaton K A, ve ark.** Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *Infection and Immunity* **1991**; 59(7):2470-2475.
11. **Kusters J, ve ark.** Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. *Infection and immunity* **1997**; 65(9):3672-3679.
12. **Serin E, ve ark.** Impact of *Helicobacter pylori* on the development of vitamin B12 deficiency in the absence of gastric atrophy. *Helicobacter* **2002**; 7(6):337-341.
13. **Dunn B.** Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* **1997**; 10:720-741.
14. **Kidd M and Modlin I M.** A Century of *Helicobacter pylori*. *Digestion* **1998**; 59(1):1-15.
15. **Marshall B J, ve ark.** Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *The Medical Journal of Australia* **1985**; 142(8):436-439.
16. **Özden A.** *Helicobacter pylori Türkiye*. Türk Gastroenteroloji Vakfı yayınları, **2013**.
17. **Konno M, ve ark.** Five-year follow-up study of mother-to-child transmission of *Helicobacter pylori* infection detected by a random amplified polymorphic DNA fingerprinting method. *Journal of clinical microbiology* **2005**; 43(5):2246-2250.
18. **Chey W D and Wong B C.** American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. *The American journal of gastroenterology* **2007**; 102(8):1808-1825.

19. **Torres J, ve ark.** Increasing Multidrug Resistance in *Helicobacter pylori* Strains Isolated from Children and Adults in Mexico. *Journal of clinical microbiology* **2001**; 39(7):2677-2680.
20. **Pounder R and Ng D.** The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. *Alimentary pharmacology & therapeutics* **1994**; 9:33-39.
21. **Alborzi A, ve ark.** Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children (south of Iran). *Diagnostic microbiology and infectious disease* **2006**; 54(4):259-261.
22. **Jang K M, ve ark.** Changing prevalence of *Helicobacter pylori* infections in Korean children with recurrent abdominal pain. *Pediatric gastroenterology, hepatology & nutrition* **2015**; 18(1):10-16.
23. **Opekun A R, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection in children of Texas. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2000**; 31(4):405-410.
24. **Ozden A, ve ark.** Changes in the seroepidemiological pattern of *Helicobacter pylori* infection over the last 10 years. *The Turkish journal of gastroenterology: the official journal of Turkish Society of Gastroenterology* **2004**; 15(3):156-158.
25. **Altuğlu I, ve ark.** Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in a pediatric population. *The Turkish journal of pediatrics* **2000**; 43(2):125-127.
26. **Tindberg Y, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection in Swedish school children: lack of evidence of child-to-child transmission outside the family. *Gastroenterology* **2001**; 121(2):310-316.
27. **Özen A, Ertem D, and Pehlivanoglu E.** Natural history and symptomatology of *Helicobacter pylori* in childhood and factors determining the epidemiology of infection. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2006**; 42(4):398-404.
28. **Chelimsky G, Blanchard S S, and Czinn S J.** *Helicobacter pylori* in children and adolescents. *Adolescent medicine clinics* **2004**; 15(1):53-66.
29. **Elitsur Y and Yahav J.** *Helicobacter pylori* infection in pediatrics. *Helicobacter* **2005**; 10(s1):47-53.
30. **Farrell S, ve ark.** Risk factors for *Helicobacter pylori* infection in children: an examination of the role played by intrafamilial bed sharing. *The Pediatric infectious disease journal* **2005**; 24(2):149-152.
31. **Karabiber H.** Çocuklarda *Helicobacter Pylori* Gastritinde Virülans Faktörleri ve Antibiyotik Direnci. Yandal Uzmanlık Tezi, Üniversity, Malatya, **2012**.
32. **Göral V, ve ark.** Diyarbakır ilinde *Helikobakter pilori* antikör prevalansı. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi* **2006**; 5(1):47-50.
33. **Goodman K J and Correa P.** Transmission of *Helicobacter pylori* among siblings. *The Lancet* **2000**; 355(9201):358-362.
34. **Gomes B and De Martinis E.** The significance of *Helicobacter pylori* in water, food and environmental samples. *Food Control* **2004**; 15(5):397-403.
35. **Ogaya Y, ve ark.** Detection of *Helicobacter pylori* DNA in inflamed dental pulp specimens from Japanese children and adolescents. *Journal of medical microbiology* **2015**; 64(1):117-123.
36. **Yokota S i, ve ark.** Intrafamilial, Preferentially Mother to Child and Intrasposal, *Helicobacter pylori* Infection in Japan Determined by Mutilocus Sequence Typing and Random Amplified Polymorphic DNA Fingerprinting. *Helicobacter* **2015**; 20(5):334-342.

37. **Osaki T, ve ark.** Analysis of intra-familial transmission of *Helicobacter pylori* in Japanese families. *Journal of medical microbiology* **2015**; 64(1):67-73.
38. **Kato S, ve ark.** Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains in Japanese children. *Journal of clinical microbiology* **2002**; 40(2):649-653.
39. **Malaty H M, ve ark.** Evidence from a Nine-Year Birth Cohort Study in Japan of Transmission Pathways of *Helicobacter pylori* Infection. *Journal of clinical microbiology* **2000**; 38(5):1971-1973.
40. **Goodwin C S, ve ark.** Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **1989**; 39(4):397-405.
41. **Fox J.** The non-H pylori helicobacters: their expanding role in gastrointestinal and systemic diseases. *Gut* **2002**; 50(2):273-283.
42. **Goodwin C and Worsley B.** Microbiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America* **1993**; 22(1):5-19.
43. **Dworkin M, ve ark.** *The Prokaryotes: Vol. 7: proteobacteria: Delta and Epsilon subclasses. deeply rooting bacteria.* Springer Science & Business Media, **2006**.
44. **Paul W, Lane M C, and Porwollik S.** *Helicobacter pylori* motility. *Microbes and infection* **2000**; 2(10):1207-1214.
45. **Matsukura N, ve ark.** Detection of serum IgG antibody against *Helicobacter pylori* from childhood in a Japanese population. *Journal of gastroenterology* **1994**; 29(4):403-405.
46. **Köksal F, ve ark.** *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.* 2 ed., İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2002**.
47. **Bukholm G, ve ark.** Colony variation of *Helicobacter pylori*: pathogenic potential is correlated to cell wall lipid composition. *Scandinavian journal of gastroenterology* **1997**; 32(5):445-454.
48. **Tannæs T and Bukholm G.** Cholesteryl-6-O-acyl- α -D-glucopyranoside of *Helicobacter pylori* relate to relative lysophospholipid content. *FEMS microbiology letters* **2005**; 244(1):117-120.
49. **Tannaes T, Bukholm I K, and Bukholm G.** High relative content of lysophospholipids of *Helicobacter pylori* mediates increased risk for ulcer disease. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* **2005**; 44(1):17-23.
50. **Muotiala A, ve ark.** Low biological activity of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Infection and immunity* **1992**; 60(4):1714-1716.
51. **Moran A P, Lindner B, and Walsh E J.** Structural characterization of the lipid A component of *Helicobacter pylori* rough-and smooth-form lipopolysaccharides. *Journal of Bacteriology* **1997**; 179(20):6453-6463.
52. **Wirth H P, ve ark.** *Helicobacter pylori* Lewis expression is related to the host Lewis phenotype. *Gastroenterology* **1997**; 113(4):1091-1098.
53. **Thoreson A-C E, ve ark.** Differences in surface-exposed antigen expression between *Helicobacter pylori* strains isolated from duodenal ulcer patients and from asymptomatic subjects. *Journal of clinical microbiology* **2000**; 38(9):3436-3441.

54. **Lee S K, ve ark.** Helicobacter pylori flagellins have very low intrinsic activity to stimulate human gastric epithelial cells via TLR5. *Microbes and Infection* **2003**; 5(15):1345-1356.
55. **Todoroki I, ve ark.** Suppressive effects of DNA vaccines encoding heat shock protein on Helicobacter pylori-induced gastritis in mice. *Biochemical and biophysical research communications* **2000**; 277(1):159-163.
56. **Spohn G, ve ark.** Characterization of the HspR-mediated stress response in Helicobacter pylori. *Journal of bacteriology* **2002**; 184(11):2925-2930.
57. **Dunn B.** Pathogenic mechanisms of Helicobacter pylori. *Gastroenterology Clinics of North America* **1993**; 22(1):43-57.
58. **Höcker M and Hohenberger P.** Helicobacter pylori virulence factors—one part of a big picture. *The Lancet* **2003**; 362(9391):1231-1233.
59. **Yamaoka Y, ve ark.** Relationship between Helicobacter pylori iceA, cagA, and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries. *Journal of Clinical Microbiology* **1999**; 37(7):2274-2279.
60. **Peek R M and Blaser M J.** Pathophysiology of Helicobacter pylori-induced gastritis and peptic ulcer disease. *The American journal of medicine* **1997**; 102(2):200-207.
61. **Suerbaum S and Michetti P.** Helicobacter pylori infection. *New England Journal of Medicine* **2002**; 347(15):1175-1186.
62. **Eaton K A, Morgan D, and Krakowka S.** Campylobacter pylori virulence factors in gnotobiotic piglets. *Infection and immunity* **1989**; 57(4):1119-1125.
63. **Go M F and Crowe S E.** Virulence and pathogenicity of Helicobacter pylori. *Gastroenterology Clinics of North America* **2000**; 29(3):649-670.
64. **Podzorski R P, ve ark.** Analysis of the vacA, cagA, cagE, iceA, and babA2 genes in Helicobacter pylori from sixty-one pediatric patients from the Midwestern United States. *Diagnostic microbiology and infectious disease* **2003**; 46(2):83-88.
65. **Toracchio S, ve ark.** Rifabutin based triple therapy for eradication of H. pylori primary and secondary resistant to tinidazole and clarithromycin. *Digestive and liver disease* **2005**; 37(1):33-38.
66. **Voland P, ve ark.** Human immune response towards recombinant Helicobacter pylori urease and cellular fractions. *Vaccine* **2006**; 24(18):3832-3839.
67. **Ilver D, ve ark.** Helicobacter pylori adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* **1998**; 279(5349):373-377.
68. **Mahdavi J, ve ark.** Helicobacter pylori SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. *Science* **2002**; 297(5581):573-578.
69. **Yamaoka Y.** Roles of Helicobacter pylori BabA in gastroduodenal pathogenesis. *World J Gastroenterol* **2008**; 14(27):4265-4272.
70. **Gerhard M, ve ark.** Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* **2002**; 7(s1):17-23.
71. **Harris A G, ve ark.** Resistance to hydrogen peroxide in Helicobacter pylori: role of catalase (KatA) and Fur, and functional analysis of a novel gene product designated 'KatA-associated protein', KapA (HP0874). *Microbiology* **2002**; 148(12):3813-3825.

72. **Liu H, ve ark.** T (11; 18) is a marker for all stage gastric MALT lymphomas that will not respond to H. pylori eradication. *Gastroenterology* **2002**; 122(5):1286-1294.
73. **Yamaoka Y, ve ark.** Importance of Helicobacter pylori oipA in clinical presentation, gastric inflammation, and mucosal interleukin 8 production. *Gastroenterology* **2002**; 123(2):414-424.
74. **Ayraud S, ve ark.** Polyphosphate kinase: a new colonization factor of Helicobacter pylori. *FEMS microbiology letters* **2005**; 243(1):45-50.
75. **Backert S and Selbach M.** Role of type IV secretion in Helicobacter pylori pathogenesis. *Cellular microbiology* **2008**; 10(8):1573-1581.
76. **Johnston J B, Rahman M, and McFadden G.** *Strategies that modulate inflammasomes—insights from host–pathogen interactions.* in *Seminars in immunopathology*. 2007.
77. **Viala J, ve ark.** Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the Helicobacter pylori cag pathogenicity island. *Nature immunology* **2004**; 5(11):1166-1174.
78. **Chamaillard M, ve ark.** Nods, Nalps and Naip: Intracellular regulators of bacterial induced inflammation. *Cellular microbiology* **2003**; 5(9):581-592.
79. **Inohara N, ve ark.** Human Nod1 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharides. *Journal of Biological Chemistry* **2001**; 276(4):2551-2554.
80. **Fritz J H, ve ark.** Nod1-mediated innate immune recognition of peptidoglycan contributes to the onset of adaptive immunity. *Immunity* **2007**; 26(4):445-459.
81. **Robinson K, Argent R H, and Atherton J C.** The inflammatory and immune response to Helicobacter pylori infection. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* **2007**; 21(2):237-259.
82. **Basso D, ve ark.** Clinical relevance of Helicobacter pylori cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology* **2008**; 135(1):91-99.
83. **Blaser M J, ve ark.** Infection with Helicobacter pylori strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer research* **1995**; 55(10):2111-2115.
84. **Palli D, ve ark.** CagA+ Helicobacter pylori infection and gastric cancer risk in the EPIC EURGAST study. *International journal of cancer* **2007**; 120(4):859-867.
85. **van Doorn L J, ve ark.** Clinical relevance of the cagA, vacA, and iceA status of Helicobacter pylori. *Gastroenterology* **1998**; 115(1):58-66.
86. **Ramelah M, ve ark.** cagA gene variants in Malaysian Helicobacter pylori strains isolated from patients of different ethnic groups. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* **2005**; 44(2):239-242.
87. **Couturier M R, ve ark.** Interaction with CagF is required for translocation of CagA into the host via the Helicobacter pylori type IV secretion system. *Infection and immunity* **2006**; 74(1):273-281.
88. **Pattis I, ve ark.** The Helicobacter pylori CagF protein is a type IV secretion chaperone-like molecule that binds close to the C-terminal secretion signal of the CagA effector protein. *Microbiology* **2007**; 153(9):2896-2909.

89. **Rieder G, Merchant J L, and Haas R.** Helicobacter pylori cag-type IV secretion system facilitates corpus colonization to induce precancerous conditions in Mongolian gerbils. *Gastroenterology* **2005**; 128(5):1229-1242.
90. **Zhou W, ve ark.** The diversity of vacA and cagA genes of Helicobacter pylori in East Asia. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* **2004**; 40(1):81-87.
91. **Bronte-Tinkew D M, ve ark.** Helicobacter pylori cytotoxin-associated gene A activates the signal transducer and activator of transcription 3 pathway in vitro and in vivo. *Cancer research* **2009**; 69(2):632-639.
92. **Saadat I, ve ark.** Helicobacter pylori CagA targets PAR1/MARK kinase to disrupt epithelial cell polarity. *Nature* **2007**; 447(7142):330-333.
93. **Wen S and Moss S F.** Helicobacter pylori virulence factors in gastric carcinogenesis. *Cancer letters* **2009**; 282(1):1-8.
94. **Amieva M R and El-Omar E M.** Host-bacterial interactions in Helicobacter pylori infection. *Gastroenterology* **2008**; 134(1):306-323.
95. **Nguyen L T, ve ark.** Helicobacter pylori virulence and the diversity of gastric cancer in Asia. *Journal of medical microbiology* **2008**; 57(12):1445-1453.
96. **Blaser M J and Atherton J C.** Helicobacter pylori persistence: biology and disease. *The Journal of clinical investigation* **2004**; 113(3):321-333.
97. **Cover T L, ve ark.** Divergence of genetic sequences for the vacuolating cytotoxin among Helicobacter pylori strains. *Journal of Biological Chemistry* **1994**; 269(14):10566-10573.
98. **Iwamoto H, ve ark.** VacA from Helicobacter pylori: a hexameric chloride channel. *FEBS letters* **1999**; 450(1):101-104.
99. **Matsumoto Y, ve ark.** Helicobacter pylori infection triggers aberrant expression of activation-induced cytidine deaminase in gastric epithelium. *Nature medicine* **2007**; 13(4):470-476.
100. **Shibata W, ve ark.** CagA protein secreted by the intact type IV secretion system leads to gastric epithelial inflammation in the Mongolian gerbil model. *The Journal of pathology* **2006**; 210(3):306-314.
101. **Atherton J C, ve ark.** Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of Helicobacter pylori association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. *Journal of Biological Chemistry* **1995**; 270(30):17771-17777.
102. **Szabò I, ve ark.** Formation of anion selective channels in the cell plasma membrane by the toxin VacA of Helicobacter pylori is required for its biological activity. *The EMBO Journal* **1999**; 18(20):5517-5527.
103. **Boncristiano M, ve ark.** The Helicobacter pylori vacuolating toxin inhibits T cell activation by two independent mechanisms. *The Journal of experimental medicine* **2003**; 198(12):1887-1897.
104. **Galmiche A, ve ark.** The N terminal 34 kDa fragment of Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin targets mitochondria and induces cytochrome c release. *The EMBO journal* **2000**; 19(23):6361-6370.
105. **Molinari M, ve ark.** The Acid Activation of Helicobacter pylori Toxin VacA: Structural and Membrane Binding Studies. *Biochemical and biophysical research communications* **1998**; 248(2):334-340.

106. **Sundrud M S, ve ark.** Inhibition of primary human T cell proliferation by *Helicobacter pylori* vacuolating toxin (VacA) is independent of VacA effects on IL-2 secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**; 101(20):7727-7732.
107. **Terebiznik M R, ve ark.** Effect of *Helicobacter pylori*'s vacuolating cytotoxin on the autophagy pathway in gastric epithelial cells. *Autophagy* **2009**; 5(3):370-379.
108. **Letley D, ve ark.** Allelic Diversity of the *Helicobacter pylori* Vacuolating Cytotoxin Gene in South Africa: Rarity of the vacA s1a Genotype and Natural Occurrence of an s2/m1 Allele. *Journal of clinical microbiology* **1999**; 37(4):1203-1205.
109. **Yamazaki S, ve ark.** Distinct diversity of vacA, cagA, and cagE genes of *Helicobacter pylori* associated with peptic ulcer in Japan. *Journal of clinical microbiology* **2005**; 43(8):3906-3916.
110. **Kersulyte D, ve ark.** Differences in genotypes of *Helicobacter pylori* from different human populations. *Journal of bacteriology* **2000**; 182(11):3210-3218.
111. **Van Doorn L J, ve ark.** Geographic distribution of vacA allelic types of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* **1999**; 116(4):823-830.
112. **Willhite D C and Blanke S R.** *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin enters cells, localizes to the mitochondria, and induces mitochondrial membrane permeability changes correlated to toxin channel activity. *Cellular microbiology* **2004**; 6(2):143-154.
113. **Yamasaki E, ve ark.** *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin induces activation of the proapoptotic proteins Bax and Bak, leading to cytochrome c release and cell death, independent of vacuolation. *Journal of Biological Chemistry* **2006**; 281(16):11250-11259.
114. **Gebert B, ve ark.** *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. *Science* **2003**; 301(5636):1099-1102.
115. **Figueiredo C, ve ark.** Genetic organization and heterogeneity of the iceA locus of *Helicobacter pylori*. *Gene* **2000**; 246(1):59-68.
116. **Ribeiro M L, ve ark.** Clinical relevance of the cagA, vacA and iceA genotypes of *Helicobacter pylori* in Brazilian clinical isolates. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* **2003**; 36(3):181-185.
117. **Yamaoka Y, Kwon D H, and Graham D Y.** A Mr 34,000 proinflammatory outer membrane protein (oipA) of *Helicobacter pylori*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2000**; 97(13):7533-7538.
118. **Kudo T, ve ark.** Correlation between *Helicobacter pylori* OipA protein expression and oipA gene switch status. *Journal of clinical microbiology* **2004**; 42(5):2279-2281.
119. **Teymournejad O, ve ark.** In vitro suppression of dendritic cells by *Helicobacter pylori* OipA. *Helicobacter* **2014**; 19(2):136-143.
120. **Santos A, ve ark.** New pathogenicity marker found in the plasticity region of the *Helicobacter pylori* genome. *Journal of clinical microbiology* **2003**; 41(4):1651-1655.
121. **Oleastro M, ve ark.** *Distribution and allelic diversity of a novel peptic ulcer marker candidate in different geographical regions.* in *Helicobacter*. 2006.

122. **Ge Z and Taylor D E.** Sequencing, expression, and genetic characterization of the *Helicobacter pylori* ftsH gene encoding a protein homologous to members of a novel putative ATPase family. *Journal of bacteriology* **1996**; 178(21):6151-6157.
123. **Bauer S, ve ark.** Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2001**; 98(16):9237-9242.
124. **Zheng P Y and Jones N L.** *Helicobacter pylori* strains expressing the vacuolating cytotoxin interrupt phagosome maturation in macrophages by recruiting and retaining TACO (coronin 1) protein. *Cellular microbiology* **2003**; 5(1):25-40.
125. **Ramarao N, ve ark.** *Helicobacter pylori* inhibits phagocytosis by professional phagocytes involving type IV secretion components. *Molecular microbiology* **2000**; 37(6):1389-1404.
126. **Menaker R J, Ceponis P J, and Jones N L.** *Helicobacter pylori* induces apoptosis of macrophages in association with alterations in the mitochondrial pathway. *Infection and immunity* **2004**; 72(5):2889-2898.
127. **Wang J, ve ark.** Negative selection of T cells by *Helicobacter pylori* as a model for bacterial strain selection by immune evasion. *The Journal of Immunology* **2001**; 167(2):926-934.
128. **Suerbaum S, ve ark.** *Helicobacter pylori* hspA hspB heat shock gene cluster: nucleotide sequence, expression, putative function and immunogenicity. *Molecular microbiology* **1994**; 14(5):959-974.
129. **Blaser M.** The versatility of *Helicobacter pylori* in the adaptation to the human stomach. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society* **1997**; 48(3):307-314.
130. **Hassall E and Dimmick J E.** Unique features of *Helicobacter pylori* disease in children. *Digestive diseases and sciences* **1991**; 36(4):417-423.
131. **Drumm B.** *Helicobacter pylori* in the pediatric patient. *Gastroenterology Clinics of North America* **1993**; 22(1):169-182.
132. **Sherman P, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents: working group report of the First World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2002**; 35:S128-S133.
133. **Drumm B, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection in children: a consensus statement. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2000**; 30(2):207-213.
134. **Kalach N, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection is not associated with specific symptoms in nonulcer-dyspeptic children. *Pediatrics* **2005**; 115(1):17-21.
135. **Tindberg Y, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection and abdominal symptoms among Swedish school children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2005**; 41(1):33-38.
136. **Malaty H M, ve ark.** A prospective study for the association of *Helicobacter pylori* infection to a multidimensional measure for recurrent abdominal pain in children. *Helicobacter* **2006**; 11(4):250-257.
137. **Zullo A, ve ark.** *Helicobacter pylori* and functional dyspepsia: An unsolved issue? *World journal of gastroenterology: WJG* **2014**; 20(27):8957.

138. **Zhao B, ve ark.** Efficacy of *Helicobacter pylori* eradication therapy on functional dyspepsia: a meta-analysis of randomized controlled studies with 12-month follow-up. *Journal of clinical gastroenterology* **2014**; 48(3):241-247.
139. **Gulmann C, ve ark.** 'Cardiac-type'(mucinous) mucosa and carditis are both associated with *Helicobacter pylori*-related gastritis. *European journal of gastroenterology & hepatology* **2004**; 16(1):69-74.
140. **Kato S, ve ark.** Effect of *Helicobacter pylori* Infection on Gastric Acid Secretion and Meal-Stimulated Serum Gastrin in Children. *Helicobacter* **2004**; 9(2):100-105.
141. **Everhart J E.** Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America* **2000**; 29(3):559-578.
142. **Rodrigues R V, Corvelo T C, and Ferrer M T.** Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection among children of different socioeconomic levels in Porto Velho, State of Rondônia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **2007**; 40(5):550-554.
143. **Malfertheiner P, Chan F K, and McColl K E.** Peptic ulcer disease. *The Lancet* **2009**; 374(9699):1449-1461.
144. **Roma E, ve ark.** Is peptic ulcer a common cause of upper gastrointestinal symptoms? *European journal of pediatrics* **2001**; 160(8):497-500.
145. **Fennerty M B.** Is the only good *H. pylori* a dead *H. pylori*? *Gastroenterology* **1996**; 111(6):1773-1774.
146. **McJunkin B, ve ark.** Dramatic decline in prevalence of *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease in an endoscopy-referral population. *The American journal of medicine* **2011**; 124(3):260-264.
147. **Malfertheiner P, ve ark.** Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht IV/Florence consensus report. *Gut* **2012**; 61(5):646-664.
148. **Vakil N, ve ark.** The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *The American journal of gastroenterology* **2006**; 101(8):1900-1920.
149. **Kandulski A and Malfertheiner P.** *Helicobacter pylori* and gastroesophageal reflux disease. *Current opinion in gastroenterology* **2014**; 30(4):402-407.
150. **Chung S J, ve ark.** *Helicobacter pylori* serology inversely correlated with the risk and severity of reflux esophagitis in *Helicobacter pylori* endemic area: a matched case-control study of 5,616 health check-up Koreans. **2011**.
151. **Vicari J, Falk G W, and Richter J E.** *Helicobacter pylori* and acid peptic disorders of the esophagus: is it conceivable? *The American journal of gastroenterology* **1997**; 92(7):1097-1102.
152. **Bayerdörffer E, ve ark.** Regression of primary gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after cure of *Helicobacter pylori* infection. *The Lancet* **1995**; 345(8965):1591-1594.
153. **Franceschi F and Gasbarrini A.** *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* **2007**; 21(2):325-334.
154. **Koletzko S, ve ark.** Evidence-based guidelines from ESPGHAN and NASPGHAN for *Helicobacter pylori* infection in children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2011**; 53(2):230-243.

155. **Darvishi M, ve ark.** Association between Iron Deficiency Anemia and Helicobacter Pylori Infection among Children Under Six Years in Iran. *Acta Med Iran* **2015**; 53:220-4.
156. **Choe Y, Kim S, and Hong Y.** The relationship between Helicobacter pylori infection and iron deficiency: seroprevalence study in 937 pubescent children. *Archives of disease in childhood* **2003**; 88(2):178-178.
157. **Harris P R, ve ark.** Helicobacter pylori-associated hypochlorhydria in children, and development of iron deficiency. *Journal of clinical pathology* **2012**;jclinpath-2012-201243.
158. **Soundaravally R, ve ark.** Plasma ferritin and indices of oxidative stress in Helicobacter pylori infection among schoolchildren. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2013**; 56(5):519-522.
159. **Ganga-Zandzou P S, ve ark.** Natural outcome of Helicobacter pylori infection in asymptomatic children: a two-year follow-up study. *Pediatrics* **1999**; 104(2):216-221.
160. **Sarker S A, ve ark.** Causal relationship of Helicobacter pylori with iron-deficiency anemia or failure of iron supplementation in children. *Gastroenterology* **2008**; 135(5):1534-1542.
161. **Gessner B D, ve ark.** A Controlled, Household-Randomized, Open-Label Trial of the Effect That Treatment of Helicobacter pylori Infection Has on Iron Deficiency in Children in Rural Alaska. *Journal of Infectious Diseases* **2006**; 193(4):537-546.
162. **Mahalanabis D, ve ark.** Haematological response to iron supplementation is reduced in children with asymptomatic Helicobacter pylori infection. *British journal of nutrition* **2005**; 94(06):969-975.
163. **Fagan R P, ve ark.** Controlled, household-randomized, open-label trial of the effect of treatment of Helicobacter pylori infection on iron deficiency among children in rural Alaska: results at 40 months. *Journal of Infectious Diseases* **2009**; 199(5):652-660.
164. **Muhsen K and Cohen D.** Helicobacter pylori Infection and Iron Stores: A Systematic Review and Meta-analysis. *Helicobacter* **2008**; 13(5):323-340.
165. **Rinaldi M, ve ark.** Immune thrombocytopenic purpura: an autoimmune cross-link between infections and vaccines. *Lupus* **2014**; 23(6):554-567.
166. **Malfertheiner P, ve ark.** Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* **2007**; 56(6):772-781.
167. **Fock K M, ve ark.** Second Asia-Pacific consensus guidelines for helicobacter pylori infection. *Journal of gastroenterology and hepatology* **2009**; 24(10):1587-1600.
168. **Ertem D and Pehlivanoglu E.** Helicobacter pylori may influence height in children independent of socioeconomic factors. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2002**; 35(2):232-233.
169. **Sood M R, ve ark.** Growth in children with Helicobacter pylori infection and dyspepsia. *Archives of disease in childhood* **2005**; 90(10):1025-1028.
170. **Soylu Ö B and Ozturk Y.** Helicobacter pylori infection: effect on malnutrition and growth failure in dyspeptic children. *European journal of pediatrics* **2008**; 167(5):557-562.
171. **Chimonas M A R, ve ark.** Asymptomatic Helicobacter pylori infection and iron deficiency are not associated with decreased growth among Alaska Native children aged 7–11 years. *Helicobacter* **2006**; 11(3):159-167.

172. **Cherian S, ve ark.** Helicobacter pylori, helminth infections and growth: a cross sectional study in a high prevalence population. *Acta Paediatrica* **2009**; 98(5):860-864.
173. **Mohammad M A, ve ark.** Prevalence of Helicobacter pylori infection among Egyptian children: impact of social background and effect on growth. *Public health nutrition* **2008**; 11(03):230-236.
174. **Kopacova M, ve ark.** Blood pressure and stature in Helicobacter pylori positive and negative persons. *World journal of gastroenterology: WJG* **2014**; 20(19):5625.
175. **Choe Y H, Kim S K, and Hong Y C.** Helicobacter pylori infection with iron deficiency anaemia and subnormal growth at puberty. *Archives of disease in childhood* **2000**; 82(2):136-140.
176. **Dale A, ve ark.** Helicobacter pylori infection, gastric acid secretion, and infant growth. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **1998**; 26(4):393-397.
177. **Bourke B, ve ark.** Canadian Helicobacter Study Group Consensus Conference: Update on the approach to Helicobacter pylori infection in children and adolescents--an evidence-based evaluation. *Canadian journal of gastroenterology= Journal canadien de gastroenterologie* **2005**; 19(7):399-408.
178. **Gold B D, ve ark.** Helicobacter pylori infection in children: recommendations for diagnosis and treatment. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2000**; 31(5):490-497.
179. **Bahú M d G S, ve ark.** Endoscopic nodular gastritis: an endoscopic indicator of high-grade bacterial colonization and severe gastritis in children with Helicobacter pylori. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2003**; 36(2):217-222.
180. **Owen R J.** Bacteriology of Helicobacter pylori. *Baillière's clinical gastroenterology* **1995**; 9(3):415-446.
181. **Grove D I, Koutsouridis G, and Cummins A G.** Comparison of culture, histopathology and urease testing for the diagnosis of Helicobacter pylori gastritis and susceptibility to amoxycillin, clarithromycin, metronidazole and tetracycline. *Pathology* **1998**; 30(2):183-187.
182. **Ndip R N, ve ark.** Culturing Helicobacter pylori from clinical specimens: review of microbiologic methods. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2003**; 36(5):616-622.
183. **Tomb J-F, ve ark.** The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori. *Nature* **1997**; 388(6642):539-547.
184. **Glupczynski Y.** Microbiological and serological diagnostic tests for Helicobacter pylori: an overview. *British medical bulletin* **1998**; 54(1):175-186.
185. **Goodwin C, ve ark.** Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (Campylobacter pyloridis) from the human gastric mucosa. *Journal of medical microbiology* **1985**; 19(2):257-267.
186. **Dent J and McNulty C.** Evaluation of a new selective medium for Campylobacter pylori. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **1988**; 7(4):555-558.
187. **Kiehlbauch J A, ve ark.** Genotypic and phenotypic characterization of Helicobacter cinaedi and Helicobacter fennelliae strains isolated from humans and animals. *Journal of clinical microbiology* **1995**; 33(11):2940-2947.
188. **Yılmaz Y A.** Helicobacter pylori: Mikrobiyolojik tanı yöntemleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* **2004**; 35:182-186.

189. **Vaira D, ve ark.** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary pharmacology & therapeutics* **2002**; 16(s1):16-23.
190. **Leodolter A, Wolle K, and Malfertheiner P.** Current standards in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Digestive Diseases* **2001**; 19(2):116-122.
191. **Gomollon F, ve ark.** Breath test is very reliable for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in real clinical practice. *Digestive and liver disease* **2003**; 35(9):612-618.
192. **Zagari R M, ve ark.** Gastro-oesophageal reflux symptoms, oesophagitis and Barrett's oesophagus in the general population: the Loiano-Monghidoro study. *Gut* **2008**; 57(10):1354-1359.
193. **Zúñiga-Noriega J R, ve ark.** Diagnostic utility of invasive tests and serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in different clinical presentations. *Archives of Medical research* **2006**; 37(1):123-128.
194. **Mitchell H, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection in children: potential clues to pathogenesis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **1993**; 16(2):120-125.
195. **Yañez P, ve ark.** Comparison of invasive and noninvasive methods for the diagnosis and evaluation of eradication of *Helicobacter pylori* infection in children. *Archives of medical research* **2000**; 31(4):415-421.
196. **Vinette K M, ve ark.** Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *H. pylori* infection in pediatric patients. *BMC microbiology* **2004**; 4(1):1.
197. **Rüssmann H, ve ark.** Detection of *Helicobacter pylori* in paraffin-embedded and in shock-frozen gastric biopsy samples by fluorescent in situ hybridization. *Journal of clinical microbiology* **2003**; 41(2):813-815.
198. **Borrelli O, ve ark.** Inflammation of the gastric cardia in children with symptoms of acid peptic disease. *The Journal of pediatrics* **2003**; 143(4):520-524.
199. **Sipponen P, Kekki M, and Siurala M.** The Sydney System: epidemiology and natural history of chronic gastritis. *Journal of gastroenterology and hepatology* **1991**; 6(3):244-251.
200. **Koletzko B, ve ark.** The use of stable isotope techniques for nutritional and metabolic research in paediatrics. *Early human development* **1998**; 53:S77-S97.
201. **Vaira D and Vakil N.** Blood, urine, stool, breath, money, and *Helicobacter pylori*. *Gut* **2001**; 48(3):287-289.
202. **Raju G, ve ark.** Mini-Dose (1- μ Ci) 14 C-Urea Breath Test for the Detection of *Helicobacter pylori*. *American Journal of Gastroenterology* **1994**; 89(7).
203. **Thomas J E, ve ark.** *Helicobacter pylori* colonization in early life. *Pediatric research* **1999**; 45(2):218-223.
204. **De Korwin J.** Advantages and limitations of diagnostic methods for *H. pylori* infection. *Gastroenterologie clinique et biologique* **2003**; 27(3):380-390.
205. **Erdem B.** *Campylobacter ve Helicobacter*. Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*:531-40.
206. **Kindermann A, ve ark.** Evaluation of Two Commercial Enzyme Immunoassays, Testing Immunoglobulin G (IgG) and IgA Responses, for Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection in Children. *Journal of clinical microbiology* **2001**; 39(10):3591-3596.

207. **Koletzko S and Feydt-Schmidt A.** Infants differ from teenagers: use of non-invasive tests for detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *European journal of gastroenterology & hepatology* **2001**; 13(9):1047-1052.
208. **Naito Y, ve ark.** Changes in the presence of urine *Helicobacter pylori* antibody in Japanese children in three different age groups. *Pediatrics International* **2008**; 50(3):291-294.
209. **Gatta L, ve ark.** Non invasive techniques for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical microbiology and infection* **2003**; 9(6):489-496.
210. **Büyükbaba-Boral Ö, ve ark.** HpSA fecoprevalence in patients suspected to have *Helicobacter pylori* infection in Istanbul, Turkey. *International journal of infectious diseases* **2005**; 9(1):21-26.
211. **Lu J-J, ve ark.** Comparison of Five PCR Methods for Detection of *Helicobacter pylori* DNA in Gastric Tissues. *Journal of clinical microbiology* **1999**; 37(3):772-774.
212. **Lage A P, ve ark.** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of *cagA* gene in gastric biopsy specimens. *Journal of clinical microbiology* **1995**; 33(10):2752-2756.
213. **Casazza S, ve ark.** Detection of *Helicobacter pylori* in 201 stomach biopsies using the polymerase chain reaction, histological staining (H&E/Giemsa) and immunohistochemistry. *Pathologica* **1997**; 89(4):405-411.
214. **Huijsdens X W, ve ark.** Detection of *Helicobacter* species DNA by quantitative PCR in the gastrointestinal tract of healthy individuals and of patients with inflammatory bowel disease. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* **2004**; 41(1):79-84.
215. **Momtaz H, ve ark.** Study of *Helicobacter pylori* genotype status in saliva, dental plaques, stool and gastric biopsy samples. *World J Gastroenterol* **2012**; 18(17):2105-11.
216. **Saez J, ve ark.** Real-time PCR for diagnosing *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal bleeding: comparison with other classical diagnostic methods. *Journal of clinical microbiology* **2012**; 50(10):3233-3237.
217. **Lehours P and Mégraud F.** *Helicobacter pylori* molecular diagnosis. *Expert review of molecular diagnostics* **2011**; 11(4):351-355.
218. **Monno R, ve ark.** *Helicobacter pylori* clarithromycin resistance detected by Etest and TaqMan real time polymerase chain reaction: a comparative study. *Apmis* **2012**; 120(9):712-717.
219. **Monteiro L, ve ark.** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* **2009**; 14(s1):8-14.
220. **Occhialini A, ve ark.** Macrolide resistance in *Helicobacter pylori*: rapid detection of point mutations and assays of macrolide binding to ribosomes. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **1997**; 41(12):2724-2728.
221. **Matsumura M, ve ark.** Rapid detection of mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* that confers resistance to clarithromycin treatment to the bacterium. *Journal of clinical microbiology* **2001**; 39(2):691-695.
222. **Francavilla R, ve ark.** Improved efficacy of 10-day sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in children: a randomized trial. *Gastroenterology* **2005**; 129(5):1414-1419.
223. **Kalach N, ve ark.** Sequential therapy regimen for *Helicobacter pylori* infection in children. *Archives de pediatrie: organe officiel de la Societe francaise de pediatrie* **2008**; 15(2):200-201.

224. **Üstündağ G.** Çocukluk Çağı Helicobacter Pylori İnfeksiyonu Tedavisinde Ardışık Tedavi ile Üçlü Tedavinin Etkinliğinin Karşılaştırılması. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, **2010**.
225. **Gottrand F, ve ark.** Omeprazole combined with amoxicillin and clarithromycin in the eradication of Helicobacter pylori in children with gastritis: a prospective randomized double-blind trial. *The Journal of pediatrics* **2001**; 139(5):664-668.
226. **Kawakami E, ve ark.** Triple therapy with clarithromycin, amoxicillin and omeprazole for Helicobacter pylori eradication in children and adolescents. *Arquivos de gastroenterologia* **2001**; 38(3):203-206.
227. **Shcherbakov P, ve ark.** A randomized comparison of triple therapy Helicobacter pylori eradication regimens in children with peptic ulcers. *Journal of international medical research* **2001**; 29(3):147-153.
228. **Chan K, ve ark.** A prospective study of a one-week nonbismuth quadruple therapy for childhood Helicobacter pylori infection. *Journal of pediatric surgery* **2001**; 36(7):1008-1011.
229. **Lankarani K and Saberifiroozi M.** Association of H pylori cagA and vacA genotypes and IL-8 gene polymorphisms with clinical outcome of infection in Iranian patients with gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* **2006**; 12(32):5205-5210.
230. **Sozzi M, ve ark.** Heterogeneity of cag genotypes and clinical outcome of Helicobacter pylori infection. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* **2005**; 146(5):262-270.
231. **Brito C A, ve ark.** Prevalence of cagA and vacA genes in isolates from patients with Helicobacter pylori-associated gastroduodenal diseases in Recife, Pernambuco, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2003**; 98(6):817-821.
232. **Peek R, ve ark.** Detection of Helicobacter pylori gene expression in human gastric mucosa. *Journal of clinical microbiology* **1995**; 33(1):28-32.
233. **Lima V P, ve ark.** Prevalence of Helicobacter pylori genotypes (vacA, cagA, cagE and virB11) in gastric cancer in Brazilian's patients: an association with histopathological parameters. *Cancer epidemiology* **2011**; 35(5):e32-e37.
234. **Van Doorn L, ve ark.** Typing of Helicobacter pylori vacA gene and detection of cagA gene by PCR and reverse hybridization. *Journal of clinical microbiology* **1998**; 36(5):1271-1276.
235. **Han S-R, ve ark.** vacA genotypes and genetic diversity in clinical isolates of Helicobacter pylori. *Clinical and diagnostic laboratory immunology* **1998**; 5(2):139-145.
236. **Dixon M F, ve ark.** Classification and grading of gastritis: the updated Sydney system. *The American journal of surgical pathology* **1996**; 20(10):1161-1181.
237. **Gottrand F, ve ark.** Normal gastric histology in Helicobacter pylori-infected children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **1997**; 25(1):74-78.
238. **Tutar E, ve ark.** Endoscopic and histopathologic findings associated with H. pylori infection in very young children. *Digestive diseases and sciences* **2009**; 54(1):111-117.
239. **Potamitis G S and Axon A T.** Helicobacter pylori and Nonmalignant Diseases. *Helicobacter* **2015**; 20(S1):26-29.
240. **Correa Silva R, ve ark.** Helicobacter pylori infection is high in paediatric nonulcer dyspepsia but not associated with specific gastrointestinal symptoms. *Acta Paediatrica* **2016**.

241. **Zeyrek D, ve ark.** Association of *Helicobacter pylori* and giardiasis in children with recurrent abdominal pain. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi* **2008**; 32(1):4-7.
242. **Özçay F, ve ark.** *Helicobacter pylori* infection in Turkish children: comparison of diagnostic tests, evaluation of eradication rate, and changes in symptoms after eradication. *Helicobacter* **2004**; 9(3):242-248.
243. **Karabiber H, ve ark.** Virulence factors and antibiotic resistance in children with *Helicobacter pylori* gastritis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **2014**; 58(5):608-612.
244. **Yang Y J, ve ark.** Short term recurrent abdominal pain related to *Helicobacter pylori* infection in children. *Journal of gastroenterology and hepatology* **2005**; 20(3):395-400.
245. **Özgür T.** Çocuklarda *Helicobacter Pylori* Gastritinin Konvansiyonel Endoskopik Dar Bant Yöntemi ile Değerlendirilmesi. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, **2012**
246. **Lin D-B, ve ark.** Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection among preschool children in Taiwan. *The American journal of tropical medicine and hygiene* **1999**; 61(4):554-558.
247. **Yamashita Y, ve ark.** Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in children: a serologic study of the Kyushu region in Japan. *Pediatrics International* **2001**; 43(1):4-7.
248. **Koç R.** Reflü Özefajit Gelişiminde *Helicobacter Pylori* Enfeksiyonunun Etkisi. Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi, **2012**.
249. **Arslan D, ve ark.** Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Polikliniğine başvuran sağlıklı çocuklarda *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun seroprevalansı ve bunu etkileyen faktörler. *Erciyes Tıp dergisi* **2006**; 28:192-6.
250. **Yucel T, ve ark.** The prevalence of *Helicobacter pylori* and related factors among university students in Turkey. *Jpn J Infect Dis* **2008**; 61(3):179-83.
251. **Ertem D, Harmanci H, and Pehlivanoglu E.** *Helicobacter pylori* infection in Turkish preschool and school children: role of socioeconomic factors and breast feeding. *Turkish journal of pediatrics* **2003**; 45(2):114-122.
252. **Kutluk G.** 3-18 Yaş Arası Çocuklarda *Helicobacter Pylori* Suşlarında Antibiyotik Direnci ve Ardışık Tedavi ile Standart Tedavi Yöntemlerinin Eradikasyon Başarısı Açısından Karşılaştırılması. Yandal Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul, **2012**.
253. **Black D D, Haggitt R C, and Whittington P F.** Gastroduodenal endoscopic-histologic correlation in pediatric patients. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **1988**; 7(3):353-358.
254. **Ashorn M.** What are the specific features of *Helicobacter pylori* gastritis in children? *Annals of medicine* **1995**; 27(5):617-620.
255. **Tomić T, ve ark.** Endoscopic features of gastric mucosa in children having pathohistological evidence of *Helicobacter pylori* infection. *Collegium antropologicum* **2009**; 33(2):53-57.
256. **Koh H, ve ark.** Nodular gastritis and pathologic findings in children and young adults with *Helicobacter pylori* infection. *Yonsei medical journal* **2007**; 48(2):240-246.
257. **Yula E, ve ark.** Detection of primary clarithromycin resistance of *Helicobacter pylori* and association between cagA+ status and clinical outcome. *Folia microbiologica* **2013**; 58(2):141-146.
258. **Ozbey G, ve ark.** Prevalence of *Helicobacter pylori* in children in eastern Turkey and molecular typing of isolates. *Brazilian Journal of Microbiology* **2015**; 46(2):505-511.

259. **Selimoglu M A, ve ark.** Correlation of clinical, endoscopic, and histological findings with virulence factors in children with *Helicobacter pylori* gastritis. *European journal of gastroenterology & hepatology* **2014**; 26(6):602-606.
260. **Proença-Modena J L, Acrani G O, and Brocchi M.** *Helicobacter pylori*: phenotypes, genotypes and virulence genes. *Future Microbiology* **2009**; 4(2):223-240
261. **Nagiyev T, ve ark.** Prevalence and genotypes of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens from patients with gastroduodenal pathologies in the Cukurova region of Turkey. *Journal of clinical microbiology* **2009**; 47(12):4150-4153.
262. **Owen R, ve ark.** Surveillance and clinical relevance of *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* infecting dyspeptic patients in mid-Essex. *Communicable disease and public health/PHLS* **2002**; 5(2):106-111.
263. **Lin H-J, ve ark.** *Helicobacter pylori* *cagA*, *iceA* and *vacA* genotypes in patients with gastric cancer in Taiwan. *World journal of gastroenterology* **2004**; 10(17):2493-2497.
264. **Correa P and Schneider B G.** Etiology of gastric cancer: what is new? *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **2005**; 14(8):1865-1868.
265. **Salih B A, Gucin Z, and Bayyurt N.** A study on the effect of *Helicobacter pylori* infection on p53 expression in gastric cancer and gastritis tissues. *J Infect Dev Ctries* **2013**; 7(9):651-7.
266. **Aydin F, ve ark.** Distribution of *vacA* alleles and *cagA* status of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease and non-ulcer dyspepsia. *Clinical microbiology and infection* **2004**; 10(12):1102-1104.
267. **Erzin Y, ve ark.** Prevalence of *Helicobacter pylori* *vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA*, *babA2* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. *Helicobacter* **2006**; 11(6):574-580.
268. **Yula E.** Bölgemizden izole edilen *Helicobacter Pylori* Suşlarının Moleküler Epidemiyolojik Özelliklerinin Tespiti. Uzmanlık, Üniversity, Adana, **2009**.
269. **Saribasak H, ve ark.** Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. *Journal of clinical microbiology* **2004**; 42(4):1648-1651.
270. **Nağıyev T.** Gastroduodenal patolojisi olan hastalardan alınan mide biyopsisi örneklerinde *Helicobacter pylori* prevalansının ve genotiplerinin belirlenmesi. doktora, Üniversity, Adana, **2007**.
271. **Maciorkowska E, ve ark.** The evaluation of *vac A* gene alleles frequency in *Helicobacter pylori* strains in children and adults in Podlaskie region. *Folia Histochemica et Cytobiologica* **2007**; 45(3):215.
272. **Zhou Y, ve ark.** [*cagA*, *vacA* and *iceA* genotypes of *Helicobacter pylori* isolated from children in Shanghai]. *Zhongguo dang dai er ke za zhi= Chinese journal of contemporary pediatrics* **2010**; 12(4):267-271.
273. **Ozbey G, Dogan Y, and Demiroren K.** Prevalence of *Helicobacter pylori* virulence genotypes among children in Eastern Turkey. *World J Gastroenterol* **2013**; 19(39):6585-6589.
274. **Caner V, ve ark.** *H pylori iceA* alleles are disease-specific virulence factors. *World Journal of Gastroenterology* **2007**; 13(18):2581.
275. **Erdoğan C, Saribaş Z, and Yilmaz Y A.** Detection of *cagA* and *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* isolates from a university hospital in Ankara region, Turkey. *Turkish journal of medical sciences* **2014**; 44(1):126-132.

276. **Camorlinga-Ponce M, ve ark.** Validation of a serologic test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the immune response to urease and CagA in children. *The American journal of gastroenterology* **1998**; 93(8):1264-1270.
277. **Elitsur Y, ve ark.** Prevalence of CagA, VacA antibodies in symptomatic and asymptomatic children with *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* **1999**; 4(2):100-105.
278. **Gzyl A, ve ark.** PCR-based diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Polish children and adults. *Journal of medical microbiology* **1999**; 48(4):349-356.
279. **Kolho K-L, ve ark.** Gastric inflammation is enhanced in children with CagA-positive *Helicobacter pylori* infection. *The Pediatric infectious disease journal* **1999**; 18(4):337-341.
280. **Luzza F, ve ark.** Testing for serum IgG antibodies to *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated protein detects children with higher grades of gastric inflammation. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **1999**; 29(3):302-307.
281. **Mitchell H M, ve ark.** The prevalence of antibody to CagA in children is not a marker for specific disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **1999**; 28(1):71-75.
282. **Rutigliano V, ve ark.** *Helicobacter pylori* and nonulcer dyspepsia in childhood: clinical pattern, diagnostic techniques, and bacterial strains. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **1999**; 28(3):296-300.
283. **Kato S, ve ark.** CagA antibodies in Japanese children with nodular gastritis or peptic ulcer disease. *Journal of clinical microbiology* **2000**; 38(1):68-70.
284. **Saltık İ N, ve ark.** The cagA status of *Helicobacter pylori* isolates from dyspeptic children in Turkey. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* **2003**; 36(3):147-149.
285. **Sökücü S, ve ark.** CagA positivity and its association with gastroduodenal disease in Turkish children undergoing endoscopic investigation. *Journal of gastroenterology* **2006**; 41(6):533-539.
286. **Rudi J, ve ark.** Direct determination of *Helicobacter pylori* vacA genotypes and cagA gene in gastric biopsies and relationship to gastrointestinal diseases. *The American journal of gastroenterology* **1999**; 94(6):1525-1531.
287. **Chomvarin C, ve ark.** Prevalence of *Helicobacter pylori* vacA, cagA, cagE, iceA and babA2 genotypes in Thai dyspeptic patients. *International Journal of Infectious Diseases* **2008**; 12(1):30-36.
288. **Matsunari O, ve ark.** Association between *Helicobacter pylori* virulence factors and gastroduodenal diseases in Okinawa, Japan. *Journal of clinical microbiology* **2012**; 50(3):876-883.
289. **Salih B A.** The role of the putative virulence markers (cagA and vacA) of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *Saudi medical journal* **2004**; 25(7):830-836.
290. **Salih B A, Abasiyanik M F, and Ahmed N.** A preliminary study on the genetic profile of cag pathogenicity-island and other virulent gene loci of *Helicobacter pylori* strains from Turkey. *Infection, Genetics and Evolution* **2007**; 7(4):509-512.
291. **Kaplan C Ş.** Çukurova Bölgesi'ndeki *Helicobacter Pylori* Suşlarının Antibiyotik Direnci. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, **2010**.
292. **Calp T.** Gastroenteroloji Kliniğine Başvuran Hastalardan Alınan Biyopsi Örneklerinden H.pylori Sıklığının ve Virulans Genlerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, **2010**.

293. **İlga U, ve ark.** Helicobacter pylori isolation, serology and cagA, cagE and virB11 detection in patients with non-ulcer dyspepsia from Turkey: Correlation with histopathologic findings. *Central European Journal of Medicine* **2008**; 3(1):41-46.
294. **Figueiredo C, ve ark.** Helicobacter pylori and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute* **2002**; 94(22):1680-1687.
295. **Chakravorty M, ve ark.** Interaction between IL1B gene promoter polymorphisms in determining susceptibility to Helicobacter pylori associated duodenal ulcer. *Human mutation* **2006**; 27(5):411-419.
296. **Göral V, Zeyrek F Y, and Kadri G.** Antibiotic resistance in Helicobacter pylori infection. *Türkiye Klinikleri Journal of Gastroenterohepatology* **2000**; 11(2):87.
297. **Sharara A I, ve ark.** Prevalence of Helicobacter pylori resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin and tetracycline in Lebanon. *International journal of antimicrobial agents* **2002**; 19(2):155-158.
298. **Lang L and García F.** Comparison of E-test and disk diffusion assay to evaluate resistance of Helicobacter pylori isolates to amoxicillin, clarithromycin, metronidazole and tetracycline in Costa Rica. *International journal of antimicrobial agents* **2004**; 24(6):572-577.
299. **Alarcon T, ve ark.** In vitro activity of omeprazole in combination with several antimicrobial agents against clinical isolates of Helicobacter pylori. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **1996**; 15(12):937-940.
300. **Kalach N, ve ark.** High levels of resistance to metronidazole and clarithromycin in Helicobacter pylori strains in children. *Journal of clinical microbiology* **2001**; 39(1):394-397.
301. **Lee C C, ve ark.** Levofloxacin-resistant Helicobacter pylori in Hong Kong. *Chemotherapy* **2007**; 54(1):50-53.
302. **Ghotaslou R, Leylabadlo H E, and Asl Y M.** Prevalence of antibiotic resistance in Helicobacter pylori: A recent literature review. *World journal of methodology* **2015**; 5(3):164.
303. **Bakir O S, Ozakin C, and Keskin M.** [Antibiotic resistance rates of Helicobacter pylori isolates and the comparison of E-test and fluorescent in situ hybridization methods for the detection of clarithromycin resistant strains]. *Mikrobiyoloji bulteni* **2009**; 43(2):227-234.
304. **Onder G, ve ark.** High Helicobacter pylori resistance rate to clarithromycin in Turkey. *Journal of clinical gastroenterology* **2007**; 41(8):747-750.
305. **Emekdafi G.** Detection of point mutations on 23S rRNA of Helicobacter pylori and resistance to clarithromycin with PCR-RFLP in gastric biopsy specimens in Mersin, Turkey. *Türk J Gastroenterol* **2008**; 19(3):163-167.
306. **Kalach N, ve ark.** Helicobacter pylori primary resistant strains over 11 years in French children. *Diagnostic microbiology and infectious disease* **2007**; 59(2):217-222.
307. **Lopes A I, ve ark.** Antibiotic-resistant Helicobacter pylori strains in Portuguese children. *The Pediatric infectious disease journal* **2005**; 24(5):404-409.
308. **Vecsei A, ve ark.** Time trends of Helicobacter pylori resistance to antibiotics in children living in Vienna, Austria. *Helicobacter* **2010**; 15(3):214-220.

309. **Garcia G T, ve ark.** High prevalence of clarithromycin resistance and *cagA*, *vacA*, *iceA2*, and *babA2* genotypes of *Helicobacter pylori* in Brazilian children. *Journal of clinical microbiology* **2010**; 48(11):4266-4268.
310. **Liu G, ve ark.** Primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated from Beijing children. *Helicobacter* **2011**; 16(5):356-362.
311. **Boyanova L, ve ark.** Two-decade trends in primary *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Bulgaria. *Diagnostic microbiology and infectious disease* **2010**; 67(4):319-326.
312. **Cangür C.** *Helicobacter Pylori* defenotipik ve genotipik yöntemlerle antibiyotik direncinin belirlenmesi ve genotiplerle ilişkisi. Uzmanlık Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, **2014**.
313. **Caliskan R, ve ark.** Antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* strains to five antibiotics, including levofloxacin, in Northwestern Turkey. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **2015**; 48(3):278-284.
314. **Agudo S, ve ark.** High prevalence of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains and risk factors associated with resistance in Madrid, Spain. *Journal of clinical microbiology* **2010**; 48(10):3703-3707.
315. **Elviss N C, ve ark.** *Helicobacter pylori* antibiotic resistance patterns and genotypes in adult dyspeptic patients from a regional population in North Wales. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2004**; 54(2):435-440.
316. **Yula E, ve ark.** Detection of primary clarithromycin resistance of *Helicobacter pylori* and association between *cagA* (+) status and clinical outcome. *Folia Microbiol (Praha)* **2013**; 58(2):141-6.
317. **Bulent K, ve ark.** Citation of This Article. *World J Gastroenterol* **2003**; 9(7):1580-1583.
318. **Wong W, ve ark.** Lansoprazole, levofloxacin and amoxicillin triple therapy vs. quadruple therapy as second-line treatment of resistant *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary pharmacology & therapeutics* **2006**; 23(3):421-427.
319. **Perna F, ve ark.** Levofloxacin-based triple therapy for *Helicobacter pylori* re-treatment: role of bacterial resistance. *Digestive and Liver Disease* **2007**; 39(11):1001-1005.
320. **Akyıldız E.** Gastroenteroloji Kliniğine Başvuran Hastalardan İzole Edilen *Helicobacter pylori* Suşlarının Klaritromisin, Tetrasiklin, Metronidazol, Amoksisilin, Levofloksasin Dirençlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, **2010**.
321. **Nista E C, ve ark.** Levofloxacin-based triple therapy in first-line treatment for *Helicobacter pylori* eradication. *The American journal of gastroenterology* **2006**; 101(9):1985-1990.
322. **Cheng H, ve ark.** Levofloxacin-based triple therapy for first-line *Helicobacter pylori* eradication treatment: a multi-central, randomized, controlled clinical study. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* **2010**; 90(2):79-82.
323. **Cuadrado-Lavín A, ve ark.** Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* to six antibiotics currently used in Spain. *Journal of antimicrobial chemotherapy* **2012**; 67(1):170-173.
324. **Wroblewski L E, Peek R M, and Wilson K T.** *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clinical microbiology reviews* **2010**; 23(4):713-739.
325. **Schmidt H M A, ve ark.** Variation in human genetic polymorphisms, their association with

Helicobacter pylori acquisition and gastric cancer in a multi ethnic country. *Journal of gastroenterology and hepatology* **2011**; 26(12):1725-1732.

- 326. Ford A C and Axon A T.** Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. *Helicobacter* **2010**; 15(s1):1-6.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nilgün UYDURAN ÜNAL
Doğum Tarih ve Yeri : 07.08.1982/Aksaray
Medeni Durumu : Evli
Adres : Fakuşığı Mah. 45014 Sok. Dadaşkent Sitesi Kat:3 No:10
Merkez/OSMANİYE
Telefon : 0 (530) 441 43 11
E. posta : nuyduran@gmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev Yerleri : Van Özalp Sağlık Ocağı
Kahta Toplum Sağlığı Merkezi
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve
Hastalıkları Anabilim Dalı
Yabancı Dil(ler) : İngilizce

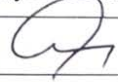
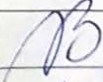
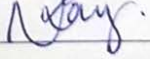
EKLER

EK 1. Etik Kurul Onay Formu

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Sayısı		Tarih
37		5 Aralık 2014

KARAR NO 4- Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın bilimsel işbirliğiyle, Prof. Dr. Gökhan Tümçör yönetiminde, Prof. Dr. Fatih Köksal'ın, Yrd. Doç. Dr. Toğrul Nağıyev'in katkılarıyla, Araş. Gör. Dr. Nilgün Uyduran Ünal tarafından yürütölmesi öngörölün, "Çocukluk Çağı Gastroduodenal Patolojilerinde Helicobacter pylori Enfeksiyonlarının Epidemiyolojik Özellikleri" başlıklı tıpta uzmanlık tez projesi araştırma etiğı yönünden değeriendirildi. Toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğına karar verildi.

BAŞKAN	Doç Dr Selim Kadioğlu Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	
ÜYELER	Prof Dr Mülkiye Kasap Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Dinçer Yıldızdaş Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Prof Dr Mehmet Kanadaşı Kardiyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gülşah Seydaoğlu Biyostatistik Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Prof Dr Gürhan Sakman Genel Cerrahi Anabilim Dalı	
	Doç Dr Suat Gezer Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Av. Zehra Bulut Hukukçu Üye	
	Dr Neşe Kayrın Kurum Dışı Üye	

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, Balcalı 01330 Adana
Telefon: 0322 338 60 60 dahili 3465, Faks: 0322 338 67 22